



ГЕНЕРАЛЬНЫЕ ПАРТНЕРЫ  
КОНФЕРЕНЦИИ



ПАРТНЕРЫ КОНФЕРЕНЦИИ



**ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

**«ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ  
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ:  
К СТОЛЕТИЮ КАФЕДРЫ  
ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА  
И ЖИВОТНЫХ МГУ»**

**29–30 ноября 2024 г.**

***Сборник материалов***

Москва 2024

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

**ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
«ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ  
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ:  
К СТОЛЕТИЮ КАФЕДРЫ  
ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ МГУ»**

**29–30 ноября 2024 г.**

*Сборник материалов*

Москва 2024

УДК [591.1+612](063)  
ББК 28.673я431+28.707.3я431  
В85

**Под редакцией:**

заведующего кафедрой физиологии человека и животных, д.б.н., проф. *Д.В. Абрамочкина*,  
с.н.с. кафедры физиологии человека и животных, к.б.н. *О.Б. Пустовит*

**Всероссийская конференция «Достижения и перспективы фундаментальной физиологии: к столетию кафедры физиологии человека и животных МГУ»:** сборник материалов / [Под редакцией Д.В. Абрамочкина, О.Б. Пустовит]. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2024. 228 с.

Сборник представляет собой материалы Всероссийской конференции «Достижения и перспективы фундаментальной физиологии: к столетию кафедры физиологии человека и животных МГУ», включая тезисы устных и стендовых докладов, представленных на конференции. Тезисы докладов позволяют составить представление о современном состоянии вопросов фундаментальной физиологии: молекулярных механизмах реализации функций в сердечно-сосудистой системе, электрофизиологии сердца, синаптической передаче, работе центральной нервной системы и т.п.

Издание может быть полезным ученым, специализирующимся в области физиологических исследований, а также преподавателям и студентам биологических и медицинских специальностей университетов, медицинских вузов, обучающимся по направлениям: физиология, фармакология, биофизика.

ISBN 978-5-907747-71-5

© Биологический факультет МГУ, 2024  
© Коллектив авторов, 2024



*Научное издание*

Подписано в печать 23.10.2024. Бумага офсетная. Печать офсетная.  
Формат 60×90/16. Тираж 260 экз.  
Отпечатано в ООО “Галлея-Принт”, Москва, 5-я Кабельная ул., 5б

Отпечатано с материалов, предоставленных авторами.

## ГИПЕРГЛИКЕМИЯ, ВЫЗВАННАЯ ДИАБЕТОМ, ПОВЫШАЕТ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВАЦИЮ И ПОРАЖЕНИЕ КЛЕТОК МОЗГА ПРИ ИШЕМИИ

Абдыева А.А.<sup>1</sup>, Куртова Е.Е.<sup>1</sup>, Емельянова Е.А.<sup>2</sup>, Горбачева Л.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова,  
Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Гипергликемия является одним из основных хронических факторов повреждения тканей при сахарном диабете (СД). При СД системное воспаление осложнено нефропатией, нейропатией и ретинопатией [4]. Более того, развивающееся системное воспаление при СД связано с развитием сосудистых патологий, что является основной причиной смертности у лиц с СД [2]. Так у 30-40% больных СД развивается ишемический инсульт, риск возникновения которого у таких пациентов проявляется на 15 лет раньше, чем у людей без диабета [3]. Ишемическое повреждение мозга сопряжено с развитием нейровоспаления, с вовлечением в процесс астроцитов, одна из функций которых – формирование нейроваскулярной единицы, определяющей свойства гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Системное воспаление, сопровождающее СД, в свою очередь снижает барьерную функцию ГЭБ, потенцируя вызванное ишемией нейровоспаление. Инсульт в 70–90% случаях приводит к нарушению двигательных функций, что повышает риск развития внутрибольничных инфекций [1]. Комбинация из гипергликемии, нейровоспаления и инфекции у таких пациентов осложняет подбор эффективной терапии, поэтому становится необходимым исследование влияния гипергликемии как изолированного фактора, так и в сочетании с ишемией на клетки мозга в условиях их провоспалительной активации.

**Целью** исследования было изучить особенности ишемического поражения мозга у мышей на фоне СД и оценить влияние гипергликемии на провоспалительную активацию первичной культуры астроцитов.

Эксперименты *in vivo* на мышах-самцах C57BL/6 моделировали стрептозотоцин-вызванный диабет, с последующей индукцией ишемии с помощью фототромбоза. Далее у животных оценивали размер ишемического очага путем окрашивания срезов мозга 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом и проницаемость ГЭБ с помощью красителя Эванса Синего. Эксперименты *in vitro* были выполнены на первичной культуре астроцитов мозга новорожденных крысят. Для моделирования гипергликемии использовали среды для культивирования с разным содержанием глюкозы (нормогликемия (НГ, 5,5 мМ) или гипергликемия (ВГ, 25 мМ)), нейровоспаление индуцировали добавлением липополисахарида (ЛПС, 100 нг/мл и 1 мкг/л). Провоспалительную активацию астроцитов оценивали по уровню высвобождения бета-гексозаминидазы (БГА) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) с помощью субстрат-ферментной реакции и методом иммуноферментного анализа, соответственно. Анализ проводили через 6 и 48 ч с момента добавления ЛПС.

В ходе исследования установлено, что диабет и сопутствующая стойкая гипергликемия потенцирует увеличение проницаемости ГЭБ, вызванное фотоиндуцированной ишемией у мышей, что также подтверждается и увеличением размера ишемического очага у группы животных с диабетом. На клеточном уровне *in vitro* нами продемонстрировано, что повышение уровня глюкозы в культуральной среде астроцитов приводит к изменению формы и числу межклеточных контактов. Интересно, что уровень глюкозы существенно влияет и на провоспалительную активацию астроцитов. ЛПС вызывает высвобождение ИЛ-6, как через 6, так и через 48 часов культивирования, при этом в условиях гипергликемии наблюдается более значительное увеличение секреции ИЛ-6 в ответ на добавление ЛПС. Кроме того, гипергликемия повышает спонтанный экзоцитоз в астроцитах по сравнению с НГ через 48 часов, на что указывает повышенное в более чем 2 раза высвобождение БГА астроцитами, культивируемыми в среде с ВГ.

Таким образом, результаты свидетельствуют о потенцирующем влиянии стрептозотоцин-вызванного диабета на проницаемость ГЭБ и ишемическое поражение мозга, и, вероятно, на все компоненты нейроваскулярной единицы при ишемии, что также подтверждает реорганизация актинового цитоскелета и изменение морфологии астроцитов. Более того, длительная гипергликемия увеличивает специфическую провоспалительную ЛПС-индуцированную активацию первичных астроцитов крыс, повышая секрецию ИЛ-6 в краткосрочный и отсроченный периоды после воздействия. Итак, длительная гипергликемия, вызванная диабетом в сочетании с бактериальной инфекции, может усугублять течение ишемии, что указывает на необходимость противовоспалительной терапии при коморбидной патологии.

1. Левин О.С., Боголепова А.Н. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. V.120(11). P.99–107.
2. Alexandraki K.I., Piperi C., Ziakas P.D. et al. // Journal of clinical immunology. 2008. V.28. P.314-21.
3. Luitse M.J., Biessels G.J., Rutten G.E. et al. // The Lancet Neurology. 2012. V.11(3). P.261–271.
4. Okdahl T., Wegeberg A.M., Pociot F. et al. // BMJ Open. 2022. V.12.

### **РОЛЬ МЕМБРАННОГО РЕЦЕПТОРА RAQR5 В НЕФРОПРОТЕКТОРНОМ ДЕЙСТВИИ ПРОГЕСТЕРОНА В МОДЕЛИ ОБСТРУКТИВНОЙ НЕФРОПАТИИ У КРЫС**

Абрамичева П.А.<sup>1</sup>, Семенович Д.С.<sup>1</sup>, Зорова Л.Д.<sup>1,2</sup>, Певзнер И.Б.<sup>1,2</sup>, Соколов И.А.<sup>1,3</sup>,  
Зоров Д.Б.<sup>1,2</sup>, Плотников Е.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

<sup>2</sup>*ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова, Москва*

<sup>3</sup>*Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

Фиброз – это патологическое состояние, связанное с нарушением баланса между синтезом и деградацией компонентов внеклеточного матрикса, которое является серьезным осложнением ряда хронических заболеваний почек. В результате прогрессирования фиброза почка может полностью потерять свою функциональную активность. Поиск потенциальных нефропротекторов и терапевтических подходов, направленных на подавление развития фиброза, представляется актуальной задачей фундаментальной и прикладной науки. Стероидные гормоны обладают нефропротекторным эффектом, однако роль прогестерона в физиологии почек и возможности его использования для лечения фиброза изучены слабо. Известно, что рецепторы прогестерона экспрессируются в разных отделах нефрона у человека и других млекопитающих: в проксимальных и дистальных канальцах, а также в клубочке [1,2]. В данной работе был исследован механизм влияния прогестерона на развитие фиброза почки в модели односторонней обструкции мочеточника (UUO) у крыс, которая имитирует хроническую обструктивную нефропатию человека [3]. Работа была выполнена на половозрелых самках крыс линии Вистар, разделенных на 5 групп: интактные крысы (N), с UUO (UUO), с овариэктомией (OVX), UUO с овариэктомией (OU) и OU с подкожным введением прогестерона (P). Экспрессию ключевых маркеров фиброза, провоспалительных цитокинов, мембранных (RAQR5) и ядерных (PGR) рецепторов прогестерона и активность матриксной металлопротеиназы 2 (MMP2) анализировали в поврежденных и контралатеральных почках крыс с помощью ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинга, зимографии и гистохимического окрашивания по Маллори. Во всех группах с UUO экспрессия RAQR5 снижалась в почке с обструкцией, в то время как в правой интактной почке количество мРНК рецепторов оставалось близким к уровню экспрессии у интактных крыс.

Гистохимический анализ выявил у животных, которые получали прогестерон (ОУР), небольшое снижение отложения коллагеновых волокон по сравнению с овариэктомизированными крысами с обструкцией мочеточника, которые не получали данный половой гормон. Было показано повышение экспрессии генов ключевых маркеров фиброза (*COL1A1*, *FNI*, *MMP2*, *TIMP1*, *TIMP2*), уровня белка  $\alpha$ -SMA, а также рост активности MMP2 в группах UUO и OU, но введение прогестерона не снижало данные показатели. Аналогичная картина показана для провоспалительных цитокинов IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL18: прогестерон не оказывал противовоспалительного действия в условиях обструктивной нефропатии. Вероятно, основной причиной отсутствия влияния прогестерона на экспрессию цитокинов и MMP2, а также на экспрессию маркеров фиброза является значительно сниженная экспрессия RAQR5. Таким образом, мы впервые продемонстрировали снижение чувствительности почки к прогестерону в условиях тубулоинтерстициального фиброза за счет резкого падения уровня экспрессии мембранного рецептора прогестерона RAQR5, что сопровождается отсутствием нефропротекторного действия прогестерона в модели UUO.

*Финансовая поддержка: грант РФФИ №21-75-30009.*

1. Lemale J. et al. Membrane progestin receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  in renal epithelium // *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* Elsevier B.V., 2008. Vol. 1783, № 12. P. 2234–2240.
2. Yanes L.L., Sartori-Valinotti J.C., Reckelhoff J.F. Sex steroids and renal disease: Lessons from animal studies // *Hypertension*. 2008. Vol. 51. P. 976–981.
3. Martínez-Klimova E. et al. Unilateral ureteral obstruction as a model to investigate fibrosis-attenuating treatments // *Biomolecules*. 2019. Vol. 9, № 4.

## **ПАРАДОКСАЛЬНАЯ РЕВЕРСИЯ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ВАЗОКОНСТРИКЦИИ В КРОВЕНОСНОМ РУСЛЕ ЛЁГКИХ У КРЫС С МОНОКРОТАЛТИНОВОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНГИОТЕНЗИНА-II**

*Абрамов А.А.<sup>1</sup>, Просвирнин А.В.<sup>1</sup>, Лакомкин В.Л.<sup>1</sup>, Кузьмин В.С.<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>ФГБУ НМИЦ Кардиологии им ак. Е. И. Чазова Минздрава РФ, Москва*

*<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва*

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) является заболеванием, которое сопровождается структурными и функциональными изменениями в сосудистом русле малого круга кровообращения, приводящими к росту правожелудочкового систолического давления и легочного сосудистого сопротивления. ЛАГ сопровождается паталогической активацией симпатического отдела вегетативной нервной системы, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [1], повышением активности ангиотензин-превращающего фермента и экспрессии основного рецептора к ангиотензину II (АТ-II) – АТ1R. ЛАГ приводит к гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) [2] поскольку одной из основных мишеней сигнального каскада АТ-II/АТ1R/src является НАДН-оксидаза (NOX).

Вазоконстрикция, развивающаяся в ответ на снижение  $pO_2$ , иначе гипоксическая вазоконстрикторная реакция (ГВР), является отличительной особенностью сосудов малого круга кровообращения [3]. Механизм ГВР связан с продукцией АФК: гипоксия приводит к снижению количества АФК, что в свою очередь увеличивает восстановительный потенциал в гладкомышечных клетках (ГМК), способствует восстановлению тиоловых групп и разрушению дисульфидных связей в цитоплазматических доменах молекул ряда  $K^+$ -каналов. Разрушение дисульфидных связей сопровождается закрытием калиевых каналов [4], деполаризацией мембраны, открытию потенциалчувствительных  $Ca^{2+}$ -каналов, поступлению  $Ca^{2+}$  в цитоплазму и сокращению клетки. Таким образом, АТ-II/АТ1R, активируя NOX, имеет возможность влиять на протекание ГВР за счёт увеличения цитоплазматического пула АФК.

В связи с вышесказанным в данной работе была поставлена **цель** – исследовать выраженность ГВР у крыс с ЛАГ, а также изучить способность АТ-II влиять на ГВР, индуцированную транзиторной гипоксией.

В экспериментах использовали самцов стока Wistar (250–300 г, 10 нед.). ЛАГ моделировали путём разовой инъекции монокроталина (60 мг/кг). ГВР оценивали у контрольных животных и животных с ЛАГ. Интенсивность ГВР определяли по моменту достижения и величине наибольшего снижения конечно-диастолического объёма (КДО) в левом желудочке (ЛЖ) методом внутрижелудочковой тетраполярной импедансографии (Transonic ADVantage 500) у наркотизированных животных (золетил – 0,1 мл/100г) при произвольном дыхании атмосферным воздухом, а также в условиях дыхания гипоксической смесью с 10% содержанием O<sub>2</sub> («гипоксическая проба», 2,5±0,5 мин), подаваемой через трахеостомическую трубку (350-400 мл/мин). Гипоксическую пробу осуществляли в контрольных условиях и, после 10 мин периода нормоксии, на фоне инфузии АТ-II. АТ-II инфузирвали в дозе (>1.2 нг/кг/мин), вызывающей значимое повышение систолического давления в ЛЖ.

Запись и обработку данных осуществляли с помощью программы LabChart 8.1.3 и АЦП ADInstruments PowerLab 16/35. Статистическая обработка и визуализация производилась в среде R 4.2.1. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ . Данные представлены, как ср.±ст.ош.ср.

В контрольной группе (n=7) гипоксия вызывает статистически значимое снижение КДО с 363±19,2 мкл до 231,2±21,1 мкл (-36% от исходного уровня). В контроле АТ-II не оказывал влияния на ГВР - на фоне инфузии АТ-II КДО снизилось 33% от исходного уровня (от 428,9±23,4 до 287,3±24,6 мкл). Группа крыс с ЛАГ разделилась на две подгруппы в соответствии с характером исходной реакции на гипоксическую пробу: «ответчики» и «неответчиков». В подгруппе ответчиков (n=8) ГВР сохранялась и даже усиливалась по сравнению с контролем – КДО снижался на 58,4% от исходного уровня (с 373,7±29,7 мкл до 154,9±20,8 мкл). Также, как и в контрольной группе у «ответчиков», АТ-II не оказывал влияния на ГВР: КДО на фоне инфузии АТ-II снижался на 59,7% (с 391,7±43,7 мкл до 157,8±18,3 мкл). В подгруппе неответчиков (n=6) преобладающей реакцией на ГВР был рост КДО на 23,6% от исходного уровня (от 415,5±32,6 мкл до 513,3±35,4 мкл). Однако, на фоне инфузии АТ-II в этой группе ГВР восстанавливалась ( $p < 0,05$ ) – при гипоксической пробе КДО снижался на 41,6% (с 478,5±30,2 мкл до 279,3±31,5 мкл).

Наименьшей длительность периода до достижения минимума КДО наблюдается в подгруппе «ответчиков» крыс с ЛАГ - 84,9±5,2 с ( $p < 0,05$  относительно длительности для контрольной группы). На фоне инфузии АТ-II это время увеличивается до 90,1±6,6с. В контроле время достижения максимального эффекта наибольшее и составляет 121,7±7,9с и 124,7±7,9с на фоне инфузии АТ-II, соответственно. Для подгруппы ЛАГ крыс «неответчиков» среднее время достижения максимума составляет 96±15,5с и 111,6±11с на фоне инфузии АТ-II, соответственно.

Таким образом, ГВР подавлена у части крыс с ЛАГ. АТ-II восстанавливает ГВР при легочной гипертензии. Этот эффект АТ-II может быть обусловлен активацией NOX и повышением продукции АФК в ГМК легочных сосудов.

1. Maron BA, Leopold JA, Hemnes AR (2020) // Br J Pharmacol 177: 1457–1471.
2. Maron BA, Leopold JA (2014) // Pulm Circ 4: 200–210.
3. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, et al. // Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction. Chest 151:181–192.
4. Dasgupta A, Wu D, Tian L, et al. // Compr Physiol 10: 713–765.

# ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС ПОСЛЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА

Абрамова О.В.<sup>1,2</sup>, Ушакова В.М.<sup>1,2</sup>, Зоркина Я.А.<sup>1,2</sup>, Морозова А.Ю.<sup>1,2</sup>, Зубков Е.А.<sup>1</sup>,  
Очнева А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

<sup>2</sup> ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

Одним из неблагоприятных факторов окружающей среды для развития нервной системы плода является пренатальный стресс (ПС), однако механизмы его влияния на нейроразвитие до конца не изучены. Поскольку исследования на животных призваны экстраполировать полученные результаты на человека, в экспериментах необходимо использовать стрессоры, которые в максимальной степени подобны информационному стрессовому воздействию на человека в современном обществе. Для индукции информационного стресса у лабораторных грызунов, перспективным оказывается применение ультразвука переменной частоты (УЗ), так как его воздействие несет негативную информационную нагрузку для грызунов [1], тем не менее, влияние УЗ на грызунов полностью не изучено. Потенциальным механизмом действия ПС на развитие и функции головного мозга является изменение функционирования нейромедиаторных систем, поэтому **целью** данного исследования стало изучить влияние ПС вызванного действием УЗ (УЗ ПС) на активность нейромедиаторных систем у новорожденных крыс.

Экспериментальная часть работы была выполнена на крысах линии Wistar. Самок крыс в возрасте 3 месяцев ссаживали с самцами и после оплодотворения их случайно распределяли на две группы и рассаживали в индивидуальные клетки. Самок, от которых получали потомство, подвергнутое ПС (ПС потомство), сразу после оплодотворения помещали под экспериментальное воздействие УЗ. Самок, от которых получали контрольное потомство, весь период беременности содержали в стандартных условиях вивария. ПС у беременных самок крыс индуцировали методом воздействия УЗ переменных частот без перерыва на протяжении всего периода беременности с помощью УЗ-генератора Weitech WK0300. Диапазон частоты УЗ чередовали каждые 10 минут между короткими частотами (20-25 кГц), средними частотами (25-40 кГц) и высокими частотами (40-45 кГц). После родов, детенышей отбирали случайным образом и умерщвляли через одни сутки после рождения для сбора образцов тканей головного мозга - фронтальную кору и гиппокамп из обоих полушарий. Образцы были получены от 10 контрольных самцов, 10 контрольных самок, 10 ПС самцов, 10 ПС самок. В образцах определяли концентрацию показателей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией: серотонин, 5- гидроксиндолуксусная кислота (НИАА), дофамин, 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота (DOPAC) и норадреналин. Нормальность распределения проверяли при помощи критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения значения  $p$  были рассчитаны с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Тьюки. В случае ненормального распределения данных использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса (К-У) с последующим применением критерия Dwass-Steel-Critchlow-Fligner для множественных сравнений. Статистически значимым считали значение  $p < 0.05$ .

В результате проведенного исследования было показано, что ПС не изменил концентрацию норадреналина во фронтальной коре ( $\chi^2=2.61$ ;  $p=0.46$ ) и в гиппокампе ( $\chi^2=3.57$ ;  $p=0.31$ ). Также ПС не изменил концентрацию серотонина ( $\chi^2=2.55$ ;  $p=0.47$ ), НИАА ( $F=1.53$ ;  $p=0.22$ ) и отношение НИАА/серотонин ( $\chi^2=2.78$ ;  $p=0.43$ ) во фронтальной коре. Однако, ANOVA выявил значительные различия по концентрации серотонина в гиппокампе ( $F=4.18$ ;  $p=0.01$ ) - в гиппокампе ПС потомства наблюдалось повышение концентрации серотонина по сравнению с контрольным потомством ( $F=9.45$ ;  $p=0.004$ ), при этом апостериорный анализ выявил

значительные различия только для самцов ( $p=0.009$ ). В то же время, ПС не изменил концентрацию Н1АА ( $F=1.50$ ;  $p=0.23$ ), а также отношение Н1АА/серотонин ( $F=0.77$ ;  $p=0.52$ ) в гиппокампе. ПС не изменил концентрацию дофамина ( $\chi^2=3.89$ ;  $p=0.27$ ), ДОРАС ( $\chi^2=3.07$ ;  $p=0.38$ ) и отношение ДОРАС/дофамин ( $\chi^2=1.98$ ;  $p=0.57$ ) во фронтальной коре, а также дофамина ( $\chi^2=2.77$ ;  $p=0.43$ ) и отношение ДОРАС/дофамин ( $\chi^2=0.25$ ;  $p=0.97$ ) в гиппокампе. Однако концентрация ДОРАС в гиппокампе в общем различалась между группами согласно критерию К-У ( $\chi^2=7.90$ ;  $p=0.048$ ), у ПС потомства концентрация была выше, чем у контрольного потомства ( $p=0.04$ ), но апостериорный анализ не показал различий между группами.

Таким образом, результаты эксперимента показали влияние УЗ ПС на активность серотонинергической и дофаминергической систем в гиппокампе новорожденных крыс.

1. Zorkina, Y.A. The Comparison of a New Ultrasound-Induced Depression Model to the Chronic Mild Stress Paradigm / Y.A. Zorkina, E.A. Zubkov, A.Y. Morozova et al. // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2019. – Vol. 13.

### **ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ СИНТЕЗА И ДЕГРАДАЦИИ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ НА СПОНТАННУЮ СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

Абрарова Г.Ф.<sup>1</sup>, Парщикова Ю.В.<sup>1</sup>, Тарасова Е.О.<sup>1</sup>

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

Одними из наиболее известных эндоканнабиноидов являются анандамид (АЭА) и 2-арахидоноил-глицерин (2-АГ) [1, 2]. Поддержание определенной концентрации данных веществ в тканях и органах осуществляется посредством ферментов их синтеза и деградации. Так, ферментом синтеза анандамида является НАРЕ-зависимая фосфолипаза D (НАРЕ-PLD), при этом 2-АГ образуется с помощью диацилглицеринлипазы (ДАГЛ). Распад АЭА происходит за счет гидролазы амидов жирных кислот (ФААН), а деградация 2-АГ осуществляется преимущественно моноацилглицеринлипазой (МАГЛ). Наличие различных систем метаболизма позволяет проследить влияние каждого отдельного эндоканнабиноида на синаптическую активность. Исследование эффектов 2-АГ и АЭА проводилось в большей степени на центральной нервной системе, при этом их влияние на нервно-мышечные синапсы по-прежнему мало изучено [3]. В связи с этим, целью данной работы было выяснить, как сказывается изменение активности ферментов метаболизма АЭА и 2-АГ на параметры спонтанной секреции ацетилхолина в моторных синапсах мышцы.

В данной работе использовалась стандартная микроэлектродная техника для регистрации спонтанной активности в виде миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) в нервно-мышечных препаратах диафрагмы (*n. phrenicus-m. diaphragma*) мышцы.

Ингибирование фермента синтеза АЭА (НАРЕ-PLD) при помощи ARN19874 (50 мкм) не повлияло на параметры спонтанной секреции ацетилхолина: ни частота, ни амплитуда МПКП не претерпевали изменений. Однако добавление селективного ингибитора ФААН URB597 (1 мкм) привело к увеличению частоты МПКП на 56% и амплитуды МПКП на 10%. Исходя из полученных данных, можно предположить, что, либо концентрации ингибитора НАРЕ-PLD оказалось недостаточно для подавления синтеза анандамида, либо эффектов ингибитора синтеза АЭА не удается наблюдать, поскольку данный эндоканнабиноид в норме быстро распадается за счет активности ФААН. Действительно, накопление АЭА на фоне действия URB597 приводило к потенциации спонтанной секреции медиатора в моторных синапсах.

Использование DO34 (1 мкм), селективного ингибитора фермента синтеза 2-АГ (ДАГЛ), и JZL184 (1 мкм), селективного ингибитора фермента деградации данного эндоканнабиноида (МАГЛ), не привело к изменению параметров МПКП в сравнении с контролем, то есть при

спонтанной активности моторных синапсов выработки 2-АГ, видимо, недостаточно для оказания влияния на секрецию медиатора.

Таким образом, на основе полученных результатов можно предположить, что эндогенная выработка 2-АГ не способна значимо повлиять на секрецию медиатора при спонтанной активности моторных синапсов и, соответственно, данный эндоканнабиноид вносит меньший вклад в параметры синаптической передачи в отличие от эндогенного анандамида, чье действие проявляется при ингибировании FAAH при помощи URB597.

*Работа поддержана грантом РФФ 23-25-00065.*

1. Balezina O. P., Tarasova E. O. and Gaydukov A. E. // Biochem. Mosc. 2021. V.86. P.818-832.
2. Cristino L., Bisogno T. and Di Marzo, V. // Nat. Rev. Neurol. 2020. V.16. P. 9-29.
3. Tarasova E. O., Khotkina, N. A., Gaydukov, A. E. et al. // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. V. 76, P. 1-6.

### **PARAMECIUM CAUDATUM КАК КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ ГЕЛИЯ**

**Абрашитов Г.Н.<sup>1</sup>, Манченко Д.М.<sup>1</sup>, Груздев Г.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Москва, Россия

Холодная атмосферная плазма – это нетепловая технология моделирования стрессового воздействия (в первую очередь «окислительного стресса»). Она представляет собой ионизированный газ, имеющий температуру, близкую к комнатной, который состоит из нейтральных и заряженных частиц (ионов, электронов и разнообразных активных форм кислорода (АФК) и азота) [4]. При попадании во внутриклеточное пространство, они могут приводить к повреждению ДНК, перекисному окислению липидов, повреждению митохондрий, что индуцирует «окислительный стресс» у клеток [1]. Таким образом, низкотемпературную плазму можно использовать для моделирования и проведения экспериментов по изучению воздействия АФК на метаболические процессы в клетках.

Растущее количество биомедицинских исследований требует поиска новых тестовых объектов для первичного скрининга фармакологических субстанций при разработке лекарственных препаратов в соответствии с современными биоэтическими и экономическими требованиями [2]. Таким объектом могут служить одноклеточные простейшие, например, культура клеток *Paramecium caudatum*. К преимуществам работы с инфузориями можно отнести короткий цикл размножения и воспроизводства, возможность отслеживания эффекта воздействия веществ в нескольких поколениях, неприхотливость в содержании, простота культивирования, а также схожесть протекания биохимических реакций в ответ на действие идентичных биологически активных молекул в клетках позвоночных. Все это позволяет использовать инфузорий в качестве модельного объекта при проведении начальных этапов физиологических исследований.

**Целью** данного исследования является оценка возможности применения культуры клеток *Paramecium caudatum* для изучения протекторных свойств антиоксидантных веществ на физиологическое состояние клеток после обработки холодной плазмой атмосферного давления.

В работе использовалась чистая культура *Paramecium caudatum*. Регистрацию численности и средней скорости движения клеток проводили через 1,3,6,24,48 и 72 ч после воздействия в программе ImageJ (Фиджи) с plugin “counting cell”. Цитопротекторный эффект изучался на примере известных препаратов с антиоксидантной активностью – омега-3 и

венлафаксина, взятых в концентрациях  $2 \cdot 10^{-6}$ ,  $2 \cdot 10^{-5}$  и  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л [3]. Перед воздействием проводилась инкубация клеток в растворе антиоксиданта в течение 24 часов. Плазменная дуга формировалась в потоке гелия с расходом 3 л/мин (**He**-плазма). Обработка плазмой проводилась в течение 5 минут. Статистический анализ проводили в программе “Statistica 10” с two-way ANOVA. Достоверными считали отличия при  $p < 0,05$ .

В результате, установлено, что при воздействии **He**-плазмы рН среды изменяется в интервале от 5,6 до 4 во всех пробах. Гибель клеток была максимальной через 3 часа и в контрольной группе составила 78 %. При инкубации клеток с омепразолом или венлафаксином в концентрациях  $2 \cdot 10^{-5}$  и  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л через 3 часа после воздействия плазмы численность падает на 13 и 14 % или 2 и 13 % соответственно для каждого препарата. В пробах с омепразолом и венлафаксином в концентрации  $2 \cdot 10^{-6}$  моль/л гибель клеток отсутствовала.

Показатели средней скорости передвижения клеток в растворе через 3 часа после воздействия **He**-плазмы падают в 2-2,5 раза по сравнению с контролем, а в группах с добавлением омепразола и венлафаксина в концентрациях  $2 \cdot 10^{-6}$ ,  $2 \cdot 10^{-5}$  и  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л значимо не изменяются. В пробах с более низкой концентрацией препаратов наблюдалось значимое увеличение средней скорости движения.

Можно заключить, что присутствие в среде омепразола и венлафаксина практически полностью нейтрализовало окислительный эффект плазмы. Оба исследуемых вещества показали приблизительно одинаковую степень протекции. Использование клеток *Paramecium caudatum* в качестве модельного объекта показало свою эффективность для первичного скрининга новых лекарственных препаратов с антиоксидантной активностью в условиях «окислительного стресса».

1. Halliwell B., Gutteridge JMC. 1989 // Clarendon Press, Oxford.
2. Hobson-West P., Davies A. // Science, technology & human values. 2018. Т. 43. № 4. С. 671-693.
3. Menshchikova E B., Lankin V Z., Zenkov N K., et al // Pro-oxidants and antioxidants 2006. Moscow.
4. Von Woedtke T., Schmidt A., Bekeschus S., et al. // In Vivo 2019, 33, 1011–1026.

## О ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ДВУПОРОВЫХ КАНАЛОВ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ

Федорова Е.С., Труфанов С.К., Авдониин П.П., Нечаева М.В., Рыбакова Е.Ю.,  
Авдониин П.В.

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*

Двупоровые каналы (two-pore channels, TPC) – это особый тип  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих каналов, локализованных в эндосомах и лизосомах. Они обнаружены у первично- и вторичноротых у животных, у растений, грибов и одноклеточных эукариот. У животных каналы TPC активирует вторичный мессенджер NAADP (nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate), действующий, начиная с субнанолярных концентраций [1]. Целью наших исследований последних лет было изучение участия данных каналов в обмене ионов кальция в гладкомышечных (ГМК) и эндотелиальных (ЭК) клетках кровеносных сосудов, в регуляции нейроэндокринными факторами сосудистого тонуса и в поддержании спонтанных сердечных сокращений. Чтобы оценить роль NAADP в вызываемом нейротрансммиттерами подъеме концентрации ионов кальция в цитоплазме ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) был использован его конкурентный блокатор NED19. Мы продемонстрировали, что цис- и транс-изомеры NED19 на 60% снижают подъем  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в ГМК из аорты крысы, вызванный норадреналином (НА) с IC50 для цис- и транс-NED19 соответственно 2,7 и 8,9 мкМ. Стереизомеры NED19 не влияли на подъем  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в ГМК в ответ на ангиотензин II (АТ II) и вазопрессин (ВП) и лишь в

небольшой степени подавляли реакцию на серотонин (5-НТ). В ГМК крысы экспрессируются два вида двупоровых каналов – TPC1 и TPC2. Подавление TPC1 в ГМК с помощью siRNA вызвало 40% снижение  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в ответ на НА, тогда как siRNA против TPC2 не изменила кальциевый сигнал от НА. В ЭК NED19 избирательно снижает подъём  $[Ca^{2+}]_{цит}$ , вызываемый гистамином. В опытах на изолированных колечках аорты крысы мы показали, что цис- и транс-NED19 снимают сокращение в ответ на НА, не влияют на сокращение колец аорты в ответ на АТФ и ВП и слегка расслабляют кольца аорты, предварительно сокращенные 5-НТ и КС1. Двупоровые каналы представляют один из наиболее древних типов катионных каналов и их роль не ограничивается только участием в рецепторзависимой регуляции клеточных функций. В экспериментах с изолированным сердцем виноградной улитки *H. pomatia* и сердцем куриного зародыша на донервной стадии развития мы показали, что каналы TPC участвуют в поддержании ритма спонтанных сердечных сокращений. Проникающий через клеточные мембраны ацетооксиметильный эфир NAADP-AM в наномолярных концентрациях увеличивал частоту и амплитуду спонтанных сокращений сердца *H. pomatia*. Его антагонист NED19, не влияя на амплитуду спонтанных сокращений, дозозависимо снижал их частоту, полностью останавливая сердце улитки при концентрации 5 мкМ. Ингибитор  $H^+$ -АТФазы V-типа бафиломицин А1 подавляет накопление ионов кальция в лизосомах и кислых эндосомах. Бафиломицин А1 вызывает затухание спонтанных сокращений и остановку сердца *H. pomatia*. Чтобы оценить участие каналов TPC в поддержании ритма сокращений сердца позвоночных животных было взято сердце куриного эмбриона на четвертые сутки инкубации. На этой стадии развития сердце еще не имеет иннервации и сокращается спонтанно. На препарате изолированного сердца куриного зародыша нами показано, что NED19 снижает частоту спонтанных сокращений, не влияя на амплитуду сокращений. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной функциональной роли каналов TPC в сердечно-сосудистой системе.

1. Morgan, A.J., Martucci L.L., Davis L.C., Galione A. // *Biochem. Soc. Trans.* 2022. V.50. P.1143-1155.

### **СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ, НЕСУЩИХ МУТАЦИИ В ГЕНЕ, КОДИРУЮЩЕМ $Na^+$ -ЗАВИСИМЫЙ ПОЛИВИТАМИННЫЙ БЕЛОК-ТРАНСПОРТЕР SMVT**

Аверина О.А.<sup>1,2</sup>, Приймак А.В.<sup>1,3</sup>, Руденко А.Ю.<sup>1</sup>, Пермяков О.А.<sup>1,2</sup>, Григорьева О.О.<sup>1</sup>, Зотова П.А.<sup>2</sup>, Бажанова О.А.<sup>4</sup>, Карагяур М.Н.<sup>3</sup>, Байдакова Г.В.<sup>4</sup>, Сергиев П.В.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>*НИИ Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

<sup>2</sup>*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

<sup>3</sup>*Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

<sup>4</sup>*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Центр коллективного пользования "Метаболом", Москва*

Наследственные заболевания с каждым годом занимают все более высокие строки в списке причин пороков развития и детской смертности [2]. В 2022 году в России была запущена программа расширенного неонатального скрининга (постановление от 29.11.22 №2161) и полногеномного секвенирования больных детей, которая уже сегодня позволила выявить новые мутации, предположительно имеющие неблагоприятные последствия для здоровья.

Медицинская генетика, оперирующая с корреляциями, по природе своей может давать только лишь предположения о причинно-следственных связях между теми или иными генетическими вариациями и патогенезом заболеваний. Создание и изучение моделей

генетически обусловленных заболеваний с помощью редактирования генома мышей позволяет не только доказать причинно-следственные связи и выявить молекулярные механизмы патологий, но и начать разработку возможных подходов к лечению генетически обусловленных заболеваний.

Предпосылкой данной исследовательской работы стал клинический случай компаунд гетерозиготных миссенс мутаций в локусах R280W и P437Q гена SLC5A6. Этот ген играет важную роль в экспрессии трансмембранного белка – натрий-зависимого мультивитаминного транспортёра (SMVT), относящегося к семейству котранспортёров растворённого Na<sup>+</sup> (SSS) – из-за чего мутации в гене SLC5A6 приводят к врождённому нарушению метаболизма и пассивному дефициту биотина и биотинидазы [1]. Пациентка возрастом 9 месяцев с данными генетическими изменениями, была выявлена нашими коллегами из ЗАО Геноаналитика и ФИЦ Биотехнологии РАН, и страдала серьёзными дефектами обмена веществ. У больного ребенка наблюдалась повышенная концентрация 3-гидроксиизовалерилкарнитина (AC C5OH) и выраженная задержка психомоторного развития. Молекулярные основы патогенеза и пути терапии этого генетического заболевания не были выявлены. К сожалению, пациентка конкретного клинического случая умерла в раннем возрасте, но данная генетическая аномалия встречается в российской популяции, что делает весьма целесообразным исследование патологических последствий миссенс мутаций в гене SLC5A6 на модели мышей с отредактированным геномом.

С помощью технологии CRISPR/Cas, сначала нами были созданы мыши, нокаутные по гену SLC5A6. Однако после скрещивания гетерозиготных мутантов было показано, что гомозиготные особи являются эмбриолетальными. В связи с чем, был осуществлен эксперимент, в котором гетерозиготные самки за неделю до скрещивания с гетерозиготными самцами, весь период беременности и лактации пили водный раствор биотина (10 мг/кг) или витаминного комплекса (биотин 10 мг/кг, пантотенат кальция 250 мг/кг, липоевая кислота 300 мг/кг), а также синтезированное в нашей лаборатории гибридное соединение-производное биотина, потенциально проникающее в клетки в обход транспортёра hSMVT. Предполагалось, что в одной из гетерозиготных семей родятся гомозиготные особи, но, к сожалению, после получения двух помётов в каждой из экспериментальных групп, ни одной гомозиготной мыши идентифицировано не было.

На следующем этапе исследования нами были созданы мыши с миссенс-мутацией в локусе P437Q гена SLC5A6. Данные мыши уже доживали до половозрелого возраста, однако продолжительность жизни была значительно сокращена по сравнению с мышами дикого типа. При этом нами был описан их фенотип, который по большей степени совпал с клинической картиной пациентки, несмотря на то, что исследуемые мыши несли только часть мутаций, описанных у больного ребенка. В итоге у мутантных мышей была снижена двигательная активность в тесте Открытое поле, мышечная сила в тестах Силомер и Удержание на скользком стержне, а анализ уровня ацилкарнитинов показал увеличение уровня 3-гидроксиизовалерилкарнитин (AC C5OH).

На сегодняшний день нами создана полноценная персонализированная мышинная модель компаунд гетерозиготных миссенс мутаций в локусах R280W и P437Q в гене SLC5A6 и запущен полномасштабный проект по исследованию физиологических и молекулярных механизмов развития патологии данного генетического заболевания.

*Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, в рамках Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ, проект № 24-Ш04-13.*

1. Subramanian VS, et al. // Hum Genet. 2017 Feb; 136(2): 253-261.
2. Owen MJ, et al. // JAMA Netw Open. 2023 Feb 1; 6(2): e2254069.

## ПРИЕМ МЕЛАТОНИНА КОМПЕНСИРУЕТ НАРУШЕНИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИМПУЛЬСА В МИОКАРДЕ, ВЫЗВАННОЕ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Азаров Я.Э.<sup>1,2</sup>, Седякина Е.Н.<sup>1,2</sup>, Овечкин А.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория физиологии сердца, Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Республика Коми

<sup>2</sup>Медицинский институт Сыктывкарского государственного университета им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Республика Коми

Сахарным диабетом (СД) в настоящее время страдает почти каждый десятый житель планеты, и прогнозируется дальнейшее увеличение его распространенности. Сердечно-сосудистые заболевания представляют собой наиболее частое осложнение СД, и среди них особое значение имеет внезапная сердечная смерть, обусловленная жизнеугрожающими аритмиями. По крайней мере, одним из механизмов проаритмических изменений в миокарде при СД является системное воспаление, сопровождающееся миокардиальным фиброзом, который препятствует нормальному распространению возбуждения в сердце. Необходима разработка эффективных и безопасных антиаритмических средств для профилактики аритмических осложнений СД. Новым перспективным агентом является мелатонин – продукт секреции эпифиза, известный прежде всего своим влиянием на формирование циркадных и сезонных ритмов в организме человека и животных. Недавние исследования показали, что мелатонин обладает также антиаритмическими эффектами, связанными с улучшением проведения импульса в миокарде, однако значение фиброза и его изменений под влиянием СД и мелатонина ранее не оценивалось. **Цель** настоящей работы заключалась в исследовании влияния мелатонина на степень миокардиального фиброза и параметры возбуждения желудочков сердца крыс при СД.

**Методы.** СД был индуцирован внутривенной инъекцией стрептозотоцина (50 мг/кг) у 30 крыс-самцов породы Вистар. Длительность СД составляла 1 месяц. 15 животных с индуцированным СД ежедневно в течение 1 месяца перорально получали мелатонин в дозе 10 мг/кг. Контролем служили 20 животных. По истечении 1 месяца проводили электрофизиологическое исследование методом эпикардиального картирования потенциала и регистрации ЭКГ. Для тестирования уязвимости сердца к аритмиям вызывали ишемию с последующей реперфузией путем перевязки левой передней нисходящей коронарной артерии на 5 минут. Регистрацию потенциалов проводили в 64 эпикардиальных отведениях. В каждом отведении определяли время активации (activation time, АТ) как минимум производной потенциала по времени (dV/dt) в период QRS комплекса. Скорость проведения импульса определяли с помощью эпикардиальной стимуляции при плотном картировании потенциала. По окончании эксперимента сердца извлекали и окрашивали по Ван Гизону. В гистологических срезах определяли отношение площади соединительной ткани к общей площади среза.

**Результаты.** Мелатонин не влиял на выраженность гипергликемии при СД и степень снижения массы тела животных, но гистологический анализ показал, что мелатонин препятствует развитию фиброза в миокарде больных СД крыс. Медианный объем коллагена (%) в миокарде крыс с СД, получавших мелатонин был значимо ниже ( $p < 0.05$ ), чем у животных с СД без приема мелатонина и составил 3.03 (IQR 2.29-4.18) % против 5.83 (IQR 4.96-7.17) %, соответственно. Животные контрольной группы имели медианный объем коллагена 2.76 (IQR 1.93-4.33) %. При приеме мелатонина у крыс с СД увеличивалась ( $p < 0.05$ ) медианная продольная скорость проведения импульса в левом желудочке и составила 0.60 (IQR 0.57-0.69) м/с, что превышало показатели при СД без приема мелатонина 0.35 (IQR 0.28-0.40) м/с и соответствовало показателям скорости проведения в контрольной группе 0.59 (IQR 0.52-0.70) м/с. Время активации в левом желудочке, удлинненное на фоне СД (13.7 (IQR 11.5-14.4) мс), сокращается при приеме мелатонина (11.8 (IQR 10.5-12.1) мс,  $p < 0.05$ ). В контроле среднее время активации левого желудочка составляло 10.4 (IQR 9.0-12.1) мс. В отличие от

контрольных и диабетических животных, крысы, получавшие мелатонин, реперфузионных аритмий не имели.

Таким образом, мелатонин ограничивает миокардиальный фиброз при СД. Этот эффект ассоциирован с улучшением проведения возбуждения в миокарде и антиаритмическим эффектом.

*Работа поддержана грантом РФФ 23-24-00455.*

## **ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ ВВЕДЕНИЯ ТИАМИНА НА СОДЕРЖАНИЕ В КОРЕ МОЗГА ЕГО ФОСФОПРОИЗВОДНЫХ, ЗАВИСИМЫЕ ОТ ТИАМИНА ФЕРМЕНТЫ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС**

Алешин В.А.<sup>1,2</sup>, Борисова Н.Р.<sup>2</sup>, Тагиров К.М.<sup>1</sup>, Артюхов А.В.<sup>1,2</sup>, Маслова М.В.<sup>1</sup>,  
Граф А.В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва*

Тиамин – предшественник кофермента тиаминдифосфата (ТДФ), обеспечивающего работу ключевых ферментов энергетического метаболизма мозга. Дефицит тиамина приводит к нейродегенеративным заболеваниям, а прием высоких доз – облегчает симптомы [1], поэтому регуляция содержания и анализ механизма действия тиамина в мозге имеет медицинское значение. Для пируватдегидрогеназного комплекса (ПДГК) мозга, одного из ключевых ТДФ-зависимых ферментов, регулирующего поток глюкозы в цикл Кребса, показана зависимость активности от времени суток [2]. Также в мозге от времени суток зависит ацетилирование глутаматдегидрогеназы (ГДГ), регулируемой тиамином [3]. Суточная регуляция мишеней тиамина может определять предпочтительное время его приема, поэтому **целью** данной работы является исследование поступления тиамина и регуляции тиамин-зависимого метаболизма в мозге в зависимости от времени введения тиамина.

Самцы крыс Wistar (n=38) получали тиамин или физраствор утром или вечером [3]. Через сутки параметры поведения оценивали в тесте «Открытое поле», мерили ЭКГ. В гомогенатах коры определяли активности регулируемых ТДФ/тиамином ферментов: ПДГК, оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДК), транскетолазы (ТК), ГДГ и малатдегидрогеназы (МДГ). Количество субъединицы ПДГА ПДГК, уровень ингибирующей модификации фосфо-S293 ПДГА, уровень ее киназ (ПДК) ПДК1 и ПДК3 определяли методом вестерн-блоттинга. В экстрактах коры методом ВЭЖХ определяли уровни тиамина, тиаминмонофосфата (ТМФ) и ТДФ. Применяли ANOVA с тестом Тьюки.

Обнаружили снижение активности ПДГК вечером ( $p < 0,01$ ) и снижение активности ПДГК от приема тиамина ( $p < 0,01$ ). Одновременно наблюдали снижение ПДГА и фосфо-ПДГА вечером, а также фосфо-ПДГА от тиамина, особенно вечером ( $p = 0,01$ ). Отношение фосфо-ПДГА/ПДГА снижалось от тиамина ( $p = 0,05$ ). Показали взаимодополняющие изменения ПДК1 и ПДК3: рост ПДК1 ( $p = 0,02$ ) от тиамина утром и ПДК3 ( $p = 0,03$ ) от тиамина вечером. Введение тиамина увеличивало активность ГДГ ( $p = 0,01$ ), особенно вечером ( $p = 0,04$ ). Активности ОГДК, ТК и МДГ не менялись. Анализ содержания тиамина, ТМФ и ТДФ в коре выявил рост ТДФ от тиамина вечером ( $p = 0,05$ ). Также наблюдали вечернее снижение ТДФ и ТМФ в контроле. По обоим параметрам взаимодействие факторов времени суток и введения тиамина было достоверным ( $p < 0,01$ ), подтверждая высокое значение времени введения тиамина. Уровень самого тиамина не менялся. ТДФ в коре может регулировать фосфорилирование ПДГК через киназы ПДК [4]. Рост ТДФ от введения тиамина вечером согласуется с наиболее заметным ( $p = 0,01$ ) снижением фосфо-ПДГА вечером. Также вечером сильнее выражено действие тиамина на ГДГ, активность которой коррелирует с уровнем ТДФ ( $r = 0,33$ ;  $p = 0,04$ ). Отсутствие корреляции уровня ТДФ и фосфорилирования ПДГК указывает на роль и других механизмов, таких как изменение экспрессии ПДК под действием тиамина. Так, уровень ТДФ

в коре коррелирует с ПДК1 отрицательно ( $r=-0,37$ ;  $p=0,03$ ) и с ПДК3 – положительно ( $r=0,52$ ;  $p=0,01$ ). Взаимодополняющий контроль со стороны ПДК и их регуляция ТДФ могут обеспечивать тонкую настройку фосфорилирования ПДГК, поддерживая гомеостаз метаболизма пирувата в мозге. Последствия введения тиамин проявлялись и на физиологическом уровне. Так, введение тиамин понижало ЧСС ( $p=0,01$ ) и повышало латентный период выхода из центра в тесте «Открытое поле» ( $p=0,05$ ). Введение тиамин влияло на число актов груминга, устраняя суточное различие ( $p=0,02$ ) в контрольных группах. Анализ физиологических параметров, зависевших от тиамин, выявил отрицательную корреляцию латентного периода не столько с ТДФ ( $r=-0,28$ ;  $p=0,09$ ), сколько с ТМФ ( $r=-0,34$ ;  $p=0,04$ ), а также положительную корреляцию с ПДК1 ( $r=0,34$ ;  $p=0,04$ ). Число актов груминга коррелировало с содержанием тиамин в мозге ( $r=0,41$ ;  $p=0,01$ ).

В зависимости от времени введения тиамин, содержание ТДФ в мозге через 24 часа отличается – ТДФ растет лишь при вечернем введении тиамин. Параметры поведения, на которые повлиял тиамин, коррелировали не с уровнем ТДФ и параметрами энергетического метаболизма, а с уровнями ТМФ или тиамин – метаболитов, ассоциированных с пуринергической сигнальной системой и обезболиванием [1].

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №23-74-10036.*

1. Aleshin V.A. et al. // Biochemistry (Mosc). 2019. V.84. P.829–850
2. Aleshin V.A. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V.22. P.8006
3. Aleshin V.A. et al. // J. Neurochem. 2020. V.153. P.80–102
4. Jonus H.C. et al. // Biomed. Pharmacother. 2020. V.121. P.109648

## **ЦВЕТОКОДИРУЮЩИЕ ГАНГЛИОЗНЫЕ КЛЕТКИ В РЕТИНОТЕКТАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ РЫБ**

Алипер А.Т.<sup>1</sup>, Дамянович И.<sup>1</sup>, Максимов П.В.<sup>1</sup>, Максимова Е.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, Москва*

Каждый тип ганглиозных клеток (ГК), проецирующих свои аксоны в tectum opticum (ТО) серебряного карася, обладает своим собственным профилем цветокодирования. И каждый тип ГК получает входы от контуров, связанных с тремя типами колбочек – длинноволновыми (L), средневолновыми (M) и коротковолновыми (S). Однако, наиболее изученные типы ГК, такие как дирекционально-избирательные или ориентационно-избирательные, неспособны к цветоразличению [3]. В то же время хорошо известно, что рыбы и, в частности, караси, обладают прекрасным цветным зрением и способны различать цвета в поведенческих экспериментах [1]. То есть, на определенном уровне зрительных структур должны присутствовать элементы, обладающие цветооппонентными свойствами.

Мы проводили экстраклеточную регистрацию активности одиночных окончаний аксонов ГК [2], проецирующихся в ТО серебряного карася. Стимуляция производилась с CRT монитора. Параметры стимулов задавались программно при помощи ПО, разработанного специально для наших исследований. Для исследования цветовых свойств ГК мы использовали специально рассчитанные цвета, стимулирующие колбочки селективно.

В ходе исследования мы установили, что элементы с фоновой активностью (ЭФА), формирующие самый глубинный горизонт ретинореципиентного слоя, обладают цветооппонентными свойствами. ЭФА подразделяются на ON и OFF типы. Они дают длящийся импульсный ответ на ахроматические стимулы предпочитаемого знака контраста (ON-клетки отвечают на светлый стимул на темном фоне, а OFF-клетки – на темный стимул на светлом фоне). Импульсный разряд может длиться сколь угодно долго, пока стимул находится в рецептивном поле (РП) клетки. Уникальное свойство ЭФА состоит в том, что они также дают ответ на стимуляцию периферии РП, при этом периферия оппонента центру. Мы

провели серию экспериментов с селективной цветной стимуляцией ЭФА на 98 элементах OFF-типа и 41 элементе ON-типа. Оказалось, что OFF-тип представлен тремя группами клеток с разными профилями цветокодирования. Группы 1 и 2 цветоопponentные – R/G («красный» L-приемник опponentен «зеленому», M-приемнику) и R/B («красный» L-приемник опponentен «синему», S-приемнику) соответственно. ЭФА ON-типа представляются однородной группой цветоопponentных R/G клеток. У трех типов цветоопponentных ЭФА наблюдаются различные взаимодействия цветовых каналов в центре РП, а также все демонстрируют полную опponentность между центром и периферией РП. Третья группа OFF-элементов по всей видимости не обладает способностью к цветоразличению и практически одинаково отвечает на любую цветную стимуляцию.

Сочетание цветоопponentности в центре РП и опponentности центра и периферии называется двойной опponentностью [4]. Это свойство считается ключевым для обеспечения цветоразличения в зрительной системе. Наличие нескольких типов дважды цветоопponentных клеток свидетельствует о том, что ТО участвует в формировании функции цветоразличения у рыб.

1. Escobar-Camacho D, Marshall J, Carleton KL. // J Exp Biol. 2017 Aug 15; 220 (Pt 16): 2887-2899.
2. Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS and Pitts WH. // Proceedings of the IRE, vol. 47, no. 11, pp. 1940-1951.
3. Maximov V, Maximova E, Damjanović I. et al. // J Integr Neurosci. 2014 Sep; 13(3): 465-484.
4. Pearlman AL, Daw NW. // Science. 1970 Jan 2; 167 (3914): 84-86.

## **ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ БАЗА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СПОНТАННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У ГРЫЗУНОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ СОЕДИНЕНИЙ**

Андреев А.И.

*ФГАОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет,  
Пермь*

Необходимость выяснить, как долго действует психоактивное вещество, когда именно наступает максимум амплитуды эффекта и каковы будут отложенные или побочные эффекты вещества на поведенческом уровне, обуславливает заинтересованность многих лабораторий в использовании многоканальных актографических комплексов - систем мониторинга спонтанной двигательной активности у грызунов (СМСДА) [1,2].

Использование таких систем имеет целый ряд особенностей, принципиально отличающих экспериментальные программы, реализуемые в СМСДА, от аналогичных, выполняемых в рамках классической «лабиринтной парадигмы». Не пытаясь рассмотреть все, обозначим ключевые отличия.

1. Вместо временной рандомизации введения животных в эксперимент используется пространственная рандомизация раскладки в экспериментальные камеры СМСДА (аналогичные клеткам содержания).

2. Сразу после экспозиции исследуемым веществом животные размещаются в экспериментальных камерах по одному (иногда в группах заданной численности) не проходя часто встречающегося в «лабиринтной парадигме» возвращения в домашнюю клетку после экспозиции, но до тестирования в лабиринте.

3. Стандартная длительность эксперимента в актографическом комплексе - не минуты, а часы, вплоть до циркадного или субциркадного периода, позволяющего увидеть отложенные эффекты, например, вспышки активности после «окончания» воздействия седативного вещества.

4. Эксперимент в СМСДА позволяет вводить исследуемые вещества грызунам на разных фазах их циркадного ритма, а не только во время бодрствования исследователя.

Для внедрения инструментально-методологической платформы на основе СМСДА в доклинические исследования был проведен комплекс базовых валидационных процедур, доказавших: а) средовую валидность экспериментальных условий (т.е. подтверждение того, что в экспериментальных камерах животные могут воспроизводимо проявлять исследуемые состояния и типы поведения); б) фармакологическую валидность поведенческих откликов (т.е. подтверждение того, что вещества с известным фармакологическим действием вызывают воспроизводимый и статистически значимый эффект).

Более глубокие валидационные исследования доказали возможность выявления и количественного описания принципиально важных биологических феноменов - циркадной ритмики, зависимостей «доза-эффект» [3], и даже специфических двигательных событий, таких как судороги, стереотипия или «поп-корн» эффект.

За время разработки актографических комплексов были выполнены валидационные эксперименты с применением веществ различных фармакологических групп, включая опиаты, синтетические каннабиноиды - в рамках химико-фармакологических экспертных исследований [4], пептидные агонисты NMDA- и  $\mu$ -опиоидных рецепторов, растительные седативные факторы и др. Выполнялись также нефармакологические исследования, связанные как с анализом циркадной ритмики [5], так и с изучением поведения модельных генетически модифицированных животных [1].

Сфера применения СМСДА продолжает расширяться - как в смысле списка исследуемых типов фармакологической активности, так и в методологическом смысле. Другим аспектом расширения области применения СМСДА является разработка подходов к стандартизации вычислительных процедур обработки получаемых массивов данных и способов их интерпретации, постепенно формируя новую «омиксную» дисциплину – актиомику.

1. Shirobokova S. et al. // Science and Global Challenges of the 21st Century – Innovations and Technologies in Interdisciplinary Applications / ed. Isaeva E., Rocha Á. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. Vol. 622. P. 499–506.
2. Del Rosario Hernández T. et al. // Sci Rep. 2023. Vol. 13, № 1. P. 8113.
3. Andreev A. et al. // World Applied Sciences Journal. 2013. Vol. 27. P. 1091–1097.
4. Andreev A.I. et al. // Sud.-med. ekspert. 2016. Vol. 59, № 2. P. 55.
5. Андреев А.И. // Перспективы науки №7 (22) 2011. С. 165–179.

## **ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ СЛУХ ПРИ ПРЕСБИАКУЗИСЕ**

*Андреева И.Г., Клишова Е.А., Голованова Л.Е.*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург*

Пространственный слух обеспечивает ориентацию в пространстве, он участвует в механизмах избирательного внимания, тем самым улучшая локализацию целевого источника и разборчивость речи в шуме. При возрастном снижении слуха (пресбиакузисе) ориентация по слуху затрудняется. Для пресбиакузиса характерна аудиограмма нисходящего типа, то есть снижение слуха преимущественно на высоких частотах. В большей степени ухудшается локализация по элевации - положение в вертикальной плоскости, поскольку для этого необходим высокочастотный слух. Могут нарушаться и другие моноауральные механизмы пространственного слуха в результате изменения надпорогового кодирования интенсивности, которое обеспечивает главный признак для положения источника звука по радиальной координате (по расстоянию). Эффективность высокочастотного механизма бинаурального слуха, используемого для локализации по всем трем координатам пространства, снижается. Однако, при одинаковой потере слуха у пациентов могут наблюдаться разные способности к

локализации, причины таких различий неясны [4]. Ранее мы применяли моделирование симметричной потери высокочастотного слуха, для чего широкополосный шумовой сигнал преобразовывали с профилем фильтра, характерного для пациентов с пресбиакузисом [1]. Полученные у испытуемых с нормальным слухом показатели локализации сопоставляли с данными пациентов с сенсоневральной тугоухостью [2, 3]. Определяющая роль надпорогового кодирования не была подтверждена.

**Целью** нашей работы было изучение особенностей функционирования слуховой системы при хронической сенсоневральной тугоухости I-III степени. Проводили проверку гипотезы о значимом влиянии нарушения временного слухового анализа при сенсоневральной тугоухости на функцию локализации по азимуту и расстоянию. Выполняли исследование с участием пациентов старше 45 лет, у которых был установлен диагноз пресбиакузис. Наличие центральных нарушений слуха выявляли речевыми методиками. Выполняли оценку временных показателей пространственного слуха с привлечением оригинальных методов создания звуковых образов [2]. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли временного слухового анализа для ориентации в пространстве по слуху при пресбиакузисе.

*Исследование поддержано средствами Российского научного фонда, проект №24-25-00346.*

1. Gvozdeva A. P., Andreeva I. G. // J. of Evol. Biochem. Physiol. 2019. V. 55. P.463-474.
2. Gvozdeva A. P., Klishova E. A., Sitdikov V. M. et al. // Proc. of Meetings on Acoustics. 2021. Vol. 43. No. 1.
3. Klishova E. A., Gvozdeva A. P., Golovanova L. E., Andreeva I. G. // J. of Evol. Biochem. Physiol. 2021. V.57. P.1499-1510.
4. Ogorodnikova E. A., Klishova E. A., Andreeva I. G. //Neurosci. and Behav. Physiol. 2024. P.1-11.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТРОПОМИОЗИНА С МУТАЦИЯМИ, ПРИВОДЯЩИМИ К РАЗВИТИЮ НЕКОМПАКТНОГО МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Антонец Ю.Я.<sup>1,2</sup>, Кочурова А.М.<sup>1</sup>, Бельдия Е.А.<sup>1,2</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>, Матюшенко А.М.<sup>3</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия*

<sup>2</sup> *УрФУ, г. Екатеринбург, Россия*

<sup>3</sup> *ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, Россия*

Показано, что тропомиозин (Trp) участвует не только в регуляции мышечного сокращения, но и в развитии сердца, а именно в «созревании» миокарда желудочков, которое заключается в уплотнении сети волокон миокарда и сужении межтрабекулярных лакун [5]. Обнаружены мутации в гене *TRPM1*, кодирующем сердечный альфа-тропомиозин (Trp1.1), ассоциированные с некомпактной кардиомиопатией левого желудочка (НМЛЖ) и врожденными пороками сердца (ВПС) [3, 4]. Для ответа на вопрос о возможных молекулярных механизмах патогенеза кардиомиопатии мы исследовали функциональные свойства Trp1.1 с НМЛЖ и ВПС мутациями L113V, I130V, D159N, R160H и S229F.

Trp1.1 человека дикого типа (WT) и с мутациями L113V, I130V, D159N, R160H и S229F был экспрессирован в *E.coli*. Сердечный миозин был экстрагирован из левого предсердия и желудочка сердца свиньи. Тропомиозинный комплекс получен из левого желудочка сердца свиньи.

Для выполнения регуляторной функции необходимо взаимодействие N- и C-концов соседних молекул тропомиозина на актиновом филаменте (F-актин) [1]. Мы оценили влияние мутаций на это взаимодействие, измеряя вязкость раствора Trp1.1. Мутация R160H ухудшала взаимодействие N- и C-концов молекул Trp1.1, а все остальные мутации усиливали его.

Мы проанализировали влияние мутаций на взаимодействие Trpm1.1 с F-актином, используя коседиментацию. Мутации I130V и D159N уменьшали аффинность Trpm1.1 к F-актину, а остальные мутации не влияли на это взаимодействие. Эффект мутаций на термостабильность F-актин-Trpm1.1 комплекса мы исследовали путем измерения светорассеяния раствора F-актина с Trpm1.1. Мутация R160H снижала термостабильность комплекса, а мутация D159N увеличивала её.

Для исследования влияния мутаций на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в предсердиях и желудочках мы проанализировали кальциевую зависимость скорости скольжения тонких филаментов, реконструированных из F-актина, тропонина и Trpm1.1, по миозину предсердий и желудочков в *in vitro* подвижной системе [2]. Эффекты мутаций зависели от изоформ миозина. Мутации D159N и R160H существенно снижали максимальную скорость тонких филаментов при насыщающей концентрации кальция по миозину желудочков. Мутации L113V и D159N в Trpm1.1 уменьшали, а I130V и S229F увеличивали максимальную скорость филаментов по миозину предсердий. Мутации I130V, D159N и R160H уменьшали кальциевую чувствительность скорости скольжения филаментов по миозину предсердий.

Таким образом, молекулярный механизм патогенеза НМЛЖ и ВПС, ассоциированных с мутациями Trpm1.1, связан не только с изменением стабильности саркомера, но и с нарушением актин-миозинового взаимодействия в миокарде желудочков и предсердий, что оказывает негативный эффект на сократимость обеих камер сердца.

*Эксперименты выполнены на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН и поддержаны госпрограммой 122022200089-4.*

1. Невзоров И.А., Левицкий Д.И. // Биохимия. 2011. Т.51. С.283-334.
2. Никитина Л.В., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. и др. // Биохимия. 2015. Т.55. С.255-288.
3. Chang B., Nishizawa T., Furutani M. et al. // Mol Genet Metab. 2011. V.102. P.200-206.
4. England J., Granados-Riveron J., Polo-Parada L. et al. // J Mol Cell Cardiol. 2017. V.106. P.1-13.
5. McKeown C.R., Nowak R.B., Gokhin D.S., Fowler V.M. // Dev Dyn. 2014. V.243. P.800-817.

## **ВКЛАД КИШЕЧНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В ПОДДЕРЖАНИЕ ВОДНО-СОЛЕВОГО ГОМЕОСТАЗА**

Балботкина Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург*

Исследование плеiotропности биологически активных веществ является актуальным направлением научного поиска. Глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) – кишечный регуляторный пептид, он обладает функциями инкретинового гормона и участвует в поддержании водно-солевого баланса. При поступлении нутриентов кроме ГПП-1 секретируются и принимают участие в регуляции метаболических процессов глюкагоноподобный пептид-2 (ГПП-2), окситомодулин (ОКМ) и глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (ГИП). ГПП-1, ГПП-2 и ОКМ являются продуктами одного гена, а ГПП-1 и ГИП объединены функциональной ролью инкретинов. ОКМ также стимулирует секрецию инсулина, а ГПП-2 усиливает всасывание глюкозы в кишечнике. Возник вопрос, обладают ли ГПП-2, ОКМ и ГИП, также, как и ГПП-1, влиянием не только на углеводный, но и на водно-солевой баланс. **Цель** работы – оценка вклада кишечных регуляторных пептидов в ионо- и осморегуляцию.

Исследования проводили на самках крыс линии Вистар массой тела (м.т.) 166-263 г. Дозы препаратов и объемы растворов нормированы на 100 г м.т. Концентрацию ГИП, ГПП-1, ГПП-2 и ОКМ в плазме крови определяли через 5 мин после введения *per os* воды (2.0 мл), 2.5%

раствора NaCl (1.8 мл) и 50% раствора глюкозы (0.3 мл). Контролем служили интактные животные. Динамку концентрации ГПП-1 и ГИП оценивали через 0, 6 и 15 мин после введения *per os* 50% раствора глюкозы (0.3 мл) и 2.5% раствора NaCl (1.8 мл). Кровь у крыс забирали однократно из сосудов шеи под наркозом (Телазол 5 мг, *im*) или в динамике из кончика хвоста. Оценка влияния пептидов на функцию почек проведена в стандартных условиях водно-солевого баланса, после водной (2 мл, *per os*) и натриевой (2.5% раствор NaCl, 1.8 мл, *ip*) нагрузок. Все пептиды (0.15 нмоль) или их растворитель (0.9% раствор NaCl) вводили внутривентрикулярно. Для защиты от инактивации пептиды вводили на фоне предварительной (за 30 мин) инъекции ингибитора дипептидилпептидазы-4 вилдаглиптина (0.1 мг, *ip*). Контролем служили животные без введения пептидов. Пробы мочи собирали в течение 2 ч после воздействия. В пробах мочи и сыворотки крови измеряли осмоляльность, концентрацию креатинина и ионов натрия. Концентрацию гормонов в плазме крови определяли мультиплексным и/или иммуноферментным анализом. Показатели функций почек рассчитаны по стандартным формулам и нормализованы на 100 г м.т. за 1 ч. Все данные представлены в виде  $M \pm m$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

В ответ на поступление раствора глюкозы *per os* в плазме крови вырос уровень ГПП-1 на  $30 \pm 8$  пг/мл, ГИП на  $227 \pm 22$  пг/мл и ОКМ на  $147 \pm 42$  пг/мл, но не ГПП-2. После водной нагрузки и 2.5% раствора NaCl *per os* увеличился уровень только ГПП-1 на  $56 \pm 12$  и  $55 \pm 7$  пг/мл, соответственно. Оценка динамики концентрации ГПП-1 и ГИП мультиплексным анализом показала, что к 15 мин после поступления глюкозы *per os* уровень ГПП-1 вырос в 1.8 раза, ГИП в 5.8 раза. После введения 2.5% раствора NaCl *per os* концентрация ГПП-1 повысилась в 1.8 раза к 15 мин, уровень ГИП не менялся. В стандартных условиях водно-солевого баланса ГПП-1 вызвал рост диуреза в 6.8 раза за счет увеличения экскреции осмотически активных веществ с  $0.60 \pm 0.03$  до  $1.50 \pm 0.16$  мОсмоль. ГПП-2 не влиял на диурез и снизил экскрецию осмотически активных веществ до  $0.47 \pm 0.03$  мОсмоль. ОКМ и ГИП эффекта не оказали. На фоне водной нагрузки *per os* ГПП-1 увеличил диурез в 2 раза за счет роста экскреции осмотически активных веществ с  $0.70 \pm 0.04$  до  $1.85 \pm 0.10$  мОсмоль. ГПП-2 уменьшил диурез с  $1.23 \pm 0.08$  до  $0.84 \pm 0.12$  мл. ОКМ и ГИП эффекта не оказали. Оценка осморегулирующей функции почек показала, что ГПП-1 ускорил экскрецию осмотически свободной воды в отличие от ГПП-2, ГИП и ОКМ. ГПП-1 в условиях избытка *ip* поступления NaCl вызвал рост диуреза в 1.9 раза за счет увеличения экскреции натрия с  $175 \pm 10$  до  $275 \pm 28$  мкмоль, динамика выведения не менялась. ГИП не влиял на выведение NaCl. Указанные пептиды не влияли на клиренс креатинина.

Установлено, что среди родственных по происхождению или функциональной роли в отношении углеводного обмена кишечных регуляторных пептидов в процесс осмо- и ионорегуляции специфически вовлечен только ГПП-1. Он секретируется в ответ на поступление избытка воды и натрия, а также способствует ускорению их выведения. ГПП-2, ГИП и ОКМ не вовлечены в поддержание водно-солевого гомеостаза и не секретируются при поступлении избытка воды и натрия.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН (№ 075-00264-24-00).*

## **ЭНДОКАННАБИНОИДЫ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КАК СТИМУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССОВ СЕКРЕЦИИ В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ**

Балезина О.П.

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

Эндоканнабиноиды выявлены недавно в скелетной мускулатуре как разновидность неизвестных ранее сигнальных мышечных молекул – миокинов, ферментативно синтезируемых в мышцах и высвобождаемых в среду для осуществления аутокринной регуляции активности мышечных волокон и их моторных синапсов (1,2). В нашей работе недавно впервые было показано, что экзогенная аппликация на изолированные скелетные

мышцы мыши двух классических эндоканнабиноидов – анандамида (АНА) и 2-арахидонил-глицерина (2-АГ) приводит к неканоническому эффекту - облегчению секреции медиатора АХ, но за счет разных механизмов и усиления разных параметров секреции АХ. В случае АНА (30мкМ) достоверно растет частота спонтанной секреции АХ и квантовый состав (КС) вызванной секреции, т.е. потенциалов концевой пластинки (ПКП) с участием фермента ПКА и активности медленных потенциалзависимых Са-каналов L-типа (3). В случае 2-АГ его действие, повышающее размеры одиночных квантов АХ, оказалось непрямым и опосредованным стимулированием выброса из терминалей крупных электронноплотных везикул (DCV), содержащих кальцитонин ген-родственный пептид (КГРП), который, высвобождаясь из нервных терминалей под влиянием 2-АГ и действуя аутокринно на свои пресинаптические рецепторы, вызывает усиление накачки АХ в везикулы и рост размеров квантов АХ (4).

**Целью** данной работы было проследить, могут ли подобные неканонические потенцирующие эффекты ЭК воспроизводиться в моторных синапсах и при эндогенном высвобождении ЭК из скелетных мышц диафрагмы или голени *m.EDL*: а) в покое, б) в условиях усиленной сократительной и/или синаптической активности мышц; в) при фармакологической блокаде ферментов распада ЭК в мышцах, способствующей накоплению и утечке ЭК из мышц для осуществления их паракринной активности. Проводилась микроэлектродная регистрация миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП), вызванных ритмически генерируемых потенциалов концевой пластинки (ПКП) и их изменений в покое, при блокаде эндоканнабиноидных рецепторов СВ1-типа с помощью блокатора АМ 251, а также при выключении из активности ферментов, расщепляющих ЭК, используя для этого JZL184 и URB 597 – ингибиторы специфических ферментов - липазы DAGL или гидролазы FAAH.

Мы установили, что блокада синаптических СВ1 рецепторов в покое, либо – на фоне коротких залпов ПКП (50Гц, 1с) у изолированных *m. diaphragma* или *m.EDL* мышцей никак не отражается на параметрах МПКП и вызванных потенциалов концевой пластинки ПКП, что говорит об отсутствии тонической утечки миогенных ЭК и их тонических конститутивных воздействий на синапсы в покое. Однако в случае продолжительной (2мин, 30Гц) совместной сократительной и синаптической тетанической активности изолированного нервно-мышечного препарата *m.EDL* мы наблюдали рост амплитуды МПКП за счет роста размеров квантов АХ в посттетанический период, предотвращавшийся как блокадой пресинаптических СВ1-рецепторов, так и блокадой рецепторов КГРП.

При аппликации JZL184 (1мкМ) – ингибитора фермента DAGL в покое - не наблюдали изменений амплитудно-частотных параметров МПКП, однако при многократном воспроизведении коротких серий залпов ПКП (50Гц,1сек) в синапсах диафрагмы выявлен стойкий единообразный рост амплитуды и одноквантовых МПКП и ПКП на 25%, наблюдавшийся по всему ходу залпов, которые предотвращались блокатором СВ1-рецепторов, но и рецепторов КГРП, аналогично результатам, полученным при анализе действия экзогенного 2-АГ на амплитуду МПКП(в покое) и ПКП в коротких залпах ПКП. При выключении из активности гидролазы жирных кислот FAAH с помощью URB 597 (1мкМ) в синапсах уже в покое наблюдали рост и амплитуды МПКП на 25-30%, и частоты МПКП. Оба сдвига предотвращались пре-аппликацией на мышцу АМ 251 (1мкМ) – блокатора СВ1-рецепторов или блокатора фермента ПКА.

Таким образом, впервые выявлены состояния скелетной мускулатуры, способствующие высвобождению миогенных ЭК из мышц и проявлению их неканонических потенцирующих влияний как на секрецию пула холинергических везикул, так и пула DCV, содержащих КГРП. Такими условиями являются: а) интенсивная и продолжительная сократительная и/или синаптическая активность мышц, б) подавленная активность ферментов, расщепляющих ЭК в мышцах, приводящая к накоплению и утечке миогенных ЭК для осуществления ими многочисленных потенцирующих эффектов в отношении секреторной активности терминалей моторных синапсов.

1. Schonke M., Martinez-Toretz B., Rensen P. // Curr. Opin. Pharmacol. 2020. V.52, 52-60.
2. Morsh M., Protti D.A., Cheng D. et al. // Sci.Rep. 2018. V.8 (1), 4685.
3. Tarasova E.O., Khotkina N., Bogacheva P.O., Gaydukov A.E., Balezina O.P. // Biochemistry (Mosc.). 2022. Ser. A., V.15, N4, 395-405.
4. Tarasova E.O., Bogacheva P.O., Chernyshev K.I., Balezina O.P. // Synapse. 2023. V.78 (1), e22281.

## **ОСОБЕННОСТИ РИТМОВ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ ПРИ ВОСПРИЯТИИ ОБРАЗОВ В ВИРТУАЛЬНОЙ РЕАЛЬНОСТИ**

Белашевская А.О.<sup>1</sup>, Романова И.Д.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет), Самара*

Активное применение технологий виртуальной реальности (VR) в практической деятельности человека, включая современную медицину, образование, развлечения и тренировку, создает необходимость проведения исследований по анализу влияния таких разработок на функциональное состояние человека. Электроэнцефалография, в свою очередь, представляет собой один из основных методов объективного тестирования функций нервной системы. Исследование особенностей стандартных ритмов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) при восприятии образов в VR способствует более глубокому пониманию этого вопроса. Это позволит улучшить эффективность и безопасность использования VR-технологий и оптимизировать пользовательский опыт.

**Целью** данной работы является исследование особенностей биоэлектрических ритмов головного мозга при восприятии эмоционально-напряженного контента в виртуальной реальности.

Экспериментальная часть заключалась в регистрации изменений спектральной мощности ритмов ЭЭГ и определении диапазона нормативных значений испытуемых, находящихся в состоянии функционального покоя и при восприятии эмоционально-напряженного и шокирующего контента, сопровождаемого зрительными и слуховыми эффектами на плоском экране и в условиях виртуальной реальности.

В эксперименте принимали участие 40 здоровых юношей и девушек в возрасте от 19 до 22 лет.

В спокойном состоянии (в темноте, с закрытыми глазами и в тишине) наблюдалась нормальная ЭЭГ (организованный тип).

При восприятии эмоционально напряженного контента (американские горки) наблюдался десинхронный тип ЭЭГ, указывающий на корректирующие изменения в функционировании головного мозга.

Наблюдалось смещение альфа-ритма в лобную область, что связано с мыслительной активностью. Спектральная мощность альфа-ритма в теменно-затылочных отведениях у испытуемых в состоянии функционального покоя выше, чем при восприятии эмоционально-напряжённого контента.

Наблюдалось смещение ритма бета-1 в теменные области обоих полушарий. Высокая активность бета-1 отмечалась в височных областях. В лобных долях также наблюдалось повышение активности.

Ритм бета-2 активен в теменно-затылочных областях и в левой теменной доле. Наиболее сильно повышалась активность в височных областях, особенно по сравнению с центральными областями.

Активность тета-ритма выражена слабо, но смещена в лобные и височные области. В центре выражена слабо.

Дельта-ритм так же слабо выражен. Наблюдалась тенденция к увеличению спектральной мощности ритма в отведениях Fp1, Fp2, F7, T3, T4. В прочих затылочных, теменных, центральных, лобных и височных отведениях статистически значимых данных не наблюдалось.

Активность гамма-ритма возрастает в лобных, височных долях и в обеих теменных областях. В центральных областях ритм менее выражен.

При восприятии шокирующего контента (скример) наблюдался десинхронный тип ЭЭГ, характеризующийся реакцией активации, а именно снижением уровня  $\alpha$ -волн, переходящим в умеренную активность  $\beta$ -волн.

Наблюдалось увеличение спектральной мощности альфа-ритма в лобных областях и снижение мощности в центральной и теменной зонах. Таким образом, отмечалось разноплановое влияние шокирующего контента на активность альфа-ритма.

Наблюдалась миграция  $\beta$ -1-ритма в лобные и височные зоны.

Наблюдалась латерализация  $\beta$ -2-ритма: его активность в лобных, височных, теменно-затылочных областях значительно выше, чем в центральных.

Тета-ритм выражен в передней лобной зоне и левой лобной доле. В теменных, височных и затылочных отведениях наблюдается тенденция к увеличению мощности ритма.

Выраженность дельта-ритма очень низкая. Наблюдалась латерализация гамма-ритма.

1. Baumgartner, Th. Neural correlate of spatial presence in an arousing and noninteractive virtual reality: an EEG and psychophysiology study [Text] / Thomas Baumgartner [et al.] // Cyberpsychology & behavior: the impact of the Internet, multimedia and virtual reality on behavior and society, 2006. Vol. 9 (1). P. 30-45.
2. Wang, X.J. Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition / X. J. Wang // Physiological reviews, 2010. Vol. 90 (3). P. 1195-1268.
3. Здорнов, М.Ю. Методы предварительной обработки данных ЭЭГ [Электронный ресурс]: труды Международной научно-технической конференции / М.Ю. Здорнов, А.Г. Храмов // Перспективные информационные технологии (ПИТ 2020). Самара: Издательство Самарского научного центра РАН. 2020. С. 33-36.
4. Зенков, Л.Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии). Руководство для врачей [Текст] / Л.Р. Зенков. 8-е изд. М.: МЕДпрессинформ, 2017. 360 с.
5. Холл, Дж. Э. Медицинская физиология по Гайтону и Холлу [Текст] / Дж. Э. Холл. 2-е изд., испр. и доп. М.: Логосфера, 2018. 1328 с.

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ НИКОТИНАМИД РИБОЗИДА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРА КРЫС СТОКА WISTAR**

**Белогорцева В.Д., Подъячева Е.Ю., Снежкова Ю.В., Иванов С.А., Журавский С.Г.,  
Торопова Я.Г.**

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург*

Необратимое повреждение рецепторного отдела слухового анализатора частая причина тугоухости у детского и взрослого населения. К распространенным причинам перманентной потери слуха относят фармакологическую ототоксичность. Сегодня предшественники НАД+ (никотинамид рибозид (НР), никотинамид, никотиновая кислота) рассматриваются в качестве перспективных фармакологических агентов для лечения широкого спектра заболеваний (сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, ожирения, диабета и т.д.) [2]. В большинстве исследований, направленных на изучение потенциальных токсических эффектов

предшественников НАД+ (особенно НР), используется пероральный способ введения. При этом, внутривенный (в/в) способ введения НР, представляя собой перспективный подход с позиции повышения биодоступности и эффективности, характеризуется малой изученностью оказываемых эффектов [1]. С учетом способности предшественников НАД+ проникать через гемато-лабиринтный барьер к тканям внутреннего уха [3], отдельный интерес представляет изучение их потенциального токсического действия на слуховой анализатор.

**Целью** работы явилось изучение функционирования слухового анализатора крыс стока Wistar в условиях многократного в/в введения НР в различных дозах.

В исследовании было задействовано 40 самцов крыс стока Wistar SPF-статуса (4 группы), массой  $273 \pm 41$  гр. В/в введение 300, 450, 600 мг/кг НР осуществляли следующим образом: 3-х кратное введение НР в указанных дозах с интервалом в два дня, далее 3-кратное введение НР с интервалом в 5 дней (3,5 недели). Контрольная группа животных получала 1 мл 0,9% р-р натрия хлорида 6 раз в том же режиме. Для оценки функционального состояния периферического и ретрокохлеарного отделов слухового анализатора использовались методы регистрации амплитуды отоакустической эмиссии на частоте продукта искажения (ПИОАЭ) и коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП). В работе использовался прибор «Нейро-Аудио» («Нейрософт», Россия), оснащенный программным обеспечением «Neuro-Audio.NET». Регистрация ПИОАЭ и КСВП у крыс проводилась в условиях ингаляционного наркоза (2% изофлюрана) исходно, по окончании введения препаратов, а также через 1 и 2 месяца после достижения кумулятивной дозы НР. Для оценки различий между разными группами использовали непарный параметрический критерий one-way ANOVA.

В динамике эксперимента у животных, получавших 300 мг/кг НР, не было выявлено функциональных изменений кохлеарного и ретрокохлеарного отделов слухового анализатора. Тогда как у крыс, которым вводили 450 мг/кг НР, отмечалось значимое снижение амплитуды ПИОАЭ (исходно 22,00 [21,10; 23,20]) по окончании введения фармакологического агента (19,70 [18,85; 21,40],  $p < 0,05$ ) без отклонений по результатам исследований КСВП. Амплитуда данного показателя восстанавливалась через 2 месяца наблюдения. В то же время на фоне многократного введения 600 мг/кг НР выявилось достоверно значимое снижение амплитуды ПИОАЭ, которое сохранилось через 2 месяца наблюдения (исходно 21,90 [20,10; 24,40], через 2 месяца 18,80 [17,70; 20,00],  $p < 0,01$ ). Отклонений латентности и амплитуды II пика КСВП также не было отмечено ( $p > 0,05$  по сравнению с исходным значением).

Таким образом, многократное в/в введение НР крысам оказывает дозозависимое повреждающее действие на слуховой анализатор. Многократное в/в введение НР крысам в дозе 300 мг/кг не вызывает нарушений со стороны слухового анализатора, тогда как многократное введение НР в дозах 450 и 600 мг/кг вызывает нарушения в виде снижения амплитуды ПИОАЭ. При этом на фоне использования дозы 450 мг/кг данные изменения носят проходящий характер, а на фоне использования большей дозы НР (600 мг/кг) наблюдаются сохраняющиеся через 2 месяца наблюдения нарушения со стороны кохлеарного отдела слухового анализатора.

1. С.А. Иванов, Е.Ю. Подъячева, С.Г. Журавский, Я.Г. Торопова // Ототоксический эффект никотинамид рибозида. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 177, № 5. – С. 601-605.
2. Chu C.T. Mechanisms of selective autophagy and mitophagy: Implications for neurodegenerative diseases / C.T. Chu // Neurobiol. Dis. 2019. Vol. 122. P. 23-34.
3. Fang J. A reduced form of nicotinamide riboside protects the cochlea against aminoglycoside-induced ototoxicity by SIRT1 activation / Fang J., Wu H., Zhang J. Mao S., Shi H., Yu D., Chen Z., Su K., Xing Y., Dong H., Shi H. // Biomed. Pharmacother. 2022. Vol. 150. 113071.

# ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ РАЗНЫХ ОСТАТКОВ Ser В М-МОТИВЕ СЕРДЕЧНОГО МИОЗИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С НА АКТИН-МИОЗИНОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

Бельдия Е.А.<sup>1,2</sup>, Кочурова А.М.<sup>1</sup>, Матюшенко А.М.<sup>3</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург

<sup>3</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

Фосфорилирование основных белков саркомера кардиомиоцита играет важную роль в регуляции сокращения сердца. Одним из таких белков является сердечный миозин-связывающий белок С (сМуВР-С). сМуВР-С расположен в толстых нитях, модулирует актин-миозиновое взаимодействие и поддерживает целостность структуры саркомера. Молекула сМуВР-С состоит из 11 доменов, обозначенных от С0 на N-конце молекулы до С10 на ее С-конце. Фосфорилирование остатков Ser в *m*-мотиве доменов С0-С2 сМуВР-С (Ser275, Ser284 и Ser304) влияет на взаимодействие миозина с актином, на цикл поперечных мостиков, ускоряет развитие мышечной силы и регулирует сократительную способность сердечной мышцы.<sup>1,2</sup> Каждый из этих сайтов фосфорилируется специфическим набором киназ, и степень их фосфорилирования может варьировать в разных условиях сокращения сердца. Возникает вопрос о влиянии фосфорилирования разных сайтов и их комбинаций на актин-миозиновое взаимодействие. Мы изучили влияние фосфорилирования Ser275, Ser284 и Ser304 сМуВР-С на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде, используя *in vitro* подвижную систему (ИПС).

Миозин экстрагировали из левого желудочка сердца свиньи, актин – из *m.psoas* кролика. Сердечный альфа-тропомиозин человека, тропониновый комплекс и N-концевые фрагменты сМуВР-С (фрагменты С0-С2) дикого типа (WT) и с аминокислотными заменами S275D, S284D и S304D, имитирующие фосфорилирование, были экспрессированы в *E. coli*. Было исследовано влияние следующих комбинаций аминокислотных замен: S304D, S275D/S284D, S284D/D304D и S275D/S284D/D304D в С0-С2 фрагменте. Тонкие нити реконструировали из актина, тропонина и тропомиозина.

Мы обнаружили, что максимальная скорость скольжения тонких нитей и кальциевая чувствительность актин-миозинового взаимодействия значительно снижались в присутствии 0.5  $\mu$ M С0-С2, а эффекты фосфорилирования зависели от комбинации сайтов фосфорилирования. Фрагменты S304D С0-С2 и S275D/S284D С0-С2 снижали максимальную скорость движения филаментов и снижали кальциевую чувствительность актин-миозинового взаимодействия. Фрагменты S284D/D304D и S275D/S284D/D304D также снижали кальциевую чувствительность, но не влияли на максимальную скорость тонких нитей. Фрагмент С0-С2 усиливал мости-мостиковую кооперативность актин-миозинового взаимодействия, а его фосфорилированные формы делали это в большей степени.

Таким образом, фосфорилирование разных остатков Ser в *m*-домене влияет на сократимость миокарда через активацию тонкой нити сМуВР-С благодаря усилению мостик-мостиковой кооперативности, что может быть одним из механизмов, определяющих соотношение продолжительности систолы и диастолы на уровне целого сердца.<sup>3</sup>

Работа поддержана грантом РФФИ №22-14-00174.

1. Barefield, D., Sadayappan, S. Phosphorylation and function of cardiac myosin binding protein-C in health and disease // J Mol Cell Cardiol 48, 866–875 (2010).
2. Govindan, S. et al. Pathogenic properties of the N-terminal region of cardiac myosin binding protein-C in vitro // J Muscle Res Cell Motil 33, 17–30 (2012).
3. Nagayama, T. et al. Control of in vivo left ventricular [correction] contraction/relaxation kinetics by myosin binding protein C: protein kinase A phosphorylation dependent and independent regulation // Circulation 116, 2399–2408 (2007).

## ИОНОРЕГУЛИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ПОЧЕК У МЫШЕЙ С НОКАУТОМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ

Беляков Г.В.<sup>1</sup>, Балботкина Е.В.<sup>1</sup>, Кутина А.В.<sup>1,2</sup>, Леонова Е.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Оксид азота (NO) является важным регулятором почечной гемодинамики и гломерулярной фильтрации, ингибирует реабсорцию натрия и увеличивает его экскрецию. В организме синтез NO катализируется ферментом NO-синтазой, на данный момент идентифицированы три изоформы: конститутивные изоформы NOS1 (нейрональная) и NOS3 (эндотелиальная) и индуцибельная изоформа NOS2. Свидетельства роли NO в регуляции функции почек получены, главным образом, при исследованиях на животных с введением доноров NO или NOS-ингибиторов. Из-за отсутствия изоформ-специфичных NOS-ингибиторов роль отдельных NO-синтаз в функции почек остается спорной. Другим подходом к оценке роли NO в регуляции физиологических процессов в почке является нокаут генов, кодирующих NOS. На мышах *nos1*-нокаутах было показано, что дефицит образования NO приводит к соль-чувствительности. Нефрон-специфическое нарушение синтеза NOS3 у мышей вызывает гипертонию и нарушение выведения солей [1]. **Целью** настоящего исследования явилась оценка ионорегулирующей функции почек у мышей с нокаутом гена NOS3.

Чистая линия мышей с нокаутом гена *nos3* (NOS ko) выведена на основе линии мышей C57Bl/6 в Институте трансляционной биомедицины СПбГУ с использованием метода CRISPR-CAS9-редактирования. В исследование было включено 39 животных (20 мышей C57Bl/6: 10 самок и 10 самцов; 19 мышей NOS ko: 10 самок и 9 самцов). В возрасте 4 недель мышей NOS ko генотипировали классическим способом с помощью ПЦР и секвенирования. Взрослых мышей (с 2 до 8 мес.) для наблюдения и проведения экспериментов содержали в виварии ЦКП ИЭФБ РАН. Мыши размещались в клетках по 1-6 особей в системе содержания животных Notoit, получали воду для питья и гранулированный корм ЛБК-120 ad libitum. Серии экспериментов: контроль натошак (корм забирали за 16 ч до эксперимента); контроль со свободным доступом к корму; солевая нагрузка – 5% раствор NaCl перорально 0.9 мл/100 г м.т.; введение фуросемида 0.5 мг/100 г м.т. Сбор мочи при произвольных мочеиспусканиях проводили в индивидуальных клетках в течение 3 ч после воздействия или в контрольных условиях. В пробах мочи определяли концентрацию натрия и калия методом пламенной фотометрии и концентрацию креатинина кинетическим методом по реакции Яффе. Рассчитывали диурез, экскрецию ионов натрия и калия почками и выведение натрия и калия на единицу креатинина по стандартным формулам.

Показано, что мыши NOS ko по сравнению с мышами дикого типа (C57Bl/6) имели меньший вес на протяжении всего периода наблюдения, но значимых различий в потреблении корма не выявлено. При сборе мочи у мышей натошак не выявлено межлинейных различий в экскреции ионов натрия и калия. При проведении экспериментов на фоне свободного доступа к корму у мышей NOS ko экскреция калия была ниже, чем у мышей C57Bl/6, при этом для сытых мышей была характерна более высокая экскреция ионов калия, чем у мышей натошак. В условиях поступления избытка натрия в организм нами также не было выявлено существенных различий между двумя линиями мышей. Введение 0.9 мл/100 г м.т. 5% раствора NaCl перорально приводило к росту экскреции натрия в 8.8 раза у мышей NOS ko, и 8.4 раза у мышей C57Bl/6. После солевой нагрузки у мышей также несколько возросла экскреция ионов калия в 1.3 раза у мышей NOS ko, в 1.7 раза у мышей C57Bl/6. Для выявления потенциальных отличий в транспорте натрия и калия в почках при нарушении NOS3 также были проведены эксперименты с оценкой чувствительности мышей NOS ko к петлевому диуретику фуросемиду. Диуретический и натрийуретический эффект фуросемида у мышей NOS ko были выражены сильнее, чем у мышей дикого типа. Экскреция натрия за 2 часа наблюдения

составила –  $414 \pm 25$  мкмоль/100 г м.т. у NOS ko и  $274 \pm 23$  мкмоль/100 г м.т. у мышей C57Bl/6 ( $p = 0.0003$ ), диурез  $3.4 \pm 0.2$  и  $2.2 \pm 0.2$  мл/100 г м.т. ( $p = 0.0001$ ), соответственно. Выявленные различия могут указывать на повышение базального уровня реабсорбции натрия в толстом восходящем отделе петли Генле, например, вследствие повышения экспрессии Na/K/2Cl-котранспортера в почке в условиях дефекта NOS3.

Таким образом, в нашей работе было впервые показано повышение чувствительности к фуросемиду у мышей NOS ko, что может указывать на значимость активности NOS3 для регуляции транспорта натрия в толстом восходящем отделе петли Генле.

*Работа выполнена в рамках проекта СПбГУ (ID 95445540, № 121082000087-7) и госзадания ИЭФБ РАН (№ 075-00264-24-00) на базе ЦКП ИЭФБ РАН.*

1. Gao Y., Stuart D., Takahishi T., Kohan D.E. // J. Am. Heart Assoc. 2018. V.7: e009236.

## **ЭЭГ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛОВ ОШИБОК НА УРОВНЕ ОТДЕЛЬНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ И ГРУПП СТИМУЛОВ**

Беркмуш-Антипова А.М.<sup>1</sup>, Сыров Н.В.<sup>1,2</sup>, Мирошников А.А.<sup>1,3</sup>, Яковлев Л.В.<sup>1,2,3</sup>,  
Голованов Ф.Ю.<sup>1</sup>, Каплан А.Я.<sup>1,3</sup>, Шушарина Н.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Балтийский центр нейротехнологий и искусственного интеллекта, Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград*

<sup>2</sup> *Центр нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана, Сколковский институт науки и технологий, Москва*

<sup>3</sup> *Кафедра физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва*

Потенциалы, связанные с ошибкой (ПССО) - особый тип вызванной кортикальной активности, которая регистрируется в ЭЭГ человека при совершении и наблюдении собственных или чужих ошибок и при анализе их последствий [2,3]. ПССО обычно состоит из специфических компонент, отражающих последовательные процессы анализа ошибки и интеграции информации различного уровня сложности. Особый интерес представляют такие компоненты как ранний негативный потенциал (ERN) и поздний позитивный потенциал (Pe), связанный с ошибками. Компонент ERN часто связывают с перераспределением внимания, первичной интеграцией ошибки [4,5], в то время как роль Pe остается менее изученной. Считается, что его появление связано с процессами осознания ошибки и коррекции будущего поведения [3]. Последние исследования показывают важность изучения не только потенциалов, связанных с ошибкой, но и реакций мысленного согласия с корректным предъявлением [1]. В настоящем исследовании представлены результаты анализа реакций мысленного согласия и несогласия пользователя в парадигме человек-машинного взаимодействия.

В исследовании приняли участие 19 ( $23.3 \pm 4.78$  лет) здоровых испытуемых. В ходе эксперимента испытуемые взаимодействовали с контуром псевдо-интерфейса мозг-компьютер, обратная связь в котором не зависела от пользователя и задавалась программно. В начале взаимодействия испытуемым предъявлялось изображение, входящее в состав стимульного набора, состоящего из 12 изображений, разделенных на 3 равные группы (Животные, Еда и Объекты). Задачей испытуемого было запомнить исходное изображение, а затем мысленно (не) соглашаться с предъявляемой обратной связью, состоящей из изображений стимульного набора. “Отгадывание” изначального изображения происходило исчерпывающим перебором, в котором сначала определялась, к какой группе принадлежало изображение, а затем само изображение внутри группы. Первое предъявление в повторении длилось 6 с, последующие – 4 с, межстимульный интервал – 3 с.

Регистрация ЭЭГ производилась с использованием 64 отведений по международной схеме 10-10, частота дискретизации во время записи составляла 1000 Гц с последующим

понижением при анализе до 500 Гц, референсный электрод TP10. Предобработка данных состояла из фильтрации КИХ-фильтром в полосе 1-15 Гц, удаления артефактов методом анализа независимых компонент, интерполяции зашумленных каналов и перереферирование по средневзвешенной схеме отведений. Далее непрерывный сигнал разделялся на равные участки (эпохи), соответствующие отдельным предъявлениям. Длина эпох составила [-0.25, 1.0 с], коррекция базовой линии производилась по периоду [-0.25, 0.0 с] до начала предъявления. Для анализа значимых различий в амплитудно-временном домене использовались кластерные перестановочные t-тесты, количество перестановок - 100 000.

Были выявлены различия в реакциях согласия и реакциях на ошибку на уровне групп стимулов ( $p = 0.00141$ ,  $p = 0.00199$ ) и на уровне отдельных изображений ( $p = 0.01625$ ,  $p = 0.00045$ ). Данные различия выявлялись во временном промежутке 300-550 мс на уровне группы стимулов и в промежутках 100-145 мс и 315-615 мс на уровне отдельных изображений. Выявленные различия локализовались преимущественно в теменных и фронтальных отведениях, что соответствует предшествующей литературе о локализации кортикальных реакций на ошибку [2,3,4].

Большой интерес представляют обнаруженные различия в ранних компонентах реакций согласия, соответствующих процессам ранней визуальной обработки стимула. Эти результаты подтверждают важность изучения реакций согласия.

*Исследование выполнено в рамках Государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации FZWM-2024-0013.*

1. Berkush-Antipova A., Syrov N., Yakovlev L. et al. // *Frontiers in Psychology*. 2024. V.15. P.1394496.
2. Coles M.G., Scheffers M.K., Fournier L. // *Acta Psychologica*. 1995. Vol. 90, № 1–3. P. 129–144.
3. Falkenstein M., Hoormann J., Christ S. et al. // *Biological Psychology*. 2000. Vol. 51, № 2–3. P. 87–107.
4. Hajcak G., Moser J.S., Yeung N. et al. // *Psychophysiology*. 2005. Vol. 42, № 2. P. 151–160.
5. Holroyd C.B., Coles M.G.H. // *Psychological Review*. 2002. Vol. 109, № 4. P. 679–709.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ БЕЛКА-C НА ХАРАКТЕРИСТИКИ СОКРАЩЕНИЯ ВОЛОКОН МЕДЛЕННЫХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ**

Набиев С.Р.<sup>1</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>, Матюшенко А.М.<sup>2</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

<sup>2</sup> *ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва*

Влияние мутаций D75N и P161S в сердечном миозин-связывающем белке-C (сMyBP-C), ассоциированных с гипертрофической кардиомиопатией [1], на механические и кинетические характеристики актин-миозинового взаимодействия было исследовано на изолированных волокнах скелетных мышц кролика. В качестве экспериментальной модели использовались волокна медленных скелетных мышц, состав тяжёлой цепи миозина которых совпадает с составом цепей сердечного миозина. Были исследованы кальциевая зависимость напряжения мышечного волокна и его жёсткости, а также кинетика его восстановления после быстрого отсоединения поперечных мостиков, используя протокол Brenner-Eisenberg [2].

Добавление 5 мкМ N-терминального фрагмента WT C0-C2 сMyBP-C увеличивало кальциевую чувствительность напряжения на  $\sim 0.3$  pCa. Оба фрагмента C0-C2 с мутациями существенно влияли на кальциевую чувствительность напряжения волокон: фрагмент с мутацией P161S снижал её на 0.4 pCa по сравнению с WT фрагментом, а фрагмент с мутацией D75N – увеличивал на 0.65 pCa и подавлял максимальное напряжение волокна на 15%.

Жёсткость волокон, которая служит мерой числа поперечных мостиков, т.е. присоединённых к актину головок молекул миозина, была измерена синусоидальными изменениями длины волокна на частоте 1 кГц и регистрации изменений напряжения. В присутствии C0-C2 фрагментов сМуВР-С жёсткость снижалась примерно на 20% по сравнению с контрольной независимо от наличия мутаций.

Все три исследованные в этой работе фрагменты белка-С сМуВР-С одинаково, примерно на 10%, замедляли кинетику восстановления активного напряжения после быстрого отсоединения и последующего присоединения поперечных мостиков в волокне при насыщающей концентрации кальция.

При добавлении 30 мкМ WT фрагмента сМуВР-С в отсутствие  $\text{Ca}^{2+}$  ( $p\text{Ca} > 8.5$ ) волокна развивали ~60% максимального  $\text{Ca}^{2+}$ -активированного напряжения. В то же время напряжение при максимальной  $\text{Ca}^{2+}$ -активации в присутствии той же концентрации WT фрагмента снижалось на порядок. Качественно такие эффекты C0-C2 фрагмента сМуВР-С были ранее обнаружены на препаратах сердечных мышц [3,4], но в случае с волокнами медленных скелетных мышц они оказались количественно гораздо более выраженными.

Результаты демонстрируют существенное влияние гипертрофических мутаций в сМуВР-С на характеристики актин-миозинового взаимодействия на модели медленного волокна скелетной мышцы и требуют дальнейшего изучения.

*Работа поддержана грантом РФФ 22-14-00174.*

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
2. Brenner B. and Eisenberg E. Rate of force generation in muscle: correlation with actomyosin ATPase activity in solution // Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. Vol. 83. No.10. P. 3542-46.
3. Herron, T.J., Rostkova E., Kunst G., Chaturvedi R., Gautel M., Kentish J.C. Activation of Myocardial Contraction by the N-Terminal Domains of Myosin Binding Protein-C. Circ. Res., 2006, Vol. 98, No. 10.
4. Razumova M.V., Bezold K.L., Tu A.-Y., Regnier M., Harris S.P. Contribution of the Myosin Binding Protein C Motif to Functional Effects in Permeabilized Rat Trabeculae. J. Gen. Physiol. Vol. 132 No. 5 575–85.

## **ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ СЛУХОВОЙ КОРЫ НЕАНЕСТЕЗИРОВАННОЙ КОШКИ НА ОКРУЖАЮЩИЕ ЗВУКИ**

**Бибиков Н.Г.<sup>1,2</sup>, Пигарев И.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Акустический институт им. акад. Н.Н. Андреева, Москва,*

<sup>2</sup>*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва,*

По методике, разработанной И.Н. Пигарёвым [3], исследовали локальные потенциалы и ответы одиночных нейронов в центральной зоне первичной слуховой коры ненаркотизированной кошки. В эксперименте, продолжавшемся более 6 месяцев, локальные потенциалы и ответы одиночных нейронов исследованы более чем в 20 точках по ходу дорсовентрального погружения. Биоэлектрическую активность, вызванную звуками, регистрировали дифференциально между двумя близкорасположенными микроэлектродами. Звуковые сигналы излучались высокочастотным динамиком, расположенным непосредственно перед головой животного. Они предъявлялись животному в относительной тишине, но без специально создаваемого звукозаглушения. При этом стимул, достигающий улитки кошки, подвергался существующим в повседневной жизни спектральным искажениям, обусловленным, главным образом, структурами наружного уха и всегда наличествующей реверберацией.

После локализации электродов в исследуемом локусе осуществляли ориентировочное определение диапазона характеристических частот исследуемой точки коры, исходя из ответов на тональные отрезки низкого уровня. Затем животному предъявляли сложные и

достаточно интенсивные звуковые стимулы, в число этих звуков входили коммуникационные сигналы исследуемого вида животных (мяуканье и угрожающее шипение), видовые сигналы потенциальных жертв (грызуны, птицы) и разнообразные антропогенные звуки (храп, речь, пение). Большинство звуков характеризовались основными максимумами спектра в сравнительно низкочастотном диапазоне (ниже 5кГц). Уровень сигналов варьировал в диапазоне 60-80 дБ.

Наши результаты существенно отличались от большинства данных, получаемых в работе с наркотизированными животными. Значительное большинство регистрируемых нами нейронов обладали фоновой импульсацией с наличием пачек импульсов и выраженными фрактальными характеристиками. Ответы клеток на сложные стимулы обычно характеризовались значительной вариабельностью при последовательных предъявлениях одного и того же сигнала. При этом явление привыкания, которое очень ярко проявляется в корковых нейронах наркотизированных животных, было выражено гораздо слабее. Более того в некоторых случаях реакция нейрона при повторных предъявлениях одного и того же звука усиливалась. Реакция на длительный сигнал могла продолжаться в течение сотен секунд без выраженного снижения плотности импульсации.

Несмотря на то, что длительное дорсо-вентральное погружение электродов происходило в зоне расположения клеток, имеющих наиболее низкие пороги в области высоких частот (10-16 кГц), большинство предъявляемых звуков вызывало чёткую и легко выявляемую реакцию в импульсной активности одиночных нейронов. Однако при этом средняя частота следования спайков, регистрируемых клеток далеко не всегда значительно возрастала во время действия стимула. При усреднении по всей длительности предъявления звука плотность импульсации регистрируемого нейрона иногда не только не увеличивалась, но могла оказаться даже ниже фоновой. Ответ на звуки сводился обычно к синхронизации моментов появления спайков с определёнными особенностями предъявляемого звука. Этими особенностями иногда являлись моменты начала и (или) окончания звучания, но в некоторых случаях поверхностный анализ спектрально-временного представления звука не позволял их обнаружить. На остальных участках сигнала плотность импульсации нередко была существенно ниже, чем в фоновой активности. Полученные результаты, как и некоторые данные литературы [2], позволяют полагать, что гипотеза о реализации в первичных зонах слуховой коры редкого (scarce) представления окружающей звуковой среды при наличии одиночных нейронов – детекторов чётко определённых конкретных звуков, в настоящее время не имеет прямых подтверждений. Альтернативная гипотеза предполагает, что звуковой сигнал кодируется возникновением в коре сложного ансамбля синхронно реагирующих клеток, который сам по себе может изменять своё пространственное и временное положение [1].

1. Filipchuk A., Schwenkgrub J., Destexhe A., Bathellier B. // *Nature Neuroscience*. 2022. V. 25. P. 1327–1338.
2. Qin L, Wang JY, Sato Y. // *J Neurophysiol*. 2008 V. 99. P. 2305–2319.
3. Pigarev I.N., Saalman Y.B., Vidyasagar T.R. // *Journal of Neuroscience Methods*. 2009. V.181, P. 151-158.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В МОДЕЛИ ОСТРОГО КОЛИТА У КРЫС**

Бикмурзина А.Е.<sup>1</sup>, Марков А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,*

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

Актуальным научным направлением последних лет стало изучение изменения функций центральной нервной системы (ЦНС) на фоне развивающихся проблем с кишечником. В частности, интерес представляют воспалительные заболевания кишки (ВЗК). Известно, что

частым проявлением при ВЗК являются неврологические симптомы разной выраженности (депрессивные эпизоды, поведенческие нарушения, нейровоспаление). Одной из возможных причин данных проявлений выступает изменение проницаемости кишечника, приводящее к нарушению параметров внутренней среды организма, и последующая ответная реакция со стороны гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

ГЭБ является гетерогенной структурой, поддерживающей постоянство внутренней среды головного мозга. Интегральные белки плазматической мембраны семейства клаудина, окклюдина и трицеллюлина, входящие в состав структуры плотных контактов, являются основными молекулярными компонентами, которые определяют парацеллюлярную проницаемость и барьерные свойства эпителия [1]. На данный момент ключевыми белками плотных контактов в ГЭБ являются клаудин-5, снижающий проницаемость сосудов, а также окклюдина и трицеллюлин, обеспечивающие транспорт органических веществ. В отдельных исследованиях в головном мозге мышей обнаружен белок клаудин-2, образующий поры для ионов воды и натрия [3]. Предполагается, что нарушение функционирования кишечника может вызывать изменения уровня белков плотных контактов в сосудах мозга, в частности, появление клаудина-2 и изменение проницаемости ГЭБ. Нами использовалась модель острого колита с декстран сульфатом натрия (DSS) [2] для изучения динамики молекулярного состава ГЭБ в лобных долях головного мозга крысы.

Работа выполнена на крысах Вистар массой 120-130 г (n=4). Экспериментальный острый колит на лабораторных животных индуцирован добавлением 2.5% раствора DSS в питьевую воду, которую ежедневно обновляли. Контрольная группа животных (n=4) получала питьевую воду без DSS в таком же режиме. На восьмой день производился забор ткани лобных долей мозга для определения методом Вестерн-блот уровня клаудина-2, -5, окклюдина и трицеллюлина. Для оценки возможного нейровоспаления определяли уровень белка р65.

Показано присутствие во всех группах животных клаудина-5, порообразующего белка клаудина-2, окклюдина и трицеллюлина. В опытной группе в лобных долях головного мозга крыс уровень этих белков не изменился. Белок р65 имел тенденцию к увеличению (p=0.057) в группе животных с колитом, что может предполагать развитие воспалительного процесса в головном мозге.

Таким образом, развитие в течение восьми дней острого колита не приводит к изменению уровня белков плотных контактов в ткани головного мозга крыс, что свидетельствует о сохранности ГЭБ в исследуемый период.

1. Марков А.Г. // Рос. физиол. жур. им. И.М. Сеченова. 2013. Т.99. С.175-195.
2. Eichele D.D., Kharbanda K.K. // World J Gastroenterol. 2017. V.23. P.6016-6029.
3. Markov A.G., Bikmurzina A.E., Fedorova A.A., et al. // Int J Mol Sci. 2023. V.25. P.276.

## **ОКСИД АЗОТА (NO) КАК МОДУЛЯТОР РАБОТЫ МЕХАНОСЕНСИТИВНЫХ Ca<sup>2+</sup>-КАНАЛОВ L-ТИПА В УСЛОВИЯХ РАСТЯЖЕНИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫС**

Родина А.С., Биличенко А.С., Камкина О.В.

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

Ca<sup>2+</sup>-каналы L-типа (LTCC), являющиеся основой для Ca<sup>2+</sup>-тока L-типа (I<sub>Ca,L</sub>) вносящие решающий вклад в формирование потенциала действия кардиомиоцита, обладают механосенситивностью [2] и таким образом участвуют в формировании механоэлектрической обратной связи. Однако до настоящего времени не был установлен механизм, за счет которого LTCC способен эффективно отвечать на растяжение клетки. Для катион-неселективных механоправляемых каналов таким модулирующим механизмом ответа на растяжение являются клеточные каскады, активируемые оксидом азота (NO) [3]. В настоящей работе мы

показываем, что основными типами LTCC, обладающими механосенситивностью и участвующими в проведении  $I_{Ca,L}$  в желудочковом кардиомиоците крысы являются каналы Cav1.2. Также мы показываем, что NO может модулировать работу LTCC во время растяжения клетки, реализуя свое действие в первую очередь за счет прямого S-нитрозилирования LTCC.

Эксперименты проводили на изолированных кардиомиоцитах желудочков сердца крыс, полученных по методу Лангендорфа. Изучение транскриптома осуществлялось методом секвенирования мРНК и нормализацией транскриптов на миллион килобаз (TPM). Запись токов проводилась при помощи метода patch-clamp в режиме voltage-clamp в конфигурации whole-cell. Растяжение клеток – с помощью локального осевого растяжения оплавленной patch-пипеткой.

Анализ ридов мРНК показал, что наиболее экспрессируемой изоформой LTCC, проявляющей механосенситивность, в кардиомиоците является канал Cav1.2 ( $0,1170 \pm 0,0075$  TPM).

Анализ токов в сочетании с локальным осевым растяжением показал, что пиковые значения  $I_{Ca,L}$  уменьшаются пропорционально растяжению в диапазоне 6-10 мкм. Добавление донора NO SNAP вызывало уменьшение  $I_{Ca,L}$  в большинстве экспериментов. Введение в перфузионный раствор ингибитора sGC ODQ вызывало уменьшение  $I_{Ca,L}$  как у интактной, так и у растянутой клетки, что говорит о вкладе NO-sGC-cGMP-PKG-пути в регуляцию LTCC в интактной клетке. Дополнительное введение SNAP в интактной клетке еще сильнее уменьшало  $I_{Ca,L}$ , а на фоне делящегося растяжения не приводило к его дальнейшему изменению. Мы предполагаем, что такой эффект связан с тем, что в результате растяжения происходит S-нитрозилирование белка канала. Возможность уменьшения  $I_{Ca,L}$  при S-нитрозилировании была показана и в работах других авторов [1]. Это же подтверждает введение аскорбиновой кислоты – вещества, которое устраняет S-нитрозилирование, приводило к увеличению  $I_{Ca,L}$ , когда он был предварительно уменьшен растяжением. Введение аскорбиновой кислоты вело к увеличению  $I_{Ca,L}$  выше контрольных значений в случае, когда он был предварительно уменьшен введением SNAP. Введение в перфузионный раствор NEM – вещества, которое, алкилируя S-группы, препятствует их нитрозилированию, на фоне растянутой клетки не приводило к изменениям  $I_{Ca,L}$ , а дальнейшее введение SNAP вело к резкому увеличению  $I_{Ca,L}$ . Это позволяет предположить, что если S-нитрозилирование невозможно, увеличение  $I_{Ca,L}$  происходит из-за активации sGC-cGMP-PKG-пути.

Таким образом, при анализе РНК-ридов было показано, что Cav1.2 представлены наибольшим количеством ридов, и являются основными каналами, вносящими вклад в формирование  $I_{Ca,L}$ . Регуляция LTCC без растяжения и при растяжении клетки, связана с оксидом азота (NO). При этом, в интактной клетке при базальном уровне NO она осуществляется, преимущественно, за счет NO-sGC-cGMP-пути, а при растяжении, прежде всего, за счет S-нитрозилирования белка каналов. Судя по всему, влияние на LTCC каждого конкретного пути зависит, во-первых, от взаимодействия между этими путями, во-вторых, от текущего физиологического состояния клетки.

1. Gonzalez D.R., Treuer A., Sun Q.A., Stamler J.S., Hare J.M. // Journal of cardiovascular pharmacology. 2009;54(3):188-195.
2. Kamkin A.G., Kamkina O.V., Kazansky V.E., et al. // Biology Direct. 2023; 18(1): 70, 1-23.
3. Kamkin A.G., Kamkina O.V., Shim A.L., et al. // Physiological Reports. 2022; 10(7): e15246, 1-49.

## **ПРОНЕЙРОТРОФИН BDNF НЕГАТИВНО ВЛИЯЕТ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ**

Богачева П.О., Потапова Д.А.

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

Семейство нейротрофинов, включающее нейротрофический фактор мозга (BDNF), имеет широкий спектр важных функций в развивающихся и взрослых нервно-мышечных контактах, включая созревание и пластичность синапсов, выживание пресинаптических окончаний аксонов и поддержание мышечной функции. Первоначально синтезируемый предшественник, пронеуротрофин или proBDNF, расщепляется с высвобождением зрелого BDNF и продомена. Все эти молекулы могут воздействовать на три типа рецепторов: тирозинкиназные TrkB, паннейротрофиновые p75NTR и белок семейства VPS10 сортилин. Связываясь с различными рецепторами, зрелый BDNF и proBDNF обычно проявляют диаметрально противоположные эффекты [3]. Такая функциональная сегрегация особенно ярко проявляется в контексте формирования нервно-мышечных синапсов (НМС), когда НМС претерпевают переход от множественной к одиночной иннервации. Считается, что основными регуляторами такого перехода являются BDNF и proBDNF, которые действуют как сигналы «вознаграждения и наказания». Синаптическая активность запускает протеолитическое преобразование proBDNF в BDNF, который обеспечивает выживание и стабилизацию синапса, действуя через рецепторы TrkB, тогда как менее активные нервные окончания будут ослабевать и ретрактироваться из-за ингибирующих каскадов, запускаемых proBDNF через рецепторы p75 [2].

Недавно мы показали, что и в контексте регуляции непосредственно синаптической передачи в формирующихся в ходе регенерации нерва НМС proBDNF является важным сигнальным агентом [1]. proBDNF снижал частоту спонтанной синаптической передачи, что является эффективным фактором разобщения коммуникации между нервным окончанием и мышцей. Это снижение частоты спонтанной секреции ацетилхолина (АХ) было вызвано активацией каналов GIRK, но не было опосредовано рецепторами p75, а вместо этого зависело от активации рецепторов TrkB, основных рецепторов для зрелых нейротрофинов. В связи с этим, мы далее исследовали рецепторные механизмы и сигнальные каскады, запускаемые proBDNF в регенерирующих НМС.

Регистрировали спонтанные и вызванные стимуляцией нерва потенциалы концевой пластинки (МПКП и ПКП) при помощи стандартной микроэлектродной техники отведения в контроле и на фоне добавления различных фармакологических агентов. Для запуска процессов регенерации синапсов предварительно проводили передавливание малоберцового нерва.

В регенерирующих НМС устойчивая к расщеплению форма proBDNF имитировала ранее продемонстрированный эффект расщепляемого пронеуротрофина – снижение частоты МПКП, подтверждая обусловленность эффекта именно proBDNF, а не продуктами его гидролиза. Модулятор рецепторов p75 LM11A-31 и ингибитор сортилина AF38469 не смогли предотвратить этот негативный эффект proBDNF. Кроме того, в присутствии AF38469 proBDNF начал подавлять еще и вызванный выброс АХ, снижая амплитуду и квантовый состав ПКП. Этот негативный эффект был предотвращен ингибитором рецепторов TrkB циклотраксином В.

Наши данные подчеркивают неканоническое действие пронеуротрофина в регенерирующих НМС через активацию TrkB и важную роль сортилина как «ограничителя», предотвращающего распространение негативного влияния proBDNF на вызванный выброс АХ. Ключевым фактором, обеспечивающим снижение амплитуды и квантового состава ПКП при ингибировании связывания proBDNF с сортилином, оказались потенциал-зависимые  $Ca^{2+}$  каналы L-типа. Блокатор этих каналов нитрендипин, предотвращал вызванное proBDNF снижение амплитуды и квантового состава ПКП, но не был способен предотвратить снижение частоты МПКП.

Неожиданно оказалось, что TrkB- и GIRK-зависимое, но сортилин-независимое снижение частоты МПКП в присутствии proBDNF не связано с одновременной эндогенной активностью M2-мускариновых рецепторов, A1-аденозиновых рецепторов, или P2Y13-рецепторов АТФ и АДФ. Это оставляет открытым вопрос о механизме активации каналов GIRK пронеуротрофином в регенерирующих НМС. Таким образом, в зависимости от участия сортилина в рецепции proBDNF, этот пронеуротрофин способен избирательно влиять на спонтанную или вызванную секрецию АХ в регенерирующих НМС через разные сигнальные механизмы, обеспечивающие пресинаптическую активацию каналов GIRK или Ca<sup>2+</sup> каналов L-типа соответственно.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 24-25-00073.*

1. Bogacheva P. O. et al. // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2022. V.16. P. 866802.
2. Je H. S. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. V.109(39). P. 15924-15929.
3. Lu B., Pang P. T., Woo N. H. // *Nature Reviews Neuroscience*. 2005. V.6(8). P. 603-614.

### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ АТРОФИИ ПОСТУРАЛЬНОЙ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ СУХОЙ ИММЕРСИИ**

Боков Р.О.<sup>1</sup>, Шарло К.А.<sup>1</sup>, Вильчинская Н.А.<sup>1</sup>, Тыганов С.А.<sup>1</sup>, Туртикова О.В.<sup>1</sup>,  
Гусев О.А.<sup>2</sup>, Томиловская Е.С.<sup>1</sup>, Шенкман Б.С.<sup>1</sup>, Орлов О.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Казанский федеральный университет, Казань

Скелетные мышцы выполняют функции передвижения в пространстве и поддержания позы, однако в последние годы становится очевидно, что их состояние влияет на все системы организма, включая эндокринную, иммунную и даже нервную. Скелетные мышцы состоят из поперечно-полосатых мышечных волокон. Основными параметрами, влияющими на размер, тип и метаболизм мышечных волокон, являются нагрузка и паттерн (режим) сокращения. Быстрые мышечные волокна наиболее чувствительны к уровню физической нагрузки, тогда как медленные – к опорной афферентации. Постуральные (позные) скелетные мышцы преимущественно состоят из волокон медленного типа, что позволяет им быть активными до 16 часов в сутки. В свою очередь, в условиях хронического устранения опоры изменяются сигнальные механизмы регуляции постуральных мышц, что ведет к негативным последствиям в их структуре и функциях, а также ухудшает метаболизм всего организма. Сухая иммерсия (СИ) – это модель хронического устранения опоры, которая позволяет создать условия сниженной механической нагрузки и ограниченной подвижности скелетных мышц, что обеспечивает минимальное влияние опорного стимула на мышечную систему. Однако до настоящего времени исследование механизмов атрофии скелетных мышц при СИ ограничивалось только краткосрочными воздействиями. Соответственно, **цель** работы – оценить молекулярные механизмы развития атрофии постуральной камбаловидной мышцы *m. soleus* человека в условиях длительной СИ.

Восемь здоровых молодых мужчин приняли участие в 21-суточной СИ. Эксперимент был одобрен Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем РАН (протокол № 483 от 03.08.2018). До и после СИ были взяты пробы ткани из постуральной камбаловидной мышцы *m. soleus*. Изменение миозинового фенотипа определили с помощью метода иммуногистохимии, изменение содержания мРНК определили с помощью методов ПЦР в реальном времени и РНК секвенирования, а изменение содержания белков определили с помощью метода иммуноблоттинга. Анализ данных выполнили с помощью статистических методов и биоинформатических подходов.

После 21-суточной СИ площадь поперечного сечения медленных волокон уменьшилась на 23%, а быстрых – на 13%. Доля медленных волокон уменьшилась на 9%, а быстрых, наоборот, увеличилась на 6%. Содержание мРНК медленных тяжелых цепей миозина типа I уменьшилось в 2 раза, а для быстрых тяжелых цепей миозина типов IIА и IID/X, наоборот, увеличилось в 3 и 20 раз, соответственно. Метод РНК секвенирования выявил, что 642 гена уменьшили свою экспрессию в результате воздействия, тогда как только 309, наоборот, увеличили. Содержание 28S и 18S рРНК (маркеры емкости трансляции) и экспрессия генов, ассоциированных с биогенезом рибосом, уменьшились в результате СИ. Содержание белков p-4E-BP1 и p-S6 (мишени главного регулятора синтеза белков mTOR и маркеры эффективности трансляции) также уменьшилось в результате СИ. Следует отметить, что не было показано изменение экспрессии генов, вовлеченных в сигнальный путь mTOR, так как ключевую роль в нем играют именно посттрансляционные модификации. Также в результате СИ не было выявлено изменения экспрессии генов, вовлеченных в процессы деградации белков (убиквитин-протеасомная система, кальпаины, аутофагально-лизосомальная система). Содержание белка TOM20 (маркер плотности митохондрий) уменьшилось в 2 раза. Важно отметить, что основная часть из 642 генов с уменьшенной после СИ экспрессией вовлечена в такие биологические процессы, как организация митохондрий и генерация энергии в них.

Таким образом, сочетанное применение методов по оценке изменения экспрессии генов и посттрансляционных модификаций белков позволило впервые сформировать полную картину изменения сигнальных путей в постуральной камбаловидной мышце *m. soleus* человека при длительной СИ. При данном воздействии была показана комплексная перестройка сигнальных путей, которая выражается в развитии атрофии мышечных волокон и сопровождается сдвигом соотношения изоформ тяжелых цепей миозинов в быструю сторону, уменьшением параметров емкости и эффективности синтеза белков, уменьшением плотности митохондрий и экспрессии генов, кодирующих белки митохондрий, но без изменения экспрессии генов, вовлеченных в процессы деградации белков.

*Работа выполнена по госзаданию ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем РАН (номер FMFR–2024–0032).*

## **ВЛИЯНИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ОБРАЗОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ В ОБЛАСТИ ИМПЛАНТАЦИИ В БЕДРЕННУЮ КОСТЬ ПЬЕЗОАКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОФОРМОВАННЫХ СКАФФОЛДОВ ИЗ КОМПОЗИТОВ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА И ОКСИДА ГРАФЕНА**

Воинова В.В.<sup>1</sup>, Волков А.В.<sup>3,4</sup>, Сурменев Р.А.<sup>2</sup>, Сурменева М.А.<sup>2</sup>, Бонарцев А.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,  
Биологический факультет, Москва

<sup>2</sup>Томский политехнический университет, Томск

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва,

<sup>4</sup>НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ

"Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского", Москва

Создание магнитоактивных скаффолдов для стимуляции регенерации костной ткани является перспективным направлением в физиологии и медицине. В этой работе было проведено исследование влияния неинвазивной стимуляции внешним магнитным полем как адаптивного механизма после стресса, вызванного повреждением костной ткани. В качестве экспериментальной модели была использована имплантация пьезоактивных нановолокнистых скаффолдов из композитов биodeградируемого и биосовместимого полимера, поли-3-оксибутирата (ПОБ), с наночастицами магнетита (ПОБ/М) и их комплекса с оксидом графена (ПОБ/М-ОГ) на 1 месяц при некритическом дефекте бедренной кости.

ПОБ был получен методом контролируемого биосинтеза, композитные скаффолды на его основе были изготовлены методом электроформования. Ранее было показано, что композитные скаффолды обладают магнитными и пьезоэлектрическими свойствами [1,2]. Была также изготовлена установка по неинвазивному (при свободном передвижении животных по клетке) воздействию на лабораторных крыс ультранизкочастотного магнитного поля (МП) со средней частотой 0,04 Гц и индукцией 200 мТл. Крысам всех исследуемых групп (ПОБ, ПОБ/М, ПОБ/М-ОГ, а также контрольным крысам без имплантации скаффолда) было проведено экспериментальное хирургическое моделирование некротического дефекта (диаметром 1,5 мм) бедренной кости, после чего через дефект в полость бедренной кости были имплантированы скаффолды (кроме контрольной группы). После заживления через 7 сут. операционных швов каждую группу разделяли на две: экспериментальную (под воздействием МП в изготовленной нами установке и контрольную (без воздействия МП). Через 28 дней после имплантации крыс выводили из эксперимента и проводили гистологическое исследование области костного дефекта и имплантации скаффолдов с помощью специальной методики приготовления гистологических срезов костной ткани. Полученные гистологические срезы окрашивали по 32 Маллори с помощью анилинового синего, кислого фуксина и оранжевого G. Изображения полученных срезов фиксировали с помощью гистосканера Pannogamic 250.

При имплантации скаффолдов из ПОБ происходит активная инфильтрация волокнистого материала клетками костного мозга и резорбция полимера в обеих группах. Образование ретикулофиброзной ткани и костных трабекул идет в основном в толще скаффолда. При имплантации скаффолдов из композита ПОБ/М происходит активная инфильтрация и резорбция полимера, а также идет образование в толще скаффолда ретикулофиброзной ткани и костных трабекул только в группе без магнитного поля. В группе с воздействием МП остеогенез наблюдается в основном на поверхности скаффолда, резорбция материала минимальная. В образцах со скаффолдами из композита ПОБ/М-ОГ как под воздействием МП, так и без него остеогенез наблюдается в основном на поверхности скаффолда. При морфометрической оценке относительного объема костной ткани (BV/TV) было выявлено, что имплантация скаффолдов на основе ПОБ сама по себе индуцировала в небольшой степени, но статистически значимо остеогенез. Добавление в состав полимерного (на основе ПОБ) композита М или его комплекса М-ОГ привело к увеличению объема кости (BV/TV) по сравнению с группой ПОБ. При использовании скаффолда на основе ПОБ при воздействии магнитного поля не было выявлено существенной разницы в относительном объеме новообразованной костной ткани:  $BV/TV$  (ПОБ) = 6,5% и  $BV/TV$  (РНВ+МП) = 6,6%. Тогда как для крыс с имплантированными скаффолдами ПОБ/М и ПОБ/М-ОГ, подвергшихся воздействию МП, было показано резкое увеличение значений  $BV/TV$  на 53% и 153% по сравнению с животными с имплантированными скаффолдами тех же типов, но не стимулированных магнитным полем. Эти результаты могут указывать на магнитомеханическую и магнитоэлектрическую стимуляцию образования и восстановления костной ткани.

Таким образом, разработанные нами пьезоактивные скаффолды открывают возможность разработки как новых исследовательских методик для изучения адаптивного воздействия магнитного поля при стрессе, вызванном повреждением костной ткани, так и создание имплантов для внешне управляемой с помощью магнитного поля стимуляции регенерации костной ткани для ортопедии и челюстно-лицевой хирургии.

1. Voinova V.V. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 25. N. 1. P. 208.
2. Pryadko A.S. et al. // *ACS Appl. Bio Mater.* 2022. V. 5. N. 8. P. 3999–4019.
3. Shlapakova L.E. et al. // *ACS Appl. Bio Mater.* 2024 (в печати)

# БАТАРЕЯ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ТЕСТОВ ДЛЯ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ПРОКОГНИТИВНЫХ НЕЙРОЛЕПТИКОВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Бондаренко Н.А.

*ООО «НПК Открытая наука», Москва*

Одним из основных симптомов шизофрении является нарушение когнитивных функций. Отсутствие клинически эффективных прокогнитивных нейролептиков делает невозможным поиск новых соединений по принципу «я такой же». Поэтому для разработки новых молекул актуальным является использование тестов для выявления и изучения механизма действия прокогнитивных нейролептиков в доклинических исследованиях.

Один из таких тестов был разработан нами ранее [2]. В нем для индукции модельной психотоподобной патологии у крыс использовали коммерческий препарат л-ДОФА МАДОПАР-125 (МАДО), увеличивающий пресинаптические уровни дофамина. Когнитивный дефицит у крыс, получивших МАДО, обнаруживали в поведенческом тесте «экстраполяционное избавление» (ТЭИ). МАДО нарушал способность к подныриванию у наивных крыс при первой экспозиции к ТЭИ (ТЭИ1) [4], а также и у минимально обученных животных при втором помещении в ТЭИ (ТЭИ2). Нейролептики, лишенные прокогнитивных свойств (галоперидол, трифлуоперазин), предупреждали нарушение подныривания и в ТЭИ2, и в ТЭИ1 [2], [4]. Сульпирид, тиоприд, и дилепт, положительно влияющие на когнитивные функции больных шизофренией, предупреждали развитие данной патологии только в ТЭИ2 [2], [5]. Настоящая работа посвящена изучению причин выявленных различий эффектов нейролептиков с разным типом действия. В ней мы опирались на современную влиятельную гипотезу, предполагающую, что обучение сопровождается субъективным «упрощением» среды. Как следствие, обученный субъект игнорирует признаки среды, не предсказывающие получение подкрепления [1].

В соответствие с данной гипотезой можно предположить, что обучение крыс подныриванию в ТЭИ будет способствовать снижению их внимания к стимулам-индукторам конкурирующего с подныриванием прыжкового поведения. Дофамин зависимые механизмы подныривания у таких животных будут сходными с механизмами подныривания у крыс в среде, конструктивно лишенной стимула-индуктора прыжкового поведения.

Проведенные эксперименты показали следующее.

Прыжковое поведение в ТЭИ1 определяется высотой цилиндра. Если животные могут дотянуться и ощупать вибриссами верхний край цилиндра, 100% крыс отказываются от подныривания и вспрыгивают на этот край.

Обучение крыс подныриванию в ТЭИ сопровождается достоверным ослаблением прыжкового поведения. Это можно расценивать как симптом снижения внимания животных к высоте цилиндра вследствие «субъективного» упрощения среды.

В «конструктивно» простой среде цилиндр заменен на перевернутый вверх дном «стакан» (тест ТЭИ1-Ст). Крысы, накрытые «стаканом», обнаруживают вибриссами доньшко стакана у себя над головой и сразу совершают подныривание без попыток выпрыгивания. Такое поведения сходно с поведением обученных крыс в ТЭИ [3].

Избирательный D2-блокатор сульпирид (16 мг/кг, в.б.) предупреждает нарушение подныривания у крыс, получивших МАДО, только в «субъективно» и «конструктивно» простых средах. Он не влияет на поведение животных в «сложной» среде. Эффект избирательного D2 блокатора галоперидола (0.1 мг/кг, в.б) проявляется во всех типах сред.

Т.о., когнитивные факторы («субъективное» и «конструктивное» упрощение среды) модулировали только эффект сульпирида, но не галоперидола. Это согласуется с данными о различии нейрональных и структурных мишеней изученных нейролептиков. Полученные результаты демонстрируют возможность использования батареи тестов (ТЭИ1, ТЭИ2, ТЭИ1-Ст) в доклинических исследованиях для поиска веществ, предположительно способных

улучшать когнитивные функции больных шизофренией, а также изучения механизмов их действия.

1. Niv Y. // Nat Neurosci. 2019 Oct; 22(10): 1544-1553.
2. Бондаренко Н.А. // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1990. № 11. С. 506–509.
3. Бондаренко Н.А. Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы. Под ред. А.Н. Харитонов. М.: Институт психологии РАН, 2013; 122–30.
4. Бондаренко Н.А. // Фармакология и токсикология, 1985, 4, с. 31-34
5. Бондаренко Н.А., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Дурнев А.Д. Молекулярная медицина, 2017; (5)

## ЭЛЕКТРОМИОСТИМУЛЯЦИЯ ПРИ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ ОКАЗЫВАЕТ РАЗНОЕ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В МЫШЦАХ БЕДРА И ГОЛЕНИ

Борзых А.А.<sup>1</sup>, Жедяев Р.Ю.<sup>1</sup>, Пономарев И.И.<sup>1</sup>, Вепхвадзе Т.Ф.<sup>1</sup>, Згода В.Г.<sup>2</sup>, Орлова М.А.<sup>1</sup>, Вавилов Н.Е.<sup>2</sup>, Леднев Е.М.<sup>1</sup>, Махновский П.А.<sup>1</sup>, Рукавишников И.В.<sup>1</sup>, Орлов О.И.<sup>1</sup>, Томиловская Е.С.<sup>1</sup>, Попов Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>НИИ Биомедицинской-химии имени В.Н. Ореховича, Москва

Гипокинезия оказывает негативное воздействие на позные мышцы туловища и ног; эти изменения особенно выражены при «сухой» иммерсии и космическом полете для мышц задней поверхности голени/камбаловидной мышцы. Низкоинтенсивная электромиостимуляция (ЭМС) является безопасной альтернативой физическим упражнениям и высокоинтенсивной ЭМС; однако ее эффективность для профилактики негативных последствий гипокинезии для мышц с различными функциональными возможностями остается не изученной.

**Цель работы** – оценить эффективность низкоинтенсивной ЭМС для предотвращения негативных эффектов недельной гипокинезии на мышцы-сгибатели голеностопного сустава/«медленную» камбаловидную мышцу (Sol) и мышцы-разгибатели коленного сустава/«смешанную» наружную головку четырехглавой мышцы бедра (VL).

Десять молодых мужчин в течение 7 суток находились в «сухой» иммерсии (СИ); другие 10 мужчин – в СИ с ежедневной ЭМС (~10% от максимального произвольного сокращения (МПС), СИ+ЭМС). До и после СИ оценивали МПС и аэробную работоспособность мышц-сгибателей голеностопного и разгибателей коленного сустава, митохондриальное дыхание в пермеабелизованных мышечных волокнах, протеомный (количественный масс-спектрометрический анализ) и транскриптомный (РНК секвенирование) профили Sol и VL.

СИ привела к сопоставимому снижению МПС и АДФ-стимулированного дыхания митохондрий (абсолютного и нормализованного на содержание митохондриальных белков) в мышцах голени и бедра; небольшое снижение аэробной работоспособности (на 3%,  $p < 0,05$ ) наблюдалось только в мышцах-разгибателях коленного сустава. Протеомный и транскриптомный профили в VL и Sol выражено различались. СИ не повлияла на относительное содержание детектированных (преимущественно высокопредставленных) белков в обеих мышцах, но вызвала в 2,5 раза большее изменение экспрессии генов в Sol (1527 мРНК), чем в VL (607 мРНК).

Применение ЭМС во время СИ предотвратило снижение МПС и небольшое снижение аэробной производительности мышц-разгибателей коленного сустава, а также снижение максимального митохондриального дыхания в мышечных волокнах (абсолютное и нормализованное на содержание митохондриальных белков) и изменения в экспрессии генов, кодирующих митохондриальные, внеклеточные матриксные и мембранные белки в VL. Напротив, для мышц-сгибателей голеностопного сустава/Sol ЭМС оказала положительное

влияние только на максимальное митохондриальное дыхание, но при этом усилила снижение МПС (до 16%,  $p < 0,05$ ). Последнее, по-видимому, связано с активацией генов, регулирующих воспалительный ответ, а именно с повышением экспрессии генов, кодирующих белки воспалительного пути NF-карра В, ряд цито/миокинов и их рецепторы.

Таким образом, было впервые исследовано *i)* влияние недельной «сухой» иммерсии на силу, аэробную работоспособность, а также экспрессию генов в мышцах ног со значительно различающимися функциональными возможностями и *ii)* эффективность низкоинтенсивной ЭМС для предотвращения негативных эффектов «сухой» иммерсии. Полученные данные открывают широкие перспективы использования низкоинтенсивной ЭМС для предотвращения негативных эффектов гипокинезии для «смешанных» мышц, в то время как для «медленных» мышц требуется оптимизация протокола стимуляции.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-298 от 18.04.2022.*

### **ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ТИАМИНА НА ПОВЕДЕНИЕ, ЭКГ И ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ОРГАНАХ КРЫСЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВРЕМЕНИ СУТОК**

Борисова Н.Р.<sup>1</sup>, Граф А.В.<sup>2</sup>, Маслова М.В.<sup>2</sup>, Соловьева О.Н.<sup>2</sup>, Алешин В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова, Москва*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва*

Тиамин является предшественником тиаминдифосфата (ТДФ) – кофермента нескольких ключевых для энергетического метаболизма ферментов, в том числе пируватдегидрогеназы (ПДГ) – основного поставщика субстрата в цикл Кребса. ТДФ также способен активировать ПДГ, ингибируя ее киназы [3]. Ранее методом масс-спектрометрии было показано, что в коре мозга крыс уровень белковой экспрессии альфа субъединицы ПДГ (ПДГА) выше в вечернее время по сравнению с утренним, а введение тиамина снижает отношение заингибированной фосфорилированием по S293 ПДГА (фосфоПДГА) к общей ПДГА [1]. **Целью** работы было охарактеризовать влияние и тканеспецифичность действия тиамина на белковую экспрессию ПДГА и фосфоПДГА в зависимости от времени суток, используя метод вестерн-блоттинга, и исследовать связь (фосфо)ПДГА с поведением и ЭКГ у крыс.

Самцам крыс Wistar однократно интраперитонеально делали инъекцию тиамина 400 мг/кг утром (n=10) или вечером (n=9), контрольным животным вводили физраствор утром (n=9) или вечером (n=10). Спустя сутки, непосредственно перед эвтаназией, определяли параметры поведения в тесте «Открытое поле» и снимали ЭКГ в бодрствующем состоянии неинвазивным методом. В гомогенатах коры головного мозга, сердца, печени, почек и семенников методом вестерн-блоттинга определяли белковую экспрессию ПДГА и фосфоПДГА. В гомогенатах коры энзиматически измеряли концентрацию ТДФ [2]. Группы сравнивали двухфакторной ANOVA (факторы времени суток и обработки тиамином), корреляции оценивали критерием Спирмена.

В коре мозга уровни ПДГА и фосфоПДГА были ниже ( $p < 0,01$ ), а концентрация ТДФ наоборот выше ( $p = 0,03$ ) в вечерних группах по сравнению с утренними. Уровень фосфоПДГ ( $p < 0,01$ ) и отношение фосфоПДГА к ПДГА ( $p = 0,05$ ) зависели от фактора обработки тиамином и были ниже в опытных группах по сравнению с контрольными. Снижаемое введением тиамина фосфорилирование ПДГА отрицательно коррелировало с двигательной и исследовательской активностью: уровень фосфоПДГА – с суммой отходов и выходов в центр ( $r = -0,42$ ,  $p < 0,01$ ) и количеством пересеченных линий ( $r = -0,32$ ,  $p = 0,05$ ), а отношение фосфоПДГА к ПДГА – с количеством стоек ( $r = -0,33$ ,  $p = 0,05$ ). Продолжительность интервалов R-R на ЭКГ ( $p = 0,01$ ) и латентного периода в тесте «Открытое поле» ( $p = 0,05$ ) была выше в опытных группах, что может свидетельствовать о снижении стресса у животных в ответ на

обработку тиамином, которое ранее было показано в другом исследовании [4]. Также введение тиамин устраняло суточное различие по количеству актов груминга, которое было выше в контроле утром по сравнению с вечером ( $p=0,02$ ).

Уровни ПДГА и фосфоПДГА коры мозга положительно коррелировали между собой, в том числе между органами, за исключением печени. Наиболее сильно коррелировали параметры ПДГ коры мозга и сердца, органов с высокими энергетическими потребностями. В отличие от коры мозга, в сердце наблюдалось взаимодействие факторов обработки тиамином и времени суток для уровня ПДГА ( $p<0,01$ ) и снижение уровня фосфоПДГА ( $p=0,01$ ) и отношения фосфоПДГА к ПДГА ( $p=0,03$ ) вечером. Стоит отметить, что в обоих органах введение тиамин усиливало суточные колебания параметров. В семенниках для всех трех параметров наблюдалось взаимодействие факторов, в почках – взаимодействие факторов для фосфоПДГА, а в печени – тенденция ( $p=0,06$ ) к повышению уровня фосфоПДГА в вечерних группах по сравнению с утренними.

Таким образом, время суток и обработка тиамином оказывают тканеспецифичные эффекты на экспрессию ПДГА и ее фосфорилирование. Показанное ранее с помощью масс-спектрометрии снижение фосфорилирования ПДГА в коре мозга в ответ на обработку тиамином было независимо подтверждено в новом животном эксперименте с использованием вестерн-блоттинга. Выявлены существенные различия (фосфо)ПДГА и в сердце. Активация ПДГ дефосфорилированием может способствовать восстановлению метаболизма глюкозы и имеет терапевтический потенциал для лечения нейродегенеративных заболеваний. Также тиамин способствует снижению стресса у животных, а его влияние на систему фосфорилирования ПДГА может быть частью механизмов, ответственных за повышение тиамином двигательной активности, показанное ранее [5].

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №23-74-10036.*

1. Aleshin V.A. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V.22. P.8006.
2. Artiukhov A.V. et al. // Biochemistry (Moscow). 2024.
3. Jonus H.C. et al. // Biomed Pharmacother. 2020. V.121. P.109648.
4. Markova N. et al. // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2017. V.75. P.148-156.
5. Saiki M. et al. // Sci Rep. 2018. V.8 (1). P.10469.

## **ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРЫС ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

Бурых Э.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург*

Функциональный смысл двигательной активности при экстремальной гипоксии является неоднозначным. С одной стороны, она противоречит наиболее эффективной в плане адаптации к гипоксии стратегии снижения энерготрат организма [1], с другой – является необходимой предпосылкой для исследовательской активности и для избегания [2] любого потенциально опасного для организма воздействия. Аспекты проблемы двигательной активности, касающиеся избегательного поведения крыс при экстремальной гипоксии, являются недостаточно изученными.

Исследование проведено на крысах-самцах Wistar ( $N=22$ , вес 250-300 г., возраст 12-14 недель). Гипоксическое воздействие создавалось при нахождении животного в прозрачном контейнере (аквариуме) размерами 35\*16\*27, объемом 15 л., путем смешивания азота, поступающего из баллона и воздуха, поступающего через не полностью герметичную крышку путем диффузии. Углекислый газ поглощался при помощи химического реагента. ХП-И ( $\text{NaCaO}_2\text{H}$ ). Концентрация кислорода оценивалась в непрерывном режиме при помощи датчика кислорода KE-25 F3 ("Figaro", Япония). Крысы были предварительно адаптированы к

пребыванию в контейнере. Сначала регистрировалась фоновая активность в условиях нормоксии в течение 10 минут, после чего следовало гипоксическое воздействие. В первые 10 мин воздействия концентрация кислорода снижалась с 21% до 4%, после чего поддерживалась на уровне 4% до конца воздействия. Воздействие прекращалось при возникновении у животного агонального дыхания типа «гэспинг». Двигательную активность (ДА) оценивали по следующим перемещениям тела в пространстве: линейные продвижения и повороты тела в горизонтальной плоскости, стойки и прыжки. Условно были выделены два вида активности: прыжки (П) и остальные виды двигательной активности ДА-П. Только прыжки приводили к некоторому приоткрыванию крышки контейнера и потенциально могли привести к уменьшению гипоксического воздействия и даже его избеганию. Для удобства анализа и представления данных у каждого животного оценивали наличие П и ДА-П и их количество для каждой минуты эксперимента. При усреднении по группе вероятность возникновения каждого из двух выделенных видов активности оценивали, как процентное отношение количества крыс, у которых такая активность в данную минуту наблюдалась, к общему количеству крыс. Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике ИЭФБ РАН (протокол заседания № 9 – 1/ 2023 от 28.09.2023).

Среднее время переносимого гипоксического воздействия по группе крыс составило  $46.3 \pm 11.6$  мин. В первые минуты гипоксического воздействия двигательная активность возрастала по сравнению с фоном в условиях нормоксии. Если в фоне вероятность возникновения ДА-П не превышала 10%, то после 5-й мин воздействия она была выше 30%, а на 9-й мин гипоксии достигала пика - 77%. После достижения максимума ДА-П снижалась до минимума на 14-й-15-й мин гипоксии, соответствующего 7%. С 17-й по 28-ю мин воздействия вероятность возникновения ДА-П находилась на уровне 20%, после чего возрастала и на 31-й мин достигала второго максимума, соответствующего 61%.

Вероятность возникновения П была близкой к 0 вплоть до 28-й мин воздействия, после чего возрастала, достигая пика на 33-й мин воздействия – 38%. По достижении пика вероятность П в последующие минуты снижалась приблизительно до 10%.

Полученные данные могут быть объяснены с учетом нескольких факторов, влияющих на двигательную активность при экстремальном воздействии: исследовательская активность, возможность краткосрочной адаптации к гипоксии и необходимость избегания гипоксии. Первый пик ДА-П связан с исследовательской активностью в ответ на изменение параметров газового состава окружающей среды. Последующий минимум ДА-П связан как с завершением исследовательской активности, так и с возможным переходом к стратегии краткосрочной адаптации к гипоксии, в которой снижение энергозатрат организма имеет ключевое значение. Тенденция к истощению компенсаторных возможностей организма по мере продолжения гипоксического воздействия организма является основой для возникновения второго пика ДА, которая включала в себя такой вид активности как прыжки, которые потенциально могли приводить к избеганию гипоксии.

*Работа проведена при поддержке ГЗ № 075-00264-24-00 на базе ЦКП ИЭФБ РАН*

1. Hochachka P., Buck L., Doll C., Land S. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1996. V.149. P. 9493-9498.
2. Cook D., Wells R., Herbert N. // J. Exp. Biol. 2011. V.214 (Pt17). P. 2927-2934.

## ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРЕДСЕРДИЙ КРЫС ПРИ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

Бутова К.А.<sup>1</sup>, Мячина Т.А.<sup>1</sup>, Симонова Р.А.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург

Оксид азота (NO) является одним из ключевых медиаторов сопряжения возбуждения с сокращением в миокарде [1]. Изменение концентрации NO регулирует сократимость предсердий и тесно связано с развитием фибрилляции предсердий (ФП), что связано с его плейотропным действием [2, 3]. Данные о влиянии уровня NO ( $[NO]_i$ ) на развитие ФП противоречивы и действие NO на механическую функцию миокарда предсердий слабо изучено. Мы исследовали прямое влияние NO на сократительную функцию кардиомиоцитов левого и правого предсердий (ЛП, ПП) при пароксизмальной ФП, используя донор оксида азота NOC-22.

Эксперименты выполнены на самцах крыс Вистар возрастом 9–10 недель в соответствии с Директивой 2010/63/EU и заключением этического комитета ИИФ УрО РАН №06/20. Пароксизмальную ФП индуцировали на 9 неделе жизни животных в/в введением раствора, содержащего 60 мкг/мл АЦХС1 и 10 мг/мл  $CaCl_2$ , в дозе 1.3 мл/кг веса тела в течение 7 дней. Изменения предсердного ритма регистрировали на ЭКГ (ECG300G-VET, Китай). В качестве контрольной группы использовали интактных крыс возрастом 10 недель.

Одиночные кардиомиоциты ЛП и ПП выделяли перфузией сердца по Лангендорфу и инъекциями в полость предсердий. Измерения длины саркомеров выполняли в режиме механически ненагруженного укорочения кардиомиоцитов на программно-аппаратном комплексе MCSYS-02 (IonOptix, США). Измерения выполняли при 30 °С и частоте электрической стимуляции 1 Гц. Анализировали следующие характеристики укорочения-расслабления саркомеров: конечно-диастолическая длина (КДДС), амплитуда укорочения, а также максимальные скорости достижения пика укорочения ( $V_{дп}$ ) и расслабления ( $V_{др}$ ). Альтернансы укорочения саркомеров анализировали как среднее от величин отклонения амплитуд укорочения саркомеров в большую и меньшую стороны относительно псевдостационарных (без видимых альтернансов) уровней при помощи ранее разработанного подхода [4].

Для оценки влияния NO на параметры укорочения-расслабления саркомеров суспензию кардиомиоцитов инкубировали с донором NO Spermine NONOate (NOC-22, Merck, США) в течение 10 минут до начала измерений. Уровень  $[NO]_i$  в исследуемых группах оценивали с помощью флюоресцентного окрашивания суспензии кардиомиоцитов DAF-FM (Merck, США) и системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии LSM 710 (Carl Zeiss, Германия).

Обнаружено, что ФП приводит к снижению  $[NO]_i$  в 39 раз в ЛП и в 26 раз в ПП. При ФП уменьшались амплитуды укорочения саркомеров и  $V_{др}$  в ЛП, а в ПП увеличились КДДС и  $V_{дп}$ . Также при ФП регистрировались альтернансы укорочения саркомеров с величиной отклонений 18% в ЛП и 8% в ПП.

Добавление NOC-22 привело к увеличению  $[NO]_i$  в кардиомиоцитах в 5 раз в ЛП и в 12 раз в ПП. Инкубация кардиомиоцитов интактных крыс с NOC-22 вызвала альтернансы укорочения саркомеров в ЛП, сопоставимые по величине отклонений с альтернансами при ФП, и ПП, с величиной отклонений в ~3 раза больше, чем при ФП, но не влияла на характеристики укорочения-расслабления саркомеров в стационарных сокращениях. Инкубация кардиомиоцитов группы ФП с NOC-22 привела к снижению амплитуды укорочения саркомеров,  $V_{др}$  и  $V_{дп}$  и 2-кратному увеличению отклонений амплитуды в альтернансе в ПП, но не повлияла на параметры сокращения саркомеров ЛП.

Таким образом, увеличение  $[NO]_i$  в кардиомиоцитах предсердий приводит к ухудшению амплитудных и временных характеристик сокращения кардиомиоцитов при ФП и

дестабилизации активности саркомеров в виде появления альтернансов как в норме, так и при ФП.

*Исследование выполнено на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН при поддержке гранта РФФИ №22-75-10134.*

1. Boycott H.E., Nguyen M., Vrellaku B. et al. // *Front. Physiol.* 2020. V.11. P.606740.
2. González D.R., Fernández I.C., Ordenes P.P. et al. // *Nitric Oxide* 2008. V.18. P.157-167.
3. Hong L., Zhang M., Ly O.T. et al. // *Stem Cell Rep.* 2021. V.16. P.1542-1554.
4. Mikhryakova P.P., Butova X.A., Myachina T.A. et al. // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2022. V.58. P.S13-S21.

## **РОЛЬ НЕЙРОНАЛЬНЫХ ОСЦИЛЛЯЦИЙ В ПРОИЗВОЛЬНОМ УПРАВЛЕНИИ ВЗГЛЯДОМ**

Васильев А.Н.<sup>1,2</sup>, Свирин Е.П.<sup>2</sup>, Маковская А.Е.<sup>1,2</sup>, Строганова Т.А.<sup>2</sup>, Шишкин С.Л.<sup>2</sup>

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

*Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва*

Движения глаз являются неотъемлемой частью зрительной системы и обычно происходят без сознательного контроля. Частота, направление саккад и длительность фиксации подстраиваются под свойства визуальной среды и запросы пространственного внимания человека. Целенаправленное и осознанное манипулирование направлением собственного взгляда используется человеком гораздо реже: например, в контексте социального взаимодействия – при избегании смотрения в глаза или при указании направления с помощью взгляда. Помимо этого, произвольный контроль взгляда сегодня активно используется для организации человеко-машинного взаимодействия, при котором продолжительные задержки взгляда служат для активного взаимодействия с элементами графического интерфейса. Несмотря на растущий интерес к разработке таких технологий как для парализованных, так и для здоровых людей, мало что известно о мозговых механизмах незрительного использования взгляда.

В этом исследовании мы провели регистрацию 306-канальной магнитоэнцефалограммы (МЭГ) у здоровых испытуемых (N = 29), которые играли в видеоигру «цветные линии», используя намеренные задержки взгляда, регистрируемые при помощи видеоокулографии. Каждый ход в игре заключался в выборе объекта (шара) путем удержания взгляда на нём в течение более 500 мс с последующим перемещением его в свободную ячейку игрового поля, выбираемую так же взглядом. По ходу игры в процессе изучения игрового поля испытуемые совершали и спонтанные задержки взгляда сопоставимой длительности. Таким образом, задачей исследования было сравнить паттерны активации, возникающие в МЭГ при спонтанных и намеренных задержках взгляда длительностью более 500 мс. Мы предположили, что одним из возможных механизмов реализации длительных намеренных остановок взгляда может быть активное торможение саккад и микросаккад, автономно генерируемых в ходе нормальных зрительных движений. В качестве маркера возбуждения/торможения мы проанализировали динамику источников осцилляторной активности на частотах 8–30 Гц, что соответствует объединённому диапазону альфа- и бета-ритмов.

Анализ выявил наличие пространственных источников со значимым увеличением осцилляторной активности (синхронизацией), расположенных билатерально в прецентральной, а также верхней и средней лобных извилинах. Данные координаты соответствуют расположению переднего (FEF) и дополнительного (SEF) глазодвигательных полей, участвующих в саккадических движениях глаз. Вейвлет-анализ сигналов из этих источников показал наличие значимой синхронизации осцилляций в альфа- и бета-диапазонах на временном интервале от -750 мс до 500 мс относительно начала фиксации взгляда с пиком

на 250 мс. Ранее синхронизацию 10-Гц компонента МЭГ в области FEF наблюдали при ожидании антисаккадических задач [2]. Потенциальная схожесть выявленной локализации с сенсомоторными мю- и бета- ритмами, характерными для произвольных движений конечностями, поставила вопрос о вероятной неспецифической их активации. Для его разрешения мы сравнили локализацию источников синхронизации при намеренных остановках взгляда с пространственными компонентами МЭГ, демонстрирующими десинхронизацию при выполнении произвольных движений рук, из отдельного эксперимента (N = 8) [1]. Сравнение показало, что источники для задержек взгляда расположены роstralнее, чем для произвольных движений руками, что свидетельствует о наличии независимого от роландического ритма осцилляторного компонента, связанного с регуляцией глазодвигательных полей. Таким образом нам впервые удалось показать, что одним из механизмов произвольного управления взглядом, заключается в торможении окуломоторных корковых центров, обеспечивающих движения глаз в условиях нормального зрения. Тогда как произвольные движения скелетной мускулатурой, напротив, сопровождаются предварительным растормаживанием сенсомоторных центров коры, о чем свидетельствует десинхронизация роландических мю- и бета-ритмов коры головного мозга.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 22-19-00528).*

1. Васильев А. Н., Крючкова А. Г., Маковская А. Е. // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2023. Т. 78, № 1. С. 2–10.
2. Hwang K., Ghuman A. S., Manoach D. S., Jones S. R., Luna B. // J Neurosci. 2014. V. 34, № 29. P. 9551-9561.

### **ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДОВ ЛЕГОЧНЫХ АРТЕРИЙ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА И В ТКАНИ ЛЕГКОГО НА ФОНЕ СИМПАТИКОТОМИИ, ВАГУСНОЙ ДЕНЕРВАЦИИ ИЛИ ПРИМЕНЕНИЯ ПИРИДОСТИГМИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ХТЭЛГ У КРЫС**

**Вахрушев Н.С.<sup>1</sup>, Карпов А.А.<sup>1</sup>, Шиленко Л.А.<sup>1</sup> Калинина О.В.<sup>1</sup>, Костарева А.А.<sup>1</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) – это патологическое состояние, характеризующееся стабильным увеличением давления в легочной артерии вследствие ее обструкции, микрососудистым поражением и практически необратимым ремоделированием ветвей легочной артерии. Для лечения пациентов с ХТЭЛГ существуют хирургические и терапевтические подходы. Однако их эффективность до сих пор остается недостаточной. Патогенез ХТЭЛГ слабо изучен, в том числе роль вегетативной нервной системы в ремоделировании сосудов легких.

**Цель работы:** исследовать влияние односторонней симпатической и парасимпатической денерваций, а также стимуляции парасимпатической нервной системы на ремоделирование ветвей легочной артерии, экспрессию генов в легких и правом желудочке при формировании ХТЭЛГ у крыс.

Моделирование ХТЭЛГ на крысах линии Wistar было проведено с помощью многократной эмболизации дистальных ветвей легочной артерии частично биодegradуемыми микросферами (МС) на основе альгината натрия диаметром 160 – 200 мкм. Протокол включал 8 введений с интервалами в 4 дня. На следующий день после последнего введения МС все животные были разделены на пять групп: 1. Здоровые животные – без моделирования патологии; 2. Группа ХТЭЛГ – крысы с ХТЭЛГ без влияния на вегетативную нервную систему; 3. Группа ХТЭЛГ + симпатикотомия (СТ) – животным с ХТЭЛГ проводилась денервация звездчатого ганглия; 4. Группа ХТЭЛГ + ваготомия (ВД) – грызунам с ХТЭЛГ выполнялась вагусная денервация; 5. Группа ХТЭЛГ + пиридостигмин

(ПРС) – крысам с ХТЭЛГ перорально вводился пиридостигмин. Через 6 недель после последнего введения микросфер производилось гистологическое исследование легких и экспрессии генов Vim, MMP8, MMP2, TIMP1, TGFβ в миокарде правого желудочка и в цельном материале легкого методом ОТ-кПЦР.

В ходе гистологического исследования было проанализировано 439 сосудов, относящихся к ветвям легочной артерии. Индекс гипертрофии сосудистой стенки в группе ХТЭЛГ был значимо выше, чем в группе здоровых животных ( $69,3 \pm 14,9$  и  $51,9 \pm 13,5$ , соответственно). При этом ХТЭЛГ+СТ ( $47,5 \pm 17,5$ ) и ХТЭЛГ+ПРС ( $55,6 \pm 19,2$ ) значимо снижали выраженность ремоделирования сосудистой стенки по сравнению с крысами из группы ХТЭЛГ. Вагусная денервация ( $60,2 \pm 19,9$ ) не оказала значимого влияния на индекс гипертрофии сосудистой стенки. По данным ОТ-кПЦР в правом желудочке экспрессия Vim была статистически значимо выше в группе ХТЭЛГ+ПРС по сравнению с группой ХТЭЛГ+ВД, однако, другие гены не показали достоверных различий между экспериментальными группами. В легких экспрессия MMP2 в группе здоровых животных значимо снижена относительно групп ХТЭЛГ+СТ и ХТЭЛГ+ПРС, а в группе ХТЭЛГ+СТ значимо повышена относительно групп ХТЭЛГ и ХТЭЛГ+ПРС. Экспрессия гена TIMP1 в группе ХТЭЛГ значимо повышена относительно групп ХТЭЛГ+СТ и здоровые животные. Экспрессия гена TGFβ в группах ХТЭЛГ и ХТЭЛГ+СТ значимо повышена относительно групп здоровые животные и ХТЭЛГ+ВД.

Полученные результаты демонстрируют, что хирургическая симпатическая денервация, а также фармакологически опосредованное увеличение холинергической передачи приводили к снижению ремоделирования ветвей легочных артерий в раннем периоде после рецидивирующей тромбоземболии легочной артерии и профилактировали развитие ХТЭЛГ в эксперименте. Данное наблюдение согласуется с результатами применения пиридостигмина [1] и денервации симпатической системы [2] при других формах легочной гипертензии. Экспрессия Vim в миокарде восстанавливается до контрольных значений в группе ХТЭЛГ+ПРС, что свидетельствует о тесной связи между экспрессией Vim и парасимпатическим тонусом. Принимая во внимание связь между соотношением активности MMP2/TIMP1 и фиброзным ремоделированием при ХТЭЛГ, можно предположить, что измененная экспрессия этих генов фактически является индикатором положительного эффекта симпатической денервации [3].

Проведенное нами исследование дополняет патогенез ХТЭЛГ, благодаря чему возможно определить новые терапевтические мишени для профилактики и лечения данной патологии.

1. da Silva Gonçalves Bós, Denielli. et al. // Circulation. 2018. V.137. P.910-924.
2. Davies M.G., Miserlis D., Hart J.P. // Front Cardiovasc Med. 2022. V.9. P.972256.
3. Pang W., Zhang Z., Zhang Y. // J Thromb Thrombolysis. 2021. V.52. P.48-58

## **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО КОРЕ МОЗГА СООБЩЕСТВА КОМПАКТНЫХ НЕЙРОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩЕГО ВЫПОЛНЕНИЕ КОГНИТИВНОЙ ЗАДАЧИ.**

**Введенский В.Л.<sup>1</sup>, Верхлютов В.М.<sup>2</sup>, Гуртовой К.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Национальный Исследовательский Центр Курчатовский Институт, Москва.*

<sup>2</sup>*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва.*

Исследования когнитивных процессов, особенно быстропротекающих, требует подходов, отличных от техники вызванных потенциалов или анализа ритмики мозга. Нужно просматривать короткие участки энцефалограммы, длящиеся долю секунды, в которые укладывается процесс распознавания слова. Особые преимущества дает применение магнитометра типа Electa Neugomag с сенсорами чувствительными к направлению локального градиента магнитного поля. Две сотни сенсоров позволяют выделить из общей активности

мозга 20-30 разных, одновременно протекающих, процессов. Пространственная избирательность сенсоров такова, что для каждого процесса можно указать место в коре, которое генерирует измеряемый ток. Отдельному событию соответствует свой временной ход сигнала с частой резкой сменой периода, амплитуды и формы последовательных колебаний. Меняется и длина серии одинаковых колебаний. За время распознавания слова может пройти лишь две-три волны, обычно больше. Такой отрезок энцефалограммы во многих случаях резко отличается по виду от предыдущего и следующего за ним участков, и может быть представлен как отдельный колебательный эпизод. Эти события определены как квази-стационарные сегменты в работе [1]. При анализе каждого отдельного распознавания удается выделить более 20 групп сенсоров, принимающих сигнал, каждый от своего компактного источника тока, расположенного в одной из складок коры. Источники привязаны к берегам борозд, так, как только токи направленные параллельно поверхности черепа генерируют магнитные поля, которые можно измерить вне головы. Электрическая активность нейронов на внешней поверхности полушарий измеримых магнитных сигналов не дает. Это важное отличие МЭГ от ЭЭГ. Оно позволяет представить магнитноэнцефалограмму, как сумму активности десятков отличимых друг от друга нейронных популяций, рассеянных по обоим полушариям. Эти группы нейронов, занимающие каждая примерно по квадратному сантиметру поверхности коры, образуют строгую иерархию, в соответствии с частотой реагирования на сложный внешний стимул. Четыре первые реагируют на каждое второе прозвучавшее слово, следующие 15 – на каждое третье, еще 30 - на каждое четвертое. Все это сообщество уверенно реагирует на каждое поступающее слово и «принимает решение» о том, какое слово прозвучало. Два десятка нейронных популяций синхронно заканчивают свои колебательные эпизоды в момент нажатия кнопки испытуемым. Этим подтверждается распознавание слова. Многоканальный магнитометр позволяет уверенно указать участок конкретной складки коры, в которой расположена каждая из активных групп нейронов. Извилистость борозд очень способствует аккуратности локализации источника. Поскольку анализируются самые сильные сигналы, размер активной поверхности должен составлять около сантиметра. Как правило, в поле отведения двух-четырех сенсоров, регистрирующих эпизод, можно обнаружить только один участок борозды, берег которой точно ориентирован перпендикулярно направлению принимаемого тока. Здесь и происходят колебания, увязанные с когнитивным процессом. Источники рассеяны по многим бороздам больших полушарий, а наиболее часто реагирующие, находятся в теменно-затылочной области. Это согласуется с результатами исследования фМРТ [2] о распределении представлений слов в коре. Техническое описание наших экспериментов приведено в работах [3, 4].

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 23-78-00011.*

1. Каплан А.Я. Успехи физиологических наук 1998, 29, 3, 35. Нестационарность ЭЭГ: методологический и экспериментальный анализ.
2. Huth et al // Nature 2016. V.532, P.453-458.
3. Vvedensky V., Verkhlyutov V., Gurtovoy K. Springer, Cham. 2023. V. 1120.
4. Vvedensky V, Verkhlyutov V, Gurtovoy K. Springer, Cham. 2024. V. 1130. P.956-961.

## **ТРАНСКРИПЦИОННОЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

Велегжанинов И.О., Белых Е.С., Рысова Е.Е., Рыбак А.В., Тавлеева М.М., Черных А.А.  
*Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар*

Изучение механизмов и потенциала генетической и эпигенетической регуляции клеточной стрессоустойчивости необходимо как с фундаментальной, так и с прикладной точки зрения. Окислительный стресс является одним из основных видов клеточного стресса,

и несмотря на то, что молекулярные механизмы защиты от повреждающего действия активных форм кислорода установлены, мы не обладаем знаниями, достаточными для регулирования устойчивости клеток к окислительному стрессу эндогенной и экзогенной природы. Очевидным способом регуляции представляется изменение экспрессии генов, кодирующих основные белки, участвующие в элиминации свободных радикалов, или продуктов окислительного повреждения жизненно важных макромолекул. В литературе имеется множество исследований, демонстрирующих эффекты повышенной или пониженной экспрессии таких генов на устойчивость клеток и организмов к различным видам окислительного стресса. Однако, ввиду существовавших ранее технических ограничений, почти не изучено влияние изменений транскрипции генов в функционально обоснованных комбинациях. При этом поддержание окислительно-восстановительного баланса в клетках осуществляется за счет слаженной работы одновременно функционирующих нескольких антиоксидантных ферментов в рамках одной цепи реакций, или нескольких субъединиц белка в составе единого комплекса [1]. Благодаря появлению технологии транскрипционного программирования CRISPRa мы можем сверхэкспрессировать сразу несколько генов из собственного генома клетки, усиливая экспрессию всех сплайс-вариантов. В этом контексте мы ставим перед собой **цель** выявления потенциально эффективных комбинаций сверхэкспрессии генов антиоксидантных белков и оценки влияния такой сверхэкспрессии на устойчивость клеток человека к окислительному стрессу и ионизирующему излучению в эксперименте *in vitro*.

На теоретическом этапе работы мы осуществили систематизацию всей доступной литературы об эффектах сверхэкспрессии генов антиоксидантной защиты. На основе 166 исследований, в которых изучалась устойчивость клеток и/или организмов к окислительному или генотоксическому стрессу и 130 исследований, в которых оценивалось влияние сверхэкспрессии антиоксидантных генов на инициацию или развитие малигнизации, нами было выявлено, что гены *SOD3* и *GPX3*, кодирующие секретируемые антиоксидантные белки, являются наиболее перспективными с точки зрения эффективности и безопасности мишенями для сверхэкспрессии. При этом эффекты одновременной сверхэкспрессии данных генов ранее изучены не были [2].

В экспериментальной части работы показано, что сильная (от десятков до тысяч раз выше базального уровня) одновременная сверхэкспрессия генов *SOD3* и *GPX3* с помощью технологии CRISPRa в клетках HEK293T и HeLa приводит к повышению устойчивости культур к ионизирующему излучению и параквату. При этом не происходит изменений скорости пролиферации и соответствующих изменений в распределении клеток по фазам клеточного цикла. В клетках HEK293T также не обнаружено изменений в скорости миграции клеток по ростовой поверхности, а в клетках HeLa этот показатель был статистически значимо ниже при сверхэкспрессии *GPX3* или одновременно *SOD3+GPX3*.

В совокупности результаты теоретической и экспериментальной работы свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения одновременной сверхэкспрессии *SOD3* и *GPX3* в качестве потенциального подхода для управления устойчивости клеток к окислительному стрессу в очагах паталогического процесса *in vivo*.

1. He L., He T., Farrar S., et al. // Cellular Physiology and Biochemistry. 2017. V.44. P.532-553.
2. Tavleeva M.M., Belykh E.S., Rybak A.V. et al. // Antioxidants. 2022. V.11. N.12. P.2316.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРЕДЫ КУЛЬТИВАЦИИ

Войтенко Д.А.<sup>1</sup>, Бельчиков В.<sup>2</sup>, Ивановская Е.В.<sup>3</sup>, Свешникова А.Н.<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup>НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии

им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия

<sup>32</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

Процесс вхождения дермального фибробласта человека в секреторный фенотип, ассоциированный со старением (SASP) [1] предполагает полный арест клеточного цикла, что в свою очередь приводит к остановке продуцирования клеткой важнейших компонентов межклеточного матрикса, таких как гиалуроновая кислота, коллаген и прочее. Помимо этого, клетка также не может ни делиться, ни уйти в апоптоз и выбрасывает сложную смесь противовоспалительных факторов, которые способны увести другие клетки данной культуры в SASP. [2] Однако существуют исследования, демонстрирующие тот факт, что арест клеточного цикла дермальных фибробластов человека может быть нарушен, и клетка будет входить в состояние временной индукции клеточного цикла, например, в процессе заживления ран.

Помимо физиологических процессов временную индукцию клеточного цикла может вызвать смена факторов роста, использованных во время культивации клеточной культуры. В современных исследованиях по регенеративной медицине использование таких факторов роста, как фетальная бычья сыворотка (ФТС) уже не считается оптимальным вариантом, так как при внесении культуры, выращенной с использованием ФТС в организме человека, могут возникать аллергические реакции и существует риск внесения в организм вирусов прионов и зоонозов. В качестве альтернативы могут выступать лизаты тромбоцитов (ЛТ) человека, содержащие ряд биологически активных веществ, позиционируются как возможная замена ФТС при культивировании клеток, предназначенных для клеточной терапии и регенеративной медицины. Уровни тромбоцитарного фактора роста (PDGF AA, AB), трансформирующего фактора роста- $\alpha 1$  и сосудистого эндотелиального фактора роста в ЛТ в 10-50 раз выше, чем в ЭТС; PDGF BB в ЛТ не выявлен, а концентрации инсулиноподобного фактора роста-1 в ЛТ и ЭТС сходны. ЛТ поддерживает *in vitro* пролиферацию иммортализованных фибробластов кожи человека (ФЧ). Таким образом, можно прийти к выводу о том, что ЛТ могут не только стать хорошей заменой ФТС, но и индуцировать клеточный цикл у клеток с SASP.

**Целью** настоящей работы является экспериментальное и теоретическое изучение процессов старения дермальных фибробластов человека в зависимости от среды культивации, содержащей различные факторы роста. Лизаты тромбоцитов (ЛТ) приготавливались из стандартных тромбоконцентратов человека, антикоагулированных АСД, методом 5-ти кратной заморозки-разморозки. В ходе проведения экспериментальной части работы культивирование фибробластов проводилось стандартными методами в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> и 37°C. Были поставлены эксперименты по оценке пролиферативной активности дермальных фибробластов человека методами МТТ-теста, оценка содержания в культуре – коллагена путем вертикального ПААГ-электрофореза, проведены исследования по определению среднего возраста клеточной культуры методом окрашивания по Гимзе-Романовскому.

В результате проведения экспериментов было получено, что дермальные фибробласты увеличивают скорость пролиферации при культивации с ЛТ, однако некоторые пассажи подверглись мутациям в результате культивации с ЛТ и приобрели скорость пролиферации близкую к клеточным линиям рака молочной железы и шейки матки человека. Также пассажи «стареющих» фибробластов переходили в состояние высокой скорости пролиферации в результате смены факторов роста, это приводило к более быстрому возвращению культуры в SASP. Отличия дермальных фибробластов, выращенных на разных факторах роста, оценивались также путем анализа снимков стекол, окрашенных по Гимзе-Романовскому. При

культивации с ЛТ фибробласты удлинялись и увеличивались в размере. Таким образом, в ходе проведения экспериментальной части исследования можно сделать вывод о том, что дермальные фибробласты человека при культивации с ЛТ способны резко увеличивать скорость пролиферации и выходить из состояния SASP, однако затем количество вернувшихся в фенотип SASP клеток увеличивается. То есть применение ЛТ в качестве факторов роста не является оптимальным решением для замедления процесса перехода клетки в фенотип SASP.

*Работа поддержана грантом РФФ 23-45-10039.*

1. Nicolás Herranz AND Jesús Gil // The Journal of Clinical Investigation, 2018, 128, 1238-1246
2. Muñoz-Espín, D., Serrano, M. // Nat Rev Mol Cell Biol 15, 482–496 (2014).

## **ПРОДОМЕН BDNF ТОРМОЗИТ СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ В ЗРЕЛЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ ЗА СЧЕТ АКТИВАЦИИ ФОСФАТАЗЫ PTEN**

Молчанова А.И., Абрарова Г.Ф., Шепелёв Е.И., Гайдуков А.Е.

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

Регуляция нейрогенеза, созревание синапсов и модулирование синаптической передачи в центральных и периферических синапсах – давно известные «классические» функции нейротрофина мозга (BDNF). BDNF синтезируется в клетках в виде пронейротрофина (проBDNF), который внутри- или внеклеточно протеолизуется, в результате чего образуются зрелый BDNF и продомен. Трактовка синаптических модуляторных воздействий эндогенного BDNF *in vivo* требует учета возможного одновременного действия побочного продукта его созревания из проBDNF – продомена. Последний в синапсах ЦНС регулирует развитие определенных форм долговременной синаптической пластичности, а его регуляторное влияние на нервно-мышечную передачу только начинает изучаться.

С помощью микроэлектродной техники регистрировали в зрелых моторных синапсах диафрагмы мышцы спонтанные (миниатюрные) и вызванные стимуляцией моторных аксонов многоквантовые потенциалы концевой пластинки - МПКП и ПКП, соответственно.

BDNF потенцирует нервно-мышечную передачу преимущественно за счет увеличения размера квантов ацетилхолина (АХ). Продомен BDNF (1 нМ) в моторных синапсах выступает своеобразным антиподом зрелого нейротрофина. Он оказывает комплексное ингибирующее действие на квантовую секрецию АХ – быстро снижает амплитуду и частоту МПКП, а также амплитуду и квантовый состав ПКП по всему ходу коротких ритмических залпов (50 Гц, 1 с).

Анализ механизма тормозного действия продомена BDNF показал, что оно стартует за счет активации продоменом рецепторов p75 (но не TrkB), и требует обязательного участия сортилина. Это запускает сигнальный путь с участием Rho-GDI, малой ГТФазы RhoA и Rho-киназы (ROCK) – фармакологическое ингибирование каждого из участников сигнального пути полностью предотвращает развитие негативного эффекта продомена BDNF. Угнетающее действие продомена BDNF на частоту МПКП и квантовый состав ПКП потребовало поиска финальных мишеней индуцированного продоменом сигналинга среди синаптических калиевых каналов. Оказалось, что в реализации тормозного эффекта продомена BDNF принимают участия сразу два типа калиевых каналов -G-белок-управляемые калиевые каналы входящего выпрямления (GIRK) и кальций-активируемые калиевые каналы малой проводимости (SK). Блокирование GIRK тертиапином-Q полностью устраняло негативное действие продомена BDNF на квантовую секрецию АХ, а блокирование SK апамином или UCL1684 предотвращало снижение частоты МПКП и квантового состава ПКП, при этом продомен BDNF сохранил способность снижать амплитуду постсинаптических потенциалов.

Дуальная природа активации GIRK ( $\beta\gamma$ -субъединицами G-белка и фосфолипидами  $PIP_2$ ) потребовала выявления синаптических метаболитных рецепторов, обеспечивающих

активацию GIRK под действием продомена BDNF. Оказалось, что стимулирование GIRK требует эндогенной активности паннексинов 1 в качестве дополнительного источника синаптических пуринов, и A<sub>1</sub>-рецепторов аденозина, но не мускариновых M<sub>1</sub>-рецепторов АХ или пуриновых P<sub>2</sub>Y<sub>13</sub>-рецепторов, при этом все три типа метаботропных рецепторов принимают участие в препятствовании вовлечения в регуляцию нервно-мышечной передачи потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа. Продомен BDNF, запуская сигнальный путь с участием ROCK, активирует фосфатазу PTEN, увеличивающую уровень PIP<sub>2</sub>, и противодействующую киназе PI3K, которая может активироваться зрелым нейротрофином.

Стимуляция SK-каналов под действием продомена BDNF обеспечивается активацией рианодиновых рецепторов (РиР) пресинаптических кальциевых депо – предварительное блокирование РиР в сочетании с блокированием SK полностью восстанавливает негативное влияние продомена на квантовую секрецию АХ. Таким образом, SK – “аварийный клапан”, компенсирующий повышение уровня внутриклеточного кальция за счет активации РиР под действием продомена. При этом PTEN является ключевым ферментом, обеспечивающим бифуркацию сигнального пути, направленного на активацию GIRK и SK – при ее блокировании в сочетании с блокированием SK не происходит возрастание квантового состава ПКП. Кроме того, такая активация зависит от функционирования фосфолипазы С (PLC). Именно сочетанная активность PLC, SK и GIRK обеспечивает снижение амплитуд постсинаптических потенциалов под действием продомена BDNF.

Таким образом, продомен BDNF в моторных синапсах млекопитающих тормозит нервно-мышечную передачу благодаря активации сигнального пути с участием PTEN, обеспечивающей дуальное вовлечение в негативную регуляцию квантовой секреции АХ калиевых каналов GIRK и SK.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта 24-25-00073.*

## **ПЕРИНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ ПРИВОДИТ К ОСЛАБЛЕНИЮ АНТИКОНСТРИКТОРНОГО ВЛИЯНИЯ NO В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

Гайнуллина Д.К.<sup>1</sup>, Швецова А.А.<sup>1</sup>, Хухарева Д.Д.<sup>1</sup>, Симоненко С.Д.<sup>1</sup>, Хлыстова М.А.<sup>1</sup>,  
Борзых А.А.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> *Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

В норме регуляция тонуса сосудов в раннем постнатальном периоде существенно отличается от таковой во взрослом возрасте, что связано с особенностями функциональной активности как гладкомышечных, так и эндотелиальных клеток. Например, для раннего постнатального периода характерны высокий уровень экспрессии и существенный проконстрикторный вклад Rho-киназы одновременно с высоким уровнем экспрессии и ярко выраженным антиконстрикторным влиянием со стороны оксида азота NO. Вместе с тем, остается неясным, каким образом может изменяться функциональный вклад этих путей в регуляцию сократительных ответов сосудов животных в раннем онтогенезе, перенесших перинатальную гипоксию. В связи с этим **целью** данной работы стало исследование влияния однократной нормобарической гипоксии на второй или на 10-й дни жизни на вклад Rho-киназы и NO в регуляции сократительных ответов артерий большого круга кровообращения у крысят в раннем постнатальном периоде.

Острую нормобарическую гипоксию (8% O<sub>2</sub>) моделировали в течение 2 часов у крысят в возрасте 2 дня или в возрасте 10 дней. Контрольные крысята из тех же пометов помещались в такие же условия, но с нормальным содержанием O<sub>2</sub>. Исследовали сократительные ответы подкожной артерии 11-14-дневных крысят на агонист α<sub>1</sub>-адренорецепторов метоксамин в

изометрических условиях в системе wire myograph. Вклад Rho-киназы в сокращение оценивали с применением ингибитора Y27632 (3 мкМ), а NO – с применением ингибитора NO-синтазы L-NNA (100 мкМ). Для сравнения содержания белка в артериях животных разных групп использовали метод western blotting.

У крысят, перенесших гипоксию на второй или на 10 дни жизни, сократительные ответы на метоксамин не отличались от контрольной группы ни в артериях с интактным, ни с удаленным эндотелием. Ингибирование Rho-киназы приводило к уменьшению сократительных ответов на метоксамин у крысят всех групп, при этом вклад Rho-киназы в сокращение не отличался у крысят обеих групп с гипоксией по сравнению с контрольными животными. Таким образом, перинатальная гипоксия ни на второй, ни на 10 дни жизни не привела к изменению функционального вклада Rho-киназы в регуляцию сокращения артерий в раннем постнатальном периоде.

Однако у крысят, перенесших гипоксию на второй день жизни, ингибирование NO-синтазы приводило к значимо меньшему увеличению сократительных ответов на метоксамин по сравнению с контрольными животными, чего не наблюдалось у крысят с гипоксией на 10 день жизни. Следовательно, перинатальная гипоксия на второй, но не на 10 день жизни вызывает ослабление антиконстрикторного влияния NO в артериях большого круга кровообращения у крысят в раннем постнатальном периоде. При этом нами не было обнаружено различий в содержании белка eNOS (эндотелиальная изоформа NO-синтазы) в артериях крысят контрольной группы и группы с гипоксией на второй день жизни, что указывает на различия в активности ферментов.

Таким образом, мы впервые показали, что перинатальная гипоксия приводит к изменениям в механизмах регуляции тонуса артерий в раннем постнатальном периоде, вызывая ослабление антиконстрикторного влияния NO, но не оказывает влияние на функциональный вклад Rho-киназы.

## **ТЕТА-РИТМ ГИППОКАМПА И ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ У КРЫС ПРИ ПРЕДЪЯВЛЕНИИ СТИМУЛОВ РАЗНОЙ ЗНАЧИМОСТИ В ОПАСНОМ И БЕЗОПАСНОМ КОНТЕКСТЕ**

Галдобина Д.А.<sup>1</sup>, Серков А.Н.<sup>1</sup>

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

Синхронизация электрической активности сети структур, включающих вентральный гиппокамп (ГПК) и медиальную префронтальную кору (ПФК), на частоте тета-ритма (4-12 Гц) рассматривается как один из механизмов целенаправленного поведения [1]. Физиологическое подтверждение концепции когнитивных карт по активности нейронов гиппокампа [2] предполагает, что животные могут воспринимать контекст как внутреннюю репрезентацию окружающей среды [3], на основе которой происходит выбор действий, адекватных решаемой задаче [4]. Исходя из этого, мы сформулировали гипотезу о том, что синхронизация на тета-частоте (7-12 Гц) в сети структур ГПК и ПФК вовлечена в механизм оценки значимости стимулов в различающихся контекстах. Для проверки этой гипотезы был проведен эксперимент, в котором регистрировали электрическую активность в ГПК и ПФК при предъявлении условного стимула (УС, звук 8 кГц, 80 дБ, 2- 8с) в “опасном” и “безопасном” контексте предварительно обученному животному. В эксперименте использовали 7 половозрелых самцов крыс линии Wistar, которым перед обучением вживили электроды (никельхромовая проволока в лаковой изоляции, диаметр 220 мкм) в ГПК (AP=[-6.0], ML=[4.8], DV=[5.5]) и ПФК (AP=[-3.3], ML=[0.9], DV=[4.5]) одного полушария. Животных обучали совершать реакцию одностороннего избегания электрического тока (2мА, до 2с) при предъявлении УС в темном отсеке камеры (“опасный” контекст). В светлом отсеке камеры (“безопасный” контекст) на этапе обучения УС не предъявляли. После достижения критерия обученности в 85% реакций избегания проводили запись электрической активности при

предъявлении звука в обоих отсеках камеры. Для оценки синхронизации на полученных записях (до, во время, и после включения звука) определяли амплитуду тета-ритма в ГПК и ПФК в диапазоне 7-12 Гц и когерентность. В результате работы было показано, что предъявление УС в “опасном” контексте сопровождалось достоверным увеличением амплитуды тета-ритма (на 30-50%) в обеих структурах с соответствующим увеличением когерентности у всех животных, которое оставалось выраженным и после выключения УС по завершении выученной реакции. Предъявление УС в “безопасном” контексте сопровождалось незначительным увеличением тета-ритма (до 10%) в обеих структурах, без соответствующего увеличения когерентности. При этом животные ни разу не совершали выученную реакцию при предъявлении УС в “безопасном” контексте. Таким образом, тета-синхронизация свидетельствует об интеграции ГПК и ПФК в единую функциональную систему, которая задействована в механизме выполнения выученной реакции, в то время как уровень тета-ритма отражает разную значимость стимулов в зависимости от контекста.

1. Benchenane K., Peyrache A., Khamassi M., et al. // *Neuron*. - 2010. - V. 66. - P.921–936.
2. Lisman J., Buzsáki G., Eichenbaum H., et al // *Nature neuroscience*. 2017. V. 20. P. 1434-1447.
3. Findling C., Chopin N., Koeclin E. // *Nat.Hum. Behav.* 2021. V. 5. P. 99–112.
4. Heald J.M., Lengyel M., Wolpert D.M. // *Nature*. 2021. V. 600. P. 489-493.
5. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic press, 2009. 198 p.

## **ГЕТЕРОГЕННОСТЬ КАЛЬЦИЕВЫХ ОТВЕТОВ НА АКТИВАЦИЮ ОДИНОЧНЫХ ТРОМБОЦИТОВ МЫШЕЙ**

Галкина С.В.<sup>1,2</sup>, Мишуков А.А.<sup>1</sup>, Пантелеев М.А.<sup>1,2</sup>, Свешникова А.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва,*

<sup>2</sup>*Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии, и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия*

Кальций является важным вторичным мессенджером для эукариотических клеток. Для безъядерных клеточных фрагментов – тромбоцитов – кальциевая сигнализация является единственным регулятором функциональных ответов на активацию, таких как активация интегринов, прокоагулянтная активность, дегрануляция, инициация плазменного звена свертывания крови, синтез и секреция тромбоксана А<sub>2</sub> и др. [1]. Своевременная реализация тромбоцитами функциональных ответов обеспечивает быструю остановку кровотечения в поврежденном сосуде, в то время как несвоевременная может привести к тромбозу. При этом в рамках даже одного донора популяция тромбоцитов отличается неоднородностью, например, при активации возникает субпопуляция прокоагулянтных тромбоцитов с повышенной концентрацией кальция в цитозоле [2]. Ранее нами было показано, что кальциевые ответы одиночных тромбоцитов человека гетерогенны. Мы выделили четыре типа кальциевого ответов тромбоцитов: «нет ответа» (I) с редкими одиночными всплесками кальция, «слабый ответ» (II) с множественными спайками кальция, не формирующими кластеры, «сильный ответ» (III) с множественными кластерами и «стабильно сильный ответ» (IV) с устойчиво высоким уровнем кальция, приводящим к гибели клетки. Добавление активаторов смещало распределение тромбоцитов здоровых доноров в сторону «сильного» и «стабильно сильного» типов ответа. Активация АДФ вызывала примерно равное количественное разделение клеток по всем четырем группам. Хотя все наблюдения образования тромбов *in vivo* проводятся на мышах, данных о гетерогенности популяции тромбоцитов мышей нет.

**Целью** данной работы является разработка метода наблюдения гетерогенности кальциевых ответов одиночных тромбоцитов здоровых мышей на активацию АДФ и тромбином.

В работе использовалась цельная кровь здоровых мышей линии ICR, взятая стеклянным капилляром из ретро-орбитального синуса в пробирку с антикоагулянтом гирудином. Клетки крови отмывались от плазмы путем двукратного центрифугирования с простацклином и замещением объема плазмы буфером Тирода, затем окрашивались флуоресцентным зондом CalBryte 590. Исследование гетерогенности кальциевых ответов тромбоцитов происходило при помощи флуоресцентной микроскопии. Окрашенная кровь прокачивалась через проточные камеры, покрытые фибриногеном, не севшие клетки смывались буфером Тирода, далее производилась съемка в присутствии раствора активаторов 10 мкМ АДФ и 5 нМ тромбина в буфере Тирода.

В результате работы нами было показано, что мышинные тромбоциты адгезируют к фибриногену, но не распластаются на подложке, наблюдаются отсутствие активации или редкие одиночные спайки (группа «нет ответа»). При смене раствора на АДФ 90% переходят в тип «сильный ответ» с заметным резким увеличением частоты кальциевых осцилляций или образованием одиночного кластера в начале ответа и постепенном снижении частоты осцилляций до 10-30/мин через 5 мин, к концу съемки 5% тромбоцитов умирает. Последующее добавление тромбина переводит 100% тромбоцитов в тип «сильный ответ» с четким кластером в начале ответа, при этом за 5 минут наблюдения умирает 20% тромбоцитов.

Таким образом мы наблюдаем некоторую гетерогенность ответа популяции, но в отличие от человека, по группам наблюдается примерно равное разделение по группам, а гетерогенность кальциевых ответов тромбоцитов мышей гораздо меньше, чем у человека.

*Работа поддержана грантом РФФ 23-74-00057.*

1. Alexey Martyanov, Mikhail Panteleev. // SBPReports; 2021; 3 (1), 13-30.
2. Podoplelova NA, Sveshnikova AN, Panteleev MA et al. // Blood. 2016 Sep 29; 128(13): 1745-55.

## **ВАРИАТИВНОСТЬ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ЗНАЧИМОСТЬ В ТЕХНОЛОГИЯХ НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИИ**

**Ганин И.П., Васильев А.Н., Глазова Т.Д., Корнеева З.Ю., Каплан А.Я.**

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

Электроэнцефалография (ЭЭГ) – неинвазивный метод изучения мозговой активности, широко применяемый в нейрофизиологии. С помощью ЭЭГ можно зарегистрировать совокупность ответов больших популяций нейронов совместно с другими электрофизиологическими сигналами, которые, суммируясь, могут осложнять анализ и интерпретацию получаемого сигнала. Метод вызванных потенциалов (ВП) позволяет нивелировать «шумовые» эффекты (то есть не связанные с целью конкретного эксперимента) и выделить только компоненты интереса за счет усреднения мозговых реакций на многократно повторяемые стимулы. Благодаря высокому пространственному и временному разрешению метод ВП позволяет изучать различные аспекты внимания и восприятия, связанные с обработкой и реакцией на различные сенсорные, моторные и когнитивные стимулы.

При усреднении ответов на повторные стимулы для выделения компонентов (пиков) ВП подразумевается, что все реакции на такие стимулы идентичны. Однако компоненты ВП могут варьировать по латентности и амплитуде от одного предъявления к другому. Данный феномен вариативности обычно не принимают во внимание при анализе ВП. Однако эта вариативность может влиять на получаемые усредненные кривые, вызывая искажение формы реальных компонентов ВП и даже иногда приводить к ошибкам в интерпретации наблюдаемых эффектов.

Вариативность ВП отражает ряд естественных мозговых процессов на разных уровнях — от внутриклеточного до нейросетевого, в том числе определяется флуктуациями процессов восприятия внешних стимулов. В нормальном мозге обычно всегда наблюдается

вариативность ВП, однако она может отклоняться от среднего значения при наличии нейродегенеративных заболеваний или психических расстройств.

Но если в фундаментальных работах влияние вариативности не всегда может проявляться ввиду, как правило, очень большого числа усреднений стимулов, то при разработке практических приложений, использующих анализ ВП, вклад вариативности может быть более существенный. Технологии интерфейсов мозг-компьютер (ИМК) как раз являются ярким примером практического применения метода ВП. ИМК позволяет пользователю отдавать команды внешним устройствам, минуя нервно-мышечный путь, только лишь за счет фокусирования внимания на определенных стимулах-командах, реакции на которые считываются с помощью ЭЭГ. Другим практическим применением метода ВП являются системы распознавания скрытых эмоциональных фокусов внимания, которые могут находить применение как вспомогательные системы диагностики в клинике. Между тем, исследования механизмов вариативности ВП в рамках подобных практических приложений почти не проводились.

В ряде нейрофизиологических экспериментов мы показали важность учета эффектов вариативности в рамках технологии интерфейсов мозг-компьютер. В частности, в исследовании на 12 здоровых испытуемых с модифицированной стимульной средой ИМК, где пользователям необходимо было фокусировать внимания на подвижных объектах-стимулах, коррекция латентности пиков в единичных реакциях привела к увеличению амплитуд компонентов ВП в 1,5-2 раза, а также повышению точности распознавания команд в ИМК с 71-78% до 92-95%.

Далее, в исследовании на 19 здоровых испытуемых мы предложили способ, основанный на выделении и коррекции латентности в пространственных компонентах ВП (N1 и P300), играющих ключевую роль в классификации команд в ИМК. Данный способ обеспечил прирост в точности распознавания команд по сравнению с обычным подходом в 10%. Кроме того, мы показали, что модификации интерфейса, способствующие более высокому уровню внимания пользователя к задаче и более четкой фиксации взгляда на целевых объектах, приводили к повышению амплитуд компонентов ВП посредством снижения вариативности реакций на единичные стимулы.

Наконец, вариативность ВП может быть маркером изменений или нарушений в эмоциональном восприятии и повышенной чувствительности к определенным субъективно значимым стимулам. В частности, в нашем исследовании с 20 пациентами с расстройствами пищевого поведения было показано увеличение вариативности ранних компонентов ВП в ответ на предъявление связанных с заболеванием эмоциональных стимулов, по сравнению с группой здоровых испытуемых (16 человек).

Таким образом, полученные в рамках наших исследований результаты подчеркивают важную роль процессов вариативности вызванных потенциалов для создания эффективных технологий нейрокомпьютерных интерфейсов, а также разработки вспомогательных систем диагностики и оценки эффективности терапии ряда социально-значимых психических заболеваний.

## **МЕХАНИЗМ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИЙ НЕКАНОНИЧЕСКИХ ПАР1-АГОНИСТОВ.**

Горбачева Л.Р.<sup>1,2</sup>, Волкова А.А.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>*Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова,  
Москва*

Нарушение мозговых функций в результате инсультов, травм и развития нейродегенеративных заболеваний в своем анамнезе содержат повреждение нейронов мозга в результате нейровоспаления и эксайтотоксичности, вызванной высокими концентрациями

глутамата (Glu). В связи с этим, возникает необходимость разработки эффективной терапии повреждений мозга на основе препаратов, обладающих как нейропротекторным, так и противовоспалительным эффектом. Кандидатами в такие препараты могли бы быть агонисты PAR1 (protease-activated receptors) рецепторов, для которых показан особый тип активации - смещенный агонизм «biased agonism». Недавно обнаружено, что активация PAR1 тромбином и активированным протеином С (АПС) носит разнонаправленный характер, что получило название каноническая и неканоническая активация, соответственно. Известно, что активация PAR может быть реализована с помощью специальных пептидов-агонистов, которые могут проявлять как тромбин-, так и АПС-подобное действие, т.е. являться каноническими или неканоническими. Возможность разработки на базе агонистов PAR1 препаратов с защитным действием требует понимания механизма их действия.

В представленной работе были изучены механизмы активации PAR1 рецепторов в условиях глутаматной эксайтотоксичности, нейровоспаления *in vitro* и ишемии *in vivo*. На первичной культуре нейронов, выделенных из мозга новорожденных мышей и крыс, в условиях Glu-эксайтотоксичности и в модели нейровоспаления (сокультивирования нейронов с тучными клетками) исследованы эффекты агонистов PAR1 – тромбина, АПС и нового пептида-агониста PAR1 (АП9) с использованием кальциевого имиджинга, оценки выживаемости клеток и иммуноферментного анализа. На модели фотоиндуцированной ишемии, с использованием мышей нокаутных по гену белка  $\beta$ -аррестина-2, оценено нейропротекторное и противовоспалительное действие АП9.

Показано, что токсическое действие Glu на нейроны крысы приводит к активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и транслокации в ядро его субъединицы p65 (в 1,5 раза выше, чем в контроле), что свидетельствует о развитии нейровоспаления. АПС (1нМ) отменял вызванную Glu активацию NF- $\kappa$ B. В тоже время тромбин (канонический агонист PAR1) в высокой концентрации (50нМ), напротив, вызывал транслокацию NF- $\kappa$ Bp65 в ядро. Ингибирование белка теплового шока HSP90 гелдаминицином (200 нМ) частично отменило снижение активации NF $\kappa$ Bp65 (содержание в ядре p65 субъединицы составило 1,3 по отношению к контролю), которое мы наблюдали после экспозиции нейронов с АПС при эксайтотоксичности. В основе токсического действия Glu лежит необратимая кальциевая дисрегуляция, приводящая к гибели нейронов. АПС и АП9 обеспечивали восстановление кальциевого гомеостаза нейронов, нарушенный токсическим действием Glu, практически в 2 раза снижая уровень цитозольного кальция по сравнению с действием Glu. При этом, кальций-зависимый механизм протекторного действия АПС и АП9 имел  $\beta$ -аррестин-2-опосредованный характер, на что указывают результаты экспериментов на культурах нейронов, выделенных из мозга мышей с нокаутным геном данного белка. Интересно, что в модели нейровоспаления *in vitro* пептид также демонстрировал протекторное действие, снижая гибель нейронов, вызванную их сокультивированием с активированными тучными клетками. Интересно, что на модели фототромбоза двукратное введение АП9 (20 мг/кг, в/в) уменьшило объем поражения мозга, оцененный с помощью TTC-окрашивания, нарушение ГЭБ, измеренный с использованием красителя Эванса синего, и неврологический дефицит у мышей, определенный с помощью теста «Решетка». При этом мы не наблюдали защитного эффекта АП9 у мышей, нокаутных по гену белка  $\beta$ -аррестина-2.

Итак, мы впервые продемонстрировали нейропротекторное действие АП9 *in vivo* и *in vitro*, механизм действия которого, как и АПС, имеет  $\beta$ -аррестин-2-зависимый характер. Более того, противовоспалительное действие этих неканонических агонистов PAR1 опосредуется их HSP90-зависимым влиянием на активность транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и их способностью стабилизировать гомеостаз цитозольного кальция при эксайтотоксичности.

Таким образом, неканоническая активация PAR1, в отличие от его канонической активации, способствует выживаемости нейронов в условиях глутаматной эксайтотоксичности и ишемии, а неканонические пептиды-агонисты PAR1 могут служить основой для разработки нового направления нейропротекторной и противовоспалительной терапии при нейродегенеративных повреждениях мозга.

## ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АДРЕНОБЛОКАТОРОВ, КАК СРЕДСТВО КОРРЕКЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК *PARAMECIUM* *CAUDATUM* НА ФОНЕ АКТИВАЦИИ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Груздев Г.А.<sup>1</sup>, Карпухина О.В.<sup>1</sup>, Иноземцев А.Н.<sup>1</sup>, Поварнина П.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

На сегодняшний день, в условиях ужесточения биоэтического контроля доклинических исследований, использование разных клеточных культур для скрининга фармакологических препаратов стало более популярно в научном сообществе относительно работ с участием высших позвоночных и работ, заключающихся в предсказании эффекта с помощью компьютерного моделирования. Однако фармакологические исследования на клеточных культурах, а конкретно на одноклеточных организмах обеднены разнообразием используемых методов, а также сложны в интерпретации полученных результатов, что приводит к большим спорам и дискуссиям по данному направлению [1]. Несмотря на это, угнетение физиологического ответа, вызванного препаратами агонистами, с помощью предъявления препаратов антагонистов является ключевым общепринятым методом в фармакологической физиологии, не зависимо от исследуемой модели. Так при физиологических исследованиях на грызунах, рассматриваемые параметры будут заключаться в определении и коррекции нарушений когнитивных функций, физических способностей и изменения в психоэмоциональном фоне, в то время как, работа на клеточных культурах будет сопровождаться исследованиями изменений электрофизиологических, биохимических и морфологических свойств. Исследования, проводимые на подвижных клетках различных протистов, позволяют производить анализ не только на клеточном, но также и на организменном уровне организации, добавляя к рассмотрению поведенческие характеристики, такие как двигательная активность включая параметры скорости движения и подвижности.

**Целью** настоящей работы было рассмотреть действие аденоблокаторов и коррекцию эффектов агонистов на простейшем организме *Paramecium caudatum*.

Работа была выполнена на стерильной культуре живых клеток *Paramecium caudatum*.

Наше исследование включает в себя две серии экспериментов. В первой серии было изучено действие агонистов аденорецепторов на двигательную активность *Paramecium caudatum*. В качестве селективных агонистов  $\alpha$ -1 аденорецепторов были выбраны такие препараты как фенилэфрин (Sigma) и Метоксамин (Sigma) в концентрации  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  М. Для активации  $\alpha$ -2 аденорецепторов был использован клонидин (Sigma) в концентрации  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  М. В качестве селективных агонистов  $\beta$ -1 и  $\beta$ -2 аденорецепторов были выбраны добутамин (Sigma) и тербуталин (Sigma) в концентрации  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  М соответственно.

Во второй серии было рассмотрено возможность коррекции эффектов селективных агонистов селективными блокаторами такими как празозин (Sigma) в концентрации  $10^{-5}$  М для  $\alpha$ -1 аденорецепторов и атенолол (Sigma) в концентрации  $10^{-5}$  М для  $\beta$ -1 аденорецепторов. Каждый эксперимент был воспроизведен в 8 повторностях и сопровождался собственным контролем. В контрольную группу вносили раствор Лозина-Лозинского в том же объеме. Обработка производилась в программе Fiji (ImageJ) [2]

Показано, что предъявление Метоксамина в концентрации  $10^{-3}$  М повышает скорость движения клеток *Paramecium caudatum*, но снижает количество подвижных клеток в лунке активируя различные внутриклеточные процессы, наличие фенилэфрина в концентрации  $10^{-3}$

М в среде снижает двигательную активность и совпадает по действию с адреналином. Внесение тербуталина в концентрации  $10^{-3}$  М приводит к резкому и продолжительному росту скорости движения и активности клеток в целом, в то время как внесение добутамина в концентрации  $10^{-3}$  М снижает двигательную активность. Также в работе показано действие селективных блокаторов празозина и атенолола в концентрации  $10^{-5}$  М, которая проявлялась в полной коррекции эффектов соответствующих селективных агонистов по всем исследуемым параметрам двигательной активности.

Таким образом можно наблюдать консервативные эффекты препаратов даже при их действии на неканонической модели *Paramecium caudatum*, что доказывает возможность применения данного организма в сравнительно-физиологических исследованиях на равне с распространёнными моделями.

1. M Bailey J., Balls M. // BMC Medical Ethics. 2019. V. 20. № 1. P. 1-7.
2. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E. et al. // Nat. Methods. 2012. V. 9. P. 676–682.

## СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И УЛЬТРАСТРУКТУРА МИТОХОНДРИЙ И В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Гумерова А.И.<sup>1</sup>, Пономарева А.А.<sup>2</sup>, Дмитриева С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казанский Федеральный (Приволжский) Университет, Казань, РФ;

<sup>2</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, РФ

Лекарственное поражение печени (ЛПП) — это повреждение печени, вызванное чужеродными для организма ксенобиотиками и/или их метаболитами, которое характеризуется широким спектром проявлений, наиболее серьезным из которых является гепатоцеллюлярная смерть, приводящая к острой печеночной недостаточности после приема лекарств. Хотя патогенез ЛПП до конца не выяснен, митохондриальная дисфункция и развитие окислительного стресса являются одними из основных триггеров запуска механизмов гибели гепатоцитов [2]. **Целью** настоящего исследования была оценка уровня окислительного стресса, активности ферментов антиоксидантной защиты и структурно-функциональных перестроек митохондрий, как основных АФК-генерирующих органелл, в тканях печени при действии токсичных концентраций ряда лекарственных препаратов, приводящих к ЛПП.

Исследование было проведено на печени трехмесячных самцов белых лабораторных мышей и было одобрено комиссией по биоэтике ФИЦ КазНЦ РАН (№ 23-1/23-2/2 от 28 февраля 2023 г). ЛПП индуцировали пероральным введением в течение 3-5 дней парацетамола (0,5 г/кг), нимесулида (0,2 г/кг) и окситетрациклина (0,5 г/кг веса в день). Оценка редокс-метаболизма и анализ ультраструктурных изменений в тканях проводили, как описано ранее [1].

Гепатотоксичность парацетамола обусловлена образованием высокотоксичного редокс-активного метаболита N-ацетил-p-бензохинонимина (NAPQI), сопровождается сильным окислительным стрессом и приводит к быстрой гибели гепатоцитов по пути программируемого некроза, опосредованного образованием высокопроницаемой митохондриальной порой (mPTP) [4]. Нимесулид нарушает синтез АТФ, вызывает окисление митохондриального НАДФН и действует как разобщитель митохондриального дыхания [5]. При действии антибиотиков тетрациклинового ряда нарушаются процессы переноса электронов в дыхательной цепи митохондрий и ингибируется  $\beta$ -окисление жирных кислот, что способствует активации редокс-процессов, усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ) и ведет к развитию стеатоза [3]. Проведенное нами исследование показало, что парацетамол оказал наиболее сильное действие на развитие окислительного стресса, который сопровождался значительным увеличением уровня ПОЛ и снижением активности ферментов

антиоксидантной защиты. Нимесулид и окситетрациклин также привели к развитию окислительного стресса в тканях, однако его уровень был менее значительным и сопровождался активацией ряда ферментов антиоксидантной защиты. Интересно, что при анализе ультраструктуры клеток мы не выявили изменений в митохондриях, которые однозначно свидетельствовали бы о повреждающем воздействии. Митохондрии характеризовались лишь небольшими изменениями в морфологии (просветление или конденсация митохондриального матрикса), трансформацией формы (удлинение). Характерной особенностью для всех исследованных препаратов было накопление в цитоплазме гепатоцитов значительного количества аутофагосом. Мы полагаем, что активация аутофагии в наших экспериментах способствовала поддержанию редокс-метаболизма и сохранению структурно-функциональной целостности митохондрий за счет своевременного удаления их метаболизма клетки окисленных/поврежденных макромолекул. Однако это требует детального экспериментального подтверждения, поскольку аутофагия включает в себя сложные и динамичные процессы, необходимы различные подходы для точного и корректного изучения потоков аутофагии, чтобы избежать неверных выводов при накоплении аутофагосом, которые могут свидетельствовать также об ингибировании аутофагии, а не об ее активации. Роль аутофагии при ЛПП, в том числе в механизмах гибели или адаптации, все еще является предметом интенсивных дискуссий в научной литературе.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного Фонда и Академии наук Республики Татарстан по проекту № 24-25-20086.*

1. Дмитриева С., Краснова А., и др. // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. Сборник статей. 2023. С.469-474.
2. Allison R., Guraka A. et al. // J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2023. V.26. P.442-467.
3. Deng Z., Yan S. et al. // Proteomics. 2015. V.15. P.148-159.
4. Jaeschke H., Ramachandran A. // Annu Rev Pathol. 2024. V.19. P.453-478.
5. Mingatto F.E., dos Santos A.C., et al. // Br J Pharmacol. 2000. V.131. P.1154-60.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ Т-КАДГЕРИНА ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Гуриелидзе Л.М.<sup>1</sup>, Сысоева В.Ю.<sup>1</sup>, Рубина К.А.<sup>1</sup>**

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

Колоректальный рак является третьим по распространенности онкологическим заболеванием в мире, что подчеркивает необходимость поиска новых стратегий терапии. Т-кадгерин – неклассический представитель семейства кадгеринов, демонстрирует широкий спектр протективных свойств, включая онкосупрессию, которые реализуются через взаимодействие с высокомолекулярной формой адипонектина [1, 4]. Недавние исследования продемонстрировали подавление экспрессии Т-кадгерина в опухолевых тканях толстой кишки, что сопровождается увеличением количества метастазов [2, 5]. Для изучения роли Т-кадгерина в процессе канцерогенеза мы использовали клеточную линию аденокарциномы толстой кишки человека Сасо-2. Эту линию клеток мы трансфицировали плазмидным вектором, содержащим ген Т-кадгерина, и в дальнейшем анализировали изменения в уровне экспрессии целевого белка при направлении клеток в дифференцировку.

В результате трансфекции клеточной линии аденокарциномы человека Сасо-2 плазмидным вектором рсDNA3.1, содержащим последовательность гена Т-кадгерина (позитивная группа), была получена линия с гиперэкспрессией Т-кадгерина. В качестве контроля использовали клетки, трансфицированные пустым вектором (негативный контроль) и не подвергшиеся трансфекции (пустой контроль). Анализ методом вестерн-блоттинга подтвердил увеличение экспрессии Т-кадгерина только в клетках позитивной группы, в то время как в двух контрольных группах его экспрессия не была выявлена. Далее, все три

группы клеток Сасо-2 были направлены в дифференцировку, в течение 21 дня после формирования монослоя [3]. Вестерн-блоттинг продемонстрировал повышение экспрессии Т-кадгерина в клетках позитивной группы после их дифференцировки, тогда как в остальных группах никаких изменений не наблюдалось.

В результате проведенной работы нам удалось получить линию клеток аденокарциномы человека Сасо-2 с подтвержденной гиперэкспрессией Т-кадгерина. Эта линия клеток станет моделью для дальнейшего изучения механизмов участия Т-кадгерина в регуляции онкосупрессии. Мы показали, что в ходе дифференцировки линии клеток Сасо-2, трансфицированных плазмидным вектором, содержащим ген Т-кадгерина, повышенная экспрессия этого белка сохраняется. Полученная модель будет использована для дальнейших исследований молекулярных механизмов участия Т-кадгерина в дифференцировке и онкосупрессии опухолей кишечника и роли в этом лиганда – высокомолекулярного адипонектина. Более глубокое понимание этих процессов будет способствовать разработке новых терапевтических стратегий для лечения опухолей толстой кишки.

*Работа выполнена в рамках государственного задания №03р-23/110-03.*

1. Denzel M.S. et al. // J. Clin. Invest. J Clin Invest, 2010. Vol. 120, № 12. P. 4342–4352.
2. Hibi K. et al. // Br. J. Cancer. Nature Publishing Group, 2004. Vol. 90, № 5. P. 1030.
3. Lea T. // Impact Food Bioact. Heal. Vitr. Ex Vivo Model. Springer International Publishing, 2015. P. 103–111.
4. Parker-Duffen J.L. et al. // J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology, 2013. Vol. 288, № 34. P. 24886.
5. Ren J.Z., // Med. Oncol. Med Oncol, 2012. Vol. 29, № 2. P. 915–918.

## **НАЛИЧИЕ СОННО-ЯРЕМНОГО ШУНТА ВЛИЯЕТ НА ИЗМЕНЕНИЕ NO-ОПОСРЕДОВАННОЙ ДИЛЯТАЦИИ ЛЕГОЧНЫХ АРТЕРИЙ В ОТВЕТ НА ОДНОСТОРОННЮЮ ИШЕМИЮ КАРОТИДНОГО ТЕЛЦА У КРЫС**

Давыдова М.П.

*Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва*

Вызываемая NO вазодилатация включает зависимые и независимые от растворимой гуанилатциклазы (рГЦ) пути реализации, относительный вклад которых может регулироваться. Для легочных артерий в норме большее значение имеет независимый от рГЦ путь, реализующийся через взаимодействие NO с ионными каналами, – он опосредует расслабление при низких концентрациях донора NO, при этом открываются  $K_{ATP}$ -каналы. При увеличении концентрации донора NO ( $10^{-8}$  М -  $10^{-7}$  М) возрастает роль зависимых от рГЦ механизмов вазодилатации [1].

В данном исследовании сравнивали вовлеченность рГЦ-зависимых механизмов в структуру NO-опосредованной дилатации в двух моделях – при формировании сонно-яремного шунта (СЯШ) и при одностороннем пересечении общей сонной артерии. В обеих моделях отсутствовал кровоток по общей левой сонной артерии. В экспериментах использовали самцов белых беспородных крыс, операции были проведены на животных возрастом 6-7 недель. Через месяц у оперированных крыс в обоих случаях наблюдали гистологические признаки умеренной легочной гипертензии. Ранее было показано, что ведущим фактором изменений структуры легочных артерий при пересечении общей сонной артерии является ишемия каротидных телец [2]. При моделировании ишемии каротидных телец увеличение площади медики легочных артерий малого диаметра было небольшим, но наблюдалась гиперплазия гладких мышц медики (медиана количества слоев гладких мышц в группе интактного контроля – 2.2, в модели с пересечением ОСА – 2.9,  $p < 0.05$ ). Площадь медики в группе с СЯШ была значимо больше, чем у интактных крыс (медиана нормализованной на диаметр площади медики при формировании СЯШ была равна 0.28, а в

группе интактного контроля – 0.22,  $p < 0.05$ ), однако количество слоев гладкомышечных клеток не изменилось. При этом гипертрофии правого желудочка сердца не было выявлено в обоих случаях.

Опыты на изолированных легочных артериях второго порядка были выполнены через месяц после операций, в режиме постоянного потока (2 мл/мин), для перфузии использовали модифицированный раствор Кребса-Хенсляйта. Дилататорные реакции оценивали на фоне тонического сокращения в ответ на перфузию серотонином в концентрации  $5 \times 10^{-6}$  М. Для NO-зависимой вазодилатации был использован донор NO нитропруссид натрия (SNP) в диапазоне концентраций  $10^{-11}$  -  $10^{-7}$  М. Для подавления вызванного NO расслабления были использованы ингибитор рГЦ ODQ ( $10^{-6}$  М) и блокатор  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламид ( $5 \times 10^{-6}$  М).

В обеих моделях  $K_{ATP}$ -каналы перестали иметь значение как отдельная мишень для NO: степень дилатации легочных сосудов в ответ на SNP не изменялась под действием глибенкламида как в группе с односторонней ишемией каротидных телец, так и в группе с СЯШ. Вклад рГЦ-зависимого пути также изменился в обеих моделях, однако не одинаково: при ишемии каротидных телец значение активации рГЦ возросло – ODQ подавлял расслабление в большем диапазоне концентраций SNP, чем у интактных животных: от  $10^{-11}$  до  $10^{-7}$  М; в группе СЯШ ODQ перестал иметь значение при перфузии больших концентраций SNP, его влияние сместилось на низкие концентрации, и значимое подавление расслабления за счет ингибитора рГЦ было получено в диапазоне концентраций SNP  $10^{-11}$  -  $10^{-10}$  М. Таким образом, можно предположить, что изменения вклада  $K_{ATP}$ -каналов в обеих моделях являются ответом на одностороннюю ишемию каротидных телец. Отличия в изменении значения рГЦ-зависимого пути в моделях могло быть потенциально связано с проявлением окислительного стресса при наличии СЯШ за счет реализации шунта «слева-на право» с увеличением потока крови по легочным артериям и попадания оксигенированной крови в легочные артерии. Поэтому была проведена оценка активности факторов антиоксидантной системы внутрилегочных артерий, эритроцитов и плазмы крови. Однако значимых отличий параметров антиоксидантной системы (активности каталазы сыворотки крови, эритроцитов и внутрилегочных артерий; активности глутатионпероксидазы эритроцитов; концентрации глутатиона в плазме крови) в описанных моделях не было обнаружено. Вероятно, факторы, влияющие на изменение структуры вызванного NO расслабления легочных артерий при наличии сонно-яремного шунта, носят не системный, а локальный характер.

1. Давыдова М.П. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. Т. 167. № 2. С. 200-203.
2. Давыдова М.П., Марков М.А. // Технологии живых систем. 2022. Т. 19. № 1. С. 20-27.

## **ОЦЕНКА НАЛИЧИЯ У ЛОШАДЕЙ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О «НЕИСЧЕЗАЕМОСТИ» ОБЪЕКТОВ ПРИ ПОМОЩИ НОВОГО ТЕСТА**

Дегтярева А.С., Смирнова А.А.

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

Наличие представления о том, что объекты, исчезнувшие из поля зрения, продолжают существовать (представление о постоянстве объектов [2]; закон “неисчезаемости” [1]), может служить показателем степени развития когнитивных способностей животных. Степень развития этой способности у животных обычно оценивают при помощи тестов Пиаже [2] или их аналогов [5], в которых животному необходимо найти приманку, спрятанную в одном из нескольких укрытий. В качестве претренинга животных часто обучают поиску приманки, спрятанной в единственном укрытии, что может влиять на результаты теста. Еще одной проблемой является использование дифференцированного подкрепления, что может позволить животному научиться решать задачу в ходе теста. Помимо этого, не всегда удается решить такие проблемы, как возможность нахождения приманки за счет перцептивного

определения ее местоположения или за счет формирования ассоциативных правил выбора (например, “приманка в том укрытии, рядом с которым была рука экспериментатора”).

**Цель** данной работы - разработка методики тестирования, позволяющей выяснить, было ли представление о “неисчезаемости” сформировано у лошадей до начала экспериментов с ними. До этого степень развития представления о “неисчезаемости” объектов у лошадей исследовали лишь в двух работах [4, 3], результаты которых неоднозначны.

Исследование проводили на базе конюшни Московского Зоопарка.

На подготовительном этапе на глазах у лошади сухарь помещали на один из трех белых квадратов на доске (т. е. приманку не прятали). Вторая рука совершала симметричное движение и одновременно касалась другого квадрата. Лошадей пришлось учить брать сухарь с одного из квадратов вне зависимости от того, какой рукой его туда положили. Здесь и далее лицо и глаза экспериментатора были скрыты очками, баффом и полями широкополой шляпы. Затем четверем лошадям предъявили тест на поиск приманки, спрятанной у них на глазах за одной из двух перегородок. В тестовых пробах экспериментатор показывал лошади два кулака, в одном из которых сухарь был на виду, а в другом - спрятан. Далее он заносил руки за перегородки, имитируя помещение сухаря, после чего прятал его в кулак и убирал руки за спину. После этого он придвигал доску к лошади. Выбором считали прикосновение мордой к одному из квадратов. 24 тестовые пробы (в них лошадь получала приманку лишь в 50% проб и вне зависимости от правильности выбора) чередовали с 48 фоновыми, в которых сухарь помещали перед ширмой (в них лошадь получала приманку только в случае правильного выбора). Из четырех лошадей лишь одна достоверно чаще случайного уровня находила приманку в 24 тестовых пробах. Другая успешно делала это только в первых 12.

С этими двумя лошадьми провели контроль, оценивающий влияние неосознанных подсказок экспериментатора на выбор. В контрольных пробах после демонстрации сухаря экспериментатор сразу прятал его в одном из двух сближенных кулаков, что не позволяло лошади проследить за его перемещением. У обеих лошадей доля правильных решений в контрольных пробах не превышала случайный уровень.

Далее мы выясняли, могут ли лошади быстро (за 36 проб) научиться находить приманку, спрятанную за одной из двух перегородок. Те же тестовые пробы предъявляли подряд, не чередуя с фоновыми, и подкрепляли только правильный выбор. Такое же число проб в тесте ранее использовали в другом исследовании с лошадьми [4], в котором в тесте использовали дифференцированное подкрепление. Ни одна из трех лошадей, ранее не справившихся с тестом, за 36 проб не научилась искать спрятанную приманку.

Таким образом, у одной из четырех протестированных лошадей мы обнаружили наличие представления о постоянстве (“неисчезаемости”) объектов. Благодаря особенностям разработанной нами методики мы можем утверждать, что она не могла найти приманку по запаху, не могло научиться решать задачу в ходе претренинга или тестирования и не решала тест за счет применения простых ассоциативных правил.

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

1. Крушинский Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности: Эволюционный и физиолого-генетический аспекты поведения. 1986. 270 с.
2. Piaget J. // Int. Univ. Press; New York: 1954
3. Rørvang M.V., Ničová K., Sassner H. et al. // Front. behav. neurosci. 2021. V.15. doi: 10.3389/fnbeh.2021.792035
4. Trösch M., Flamand A., Chasles M. et al. // Front. psychol. 2020. V.11. doi: 10.3389/fpsyg.2020.562989
5. Uzgiris I.C., Hunt J. // University of Illinois Press, Champaign. 1975

## ЭФФЕКТЫ ИНГАЛЯЦИЙ АРГОНОМ НА КРЫСЯТ В МОДЕЛИ НЕОНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

Дегтярь А.С.<sup>1</sup>, Кабиольский И.А.<sup>1</sup>, Сарычева Н.Ю.<sup>1</sup>, Дубынин В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Неонатальная гипоксия как повреждающий фактор способна комплексно нарушать функциональное состояние ЦНС, затрагивая молекулярные, клеточные и физиологические процессы [1]. Гипоксическое воздействие в раннем периоде онтогенеза может впоследствии приводить к развитию гиперактивности и повышенной тревожности, нарушений обучения и памяти [3]. В головном мозге крысят при гипоксии отмечено повышенное содержание транскрипционных факторов и сигнальных молекул, вызывающих провоспалительный ответ и апоптоз [2]. Показано, что в исследованиях как на культурах клеток, так и *in vivo* инертный газ аргон демонстрирует выраженные нейропротекторные свойства [5]. Увеличение выживаемости нейронов связывают с ингибированием избыточной активности системы врожденного иммунитета через рецепторы TLR-2 и -4, а также снижением экспрессии NF-κB [4]. Целью нашего исследования является проверка потенциальных терапевтических эффектов аргона в модели неонатальной гипоксии.

В работе использовали потомство ( $n = 100$ ) от 10 самок крыс стока Wistar. Половина потомства подверглась гипоксии (8% O<sub>2</sub> в течение 2-х часов) на 2-й постнатальный день (ПНД). Интактное и гипоксированное потомство разделяли на группы, которые получали ингаляции аргон-кислородной (74%/21%) или азот-кислородной смесью (O<sub>2</sub> – 21%) (3-10 ПНД). У потомства измеряли массу тела (5 и 11 ПНД). Оценивали реакцию поворота со спины, проявление двигательной и ориентировочной активностей (5 ПНД). Вестибуло-моторные реакции крысят фиксировали в тестах «Отрицательный геотаксис» и «Выход из круга» (11 ПНД). В дальнейшем с 26 по 32 ПНД с помощью тестов «Открытое поле с норками» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) проверяли уровень тревожности, локомоторную и исследовательскую активность. Способность к обучению на фоне пищевой депривации (45-51 ПНД) исследовали с помощью теста «Сложный пищевой лабиринт» (СПЛ). На 53 ПНД провели проверку пищевой мотивации.

У крысят после гипоксии наблюдалось значимое увеличение двигательной активности (5 ПНД), но при этом была отмечена тенденция к увеличению времени поворота со спины, что является показателем снижения качества координации движений. Кроме того, мы обнаружили явную тенденцию ( $p = 0,0537$ ) к увеличению времени выхода из круга у крысят, подвергшихся гипоксии. Эффекты ингаляций аргоном в раннем постнатальном периоде не были обнаружены.

В тесте ОП у крыс после гипоксии была обнаружена тенденция к увеличению числа заглядываний в норки. Ингаляции аргоном привели к увеличению локомоторной активности: статистически значимо на периферии и на уровне тенденции на всей арене. Данные животные проводили меньше времени в центре, однако количество заходов в данную зону между группами не различалось. Также ингаляции аргоном снизили количество актов дефекации на уровне тенденции, что является показателем меньшей эмоциональной напряженности.

В тесте ПКЛ гипоксированные крысы совершали меньше переходов между темным рукавом и центром лабиринта на уровне тенденции, что говорит о снижении исследовательской активности. Также у всех групп крыс наблюдалась отрицательная корреляция между временем пребывания в темном рукаве и числом заходов в этот рукав, то есть животные, посещавшие темный рукав реже, демонстрировали повышенный уровень тревожности. Значимого влияния ингаляций аргоном в данном тесте выявлено не было.

В тесте СПЛ все группы животных успешно научились добывать пищевое подкрепление к последнему дню тестирования. Однако животные после гипоксии совершали значимо больше ошибок на 2 день теста, что свидетельствует о различиях в динамике формирования пищедобывательного навыка. Отставленного эффекта ингаляций аргоном на способность к

обучению не было обнаружено. Анализ пищевой мотивации различий между группами не выявил.

Таким образом, гипоксия приводит к повышению несоординированной двигательной активности до 11 ПНД и отставленному усилению норкового рефлекса, повышению тревожности и ухудшению качества формирования навыка. Ингаляции аргоном повысили локомоторную активность позднем постнатальном периоде.

1. Greco P. et al. // Acta Neurologica Belgica. 2020. V.120. P.277-288.
2. Gutziet O. et al. // International journal of Molecular sciences. 2021. V.22. №.24. P.13629.
3. Sukhanova Iu. A. et al. // Behavioural Brain Research. 2018. T.350. P.87-98.
4. Ulbrich F. et al. // Journal of neurochemistry. 2016. P.138. №.6. P.859-873.
5. Ulbrich F., Goebel U. // International journal of Molecular sciences. 2016. P.17. №.11. P.1816.

## **СЕМАКС КАК ИНДУКТОР ПОИСКА ПЕПТИДНЫХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ**

**Долотов О.В.<sup>1,2</sup>, Марков Д.Д.<sup>2</sup>, Гривенников И.А.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва*

Разработанный в рамках сотрудничества Института молекулярной генетики РАН и кафедры физиологии человека и животных МГУ им. М.В. Ломоносова лекарственный препарат Семакс используется в клинической практике как нейропротекторное и улучшающее когнитивные функции средство. Гептапептид Семакс, не обладающий гормональной активностью, является аналогом фрагмента 4-10 адренотропного гормона (АКТГ), стабилизированного введением последовательности Pro-Gly-Pro в положения 8-10 фрагмента. Механизмы эффектов Семакса остаются недостаточно исследованными. Нами было показано, что Семакс при периферическом введении способен повышать в гиппокампе крысы уровни нейротрофического фактора мозга BDNF и экспрессию, и активацию его высокоаффинного рецептора trkB. BDNF является ключевым регулятором выживаемости нейронов и эффективности синаптической передачи, и активация системы BDNF/trkB может являться важным элементом осуществления нейропротекторной и ноотропной активности Семакса. Механизмы действия антидепрессантов также недостаточно понятны. Предполагается, что повышение уровня активации системы BDNF/trkB в гиппокампе играет ключевую роль в осуществлении антидепрессантных эффектов как классических антидепрессантов, так и антагониста NMDA-рецепторов кетамина [1]. Повышение уровней активации системы BDNF/trkB в гиппокампе при продолжительном применении антидепрессантов нормализует синаптическую передачу и нейрогенез в гиппокампе, что приводит к ослаблению симптомов депрессии. Система BDNF/trkB гиппокампа вовлечена также в регуляцию активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), гиперактивность и нарушенная саморегуляция которой наблюдаются при депрессии и нормализуются при успешной терапии антидепрессантами. Гипофизарный гормон АКТГ является ключевым участником ГГНО, стимулируя синтез и секрецию глюкокортикоидов корой надпочечников. Саморегуляция ГГНО осуществляется по механизму негативной обратной связи с участием не только глюкокортикоидов, но и АКТГ. Связывающие центры для АКТГ найдены на нервных терминалях срединного возвышения гипоталамуса, секретирующего кортиколиберин в портальные сосуды гипофиза. С этими центрами связывания связываются и N-концевые фрагменты АКТГ, такие как АКТГ4-10 и альфа-меланоцитстимулирующий гормон (α-МСГ), не обладающие кортикотропной активностью, но способные активировать ряд подтипов рецепторов АКТГ. Таким образом, для Семакса и его эндогенных аналогов можно предположить наличие антидепрессантоподобных эффектов. Для экспериментальной проверки этого предположения нами была использована широко применяемая для моделирования депрессии процедура непредсказуемого хронического стресса, включающая

воздействие на грызунов набора мягких стрессов [2]. Хроническое внутрибрюшинное введение крысам  $\alpha$ -МСГ, АКТГ (4-10), Семакса и аналога  $\alpha$ -МСГ/АКТГ (4-10) Меланотан II предотвращало у крыс развитие вызванной хроническим стрессом ангедонии (снижение способности к получению удовольствия), которая наряду с подавленным настроением является одним из двух основных симптомов депрессии. Введение этих пептидов также нормализовало набор массы тела, ослабляло гипертрофию надпочечников и предотвращало снижение уровня BDNF в гиппокампе [3]. Исходя из того, что депрессия часто связана с слабовыраженным системным воспалением, а N-концевые фрагменты АКТГ, как и антидепрессанты, проявляют противовоспалительную активность, нами были исследованы эффекты  $\alpha$ -МСГ и АКТГ (4-10) на депрессивноподобное поведение крыс, вызванное системным введением липополисахарида в низкой дозе. Пептиды ослабляли вызванную острым системным воспалением ангедонию, нормализовали экспрессию BDNF в гиппокампе и снижали воспалительный ответ и активность ГГНО. Таким образом, исследование механизмов эффектов Семакса позволило предположить антидепрессантоподобную активность этого пептида и его эндогенных и синтетических аналогов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности исследования АКТГ-зависимого пути саморегуляции активности ГГНО для разработки принципиально новых средств лечения и предотвращения связанных со стрессом патологий, в том числе, такой широко распространенной, как депрессия [4].

1. Correia A.S., Cardoso A., Vale N. // *Pharmaceutics*. 2023; 15 (8): 2081.
2. Willner P. // *Neurobiol. Stress*. 2016; 6: 78-93.
3. Markov D.D., Yatsenko K.A., Inozemtseva L.S. et al. // *Psychoneuroendocrinology*, 2017;82:173-186.
4. Markov D.D., Dolotov O.V., Grivennikov I.A. // *Int. J. Mol. Sci*. 2023; 24(7): 6664.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ NO-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ МОЗГОВОГО КРОВОТОКА ПРИ ГИПЕРКАПНИИ

Дружинина А.А.<sup>1,2</sup>, Богоцкой К.А.<sup>2,3</sup>, Тарасова О.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>3</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва

Одним из важных механизмов регуляции мозгового кровотока (МК) является реакция расширения сосудов головного мозга в ответ на повышение уровня CO<sub>2</sub> – гиперкапнию. Важную роль в увеличении МК при гиперкапнии играет оксид азота (NO), который в головном мозге синтезируется в эндотелии сосудов, нейронах [1] и астроцитах [3]. Было показано, что генетический нокаут или ингибирование NO-синтаз (NOS) приводит к снижению CO<sub>2</sub>-вызванной вазодилатации [2], однако до сих пор существуют разногласия, касающиеся роли конкретных изоформ NOS в этой реакции. Учитывая эти сведения, **целью** данной работы стало изучение роли различных изоформ NOS в регуляции МК при гиперкапнии у мышей. Мы исследовали изменения базального уровня МК и реакции МК на гиперкапнию при избирательном ингибировании эндотелиальной NOS (eNOS) и нейрональной NOS (nNOS), а также при ингибировании всех изоформ NOS. Так как скорость кровотока зависит от артериального давления (АД), мы также исследовали влияние ингибирования NOS на уровень АД.

Эксперименты проводили на наркотизированных (золетил+ксилазин, по 17 мг/кг) самцах мышей C57Bl/6J в возрасте от 8 до 13 недель. Регистрацию МК проводили в венах, расположенных на поверхности лобной и теменной зон коры больших полушарий, с помощью метода лазерной (780 нм) спекл-контрастной визуализации. С использованием специального алгоритма [4] определяли значения внутреннего диаметра сосудов и линейной скорости МК,

затем вычисляли объемную скорость МК. Гиперкапнию вызывали ингаляциями газовыми смесями с 5% и 10% CO<sub>2</sub>; гиперкапнические тесты проводили в отсутствие фармакологических воздействий и через 20 минут после внутрибрюшинного введения одного из ингибиторов NOS: (1) ингибитора nNOS 7-NI (50 мг/кг, персиковое масло, n=13); (2) ингибитора eNOS L-NIO (50 мг/кг, ф/р, n=6); (3) неселективного ингибитора NOS L-NAME (40 мг/кг, ф/р, n=5). Системное АД регистрировали через катетер в сонной артерии до и после внутрибрюшинного введения 7-NI (n=7) или L-NIO (n=7).

Ингибирование nNOS не приводило к изменениям показателей системной гемодинамики (АД и ЧСС), тогда как ингибирование eNOS приводило к достоверному повышению АД (на 12±4 мм рт. ст.), ЧСС при этом барорефлекторно снижалась. Ингибирование nNOS также не влияло на базальный уровень МК, а ингибирование eNOS, как и ингибирование всех NOS, приводило к его снижению. Вместе с тем повышение МК в ответ на 5% гиперкапнию уменьшалось при ингибировании nNOS и всех изоформ NOS, тогда как ингибирование eNOS не влияло на эту реакцию. Ни один из использованных ингибиторов NOS не оказывал влияния на реакцию повышения МК при ингаляции 10% CO<sub>2</sub>, это свидетельствует о том, что реакция вазодилатации в ответ на тяжелую гиперкапнию не связана с влиянием NO.

Мы можем заключить, что eNOS, которая преимущественно экспрессируется в эндотелии сосудов, играет важную роль в поддержании базального уровня МК и системного АД у мышей. При этом nNOS, которая преимущественно экспрессируется в нейронах, участвует в реакции повышения МК в ответ на умеренную гиперкапнию.

*Источник финансирования: проект РНФ № 23-15-00331.*

1. Gotti S., Sica M., Viglietti-Panzica C., Panzica G. // *Microsc. Res. Tech.* 2005. V. 68. № 1. P. 13–35.
2. Iadecola C., Zhang F. // *Am. J. Physiol.* 1994. V. 266. № 2. P. R546–R552.
3. Kourosch-Arami M., Hosseini N., Mohsenzadegan M., et al. // *Rev. Neurosci.* 2020. V. 31. № 6. P. 617–636.
4. Postnov D.D., Tuchin V. V., Sosnovtseva O. // *Biomed. Opt. Express.* 2016. V. 7. №7. P. 2759.

## **ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СЕЗОННЫХ КОЛЕБАНИЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИОКАРДА ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЯ И ВЕРХНЕЙ ПОЛОЙ ВЕНЫ К МЕХАНИЧЕСКОМУ РАСТЯЖЕНИЮ**

Егоров Ю.В.

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, Москва*

Многолетний клинический мониторинг, а также ретроспективные исследования, проведенные в Австралии, Японии, США, Британии, а также в РФ продемонстрировали увеличение госпитализаций, связанных с нарушениями сердечного ритма в зимнее время на 20-50%. В большинстве работ, касающихся сезонного колебания распространенности аритмий (СКРА) делается заключение что, данный феномен связан с негативным влиянием окружающей среды. Тем не менее, установлено, что риск СКРА повышается независимо от респираторных сезонных эпидемий. Известно, что связанные с акклиматизацией сезонные долговременные перестройки метаболизма, липидного обмена, функционирования эндокринной системы характерны не только для большинства млекопитающих животных, но и для человека. Однако, до сих пор остается неизвестным, в какой степени сезонные акклиматизационные перестройки затрагивают сердечно-сосудистую систему; происходит ли изменение биоэлектрических свойств суправентрикулярного миокарда у незимоспящих животных, способствующее повышению уязвимости сердца к аритмиям.

**Цель работы:** изучить долговременные сезонные изменения электрофизиологических параметров, а также механочувствительность миокарда правого предсердия и верхней полой вены.

Эксперименты проводили с использованием тканевых изолированных препаратов крыс стока Wistar ( $400 \pm 50$  г,  $n=27$ ), а также спонтанно-гипертензивных крыс стока SHR (САД: 180-220 мм рт. ст.,  $300 \pm 50$  г,  $n=7$ ), полученных от животных в летний (май-август) («летние») и осенне-зимний (сентябрь-апрель) («зимние») период и включающих правое предсердие, синоатриальный узел (САУ), устье и дистальную часть верхней полой вены (ДПВ). Не менее, чем 1 мес перед экспериментами всех животных содержали в условиях GLP-вивария при минимализации воздействия стрессовых факторов, при стандартной диете, доступе к пище и воде *ad libidum*.

С помощью техники многоканальных микроэлектродных отведений проводили одновременную регистрацию потенциалов действия (ПД) в предсердии и ДПВ.

В отсутствие растяжения значимых различий величине ПП, длительности и амплитуде ПД в предсердном миокарде «летних», «зимних» группах крыс Wistar, либо SHR выявлено не было. Во всех группах растяжение приводило к возникновению блоков проведения при распространении возбуждения из предсердия в миокард верхней полой вены. Однако, у крыс Wistar в осенне-зимний период блоки проведения возникали при значимо большем растяжении ( $3,7 \pm 0,4$  г,  $n=16$ ), чем в летний период ( $1,8 \pm 0,2$  г,  $n=11$ ,  $p < 0,005$ ). У крыс SHR даже в зимнее время блоки проведения возникали при растяжении не превышающем 1 г ( $0,5 \pm 0,1$  г,  $n=7$ ).

Подача Ацетилхолина (Ацх, 1  $\mu$ М, 15 мин) без растяжения препарата приводила к замедлению спонтанного «ритма» тканевых препаратов: при действии Ацх наблюдали увеличение периода между спонтанными ПД, возникающими в САУ. Отрицательный хронотропный эффект АЦХ достоверно не различался у «летних» и «зимних» групп крыс Wistar ( $12 \pm 1\%$  и  $16 \pm 3\%$ ,  $n=27$  соответственно). У крыс SHR вышеуказанный эффект Ацх значимо сильнее, чем у «зимних» и «летних» крыс Wistar ( $61 \pm 10\%$ ,  $n=7$ ).

Растяжение препарата в 1,5гр приводило к увеличению синусового ритма в группах «зимних» и «летних» крыс Wistar. При этом была достоверная разница между «зимними» и «летними» крысами: период уменьшался на  $-8 \pm 2\%$  и  $-18 \pm 2\%$  от контроля соответственно ( $p < 0,05$ ). В отличие от нормотензивных крыс, у гипертонических крыс при растяжении в 0,5гр ритм сердца уменьшался, соответственно период увеличивался на  $20 \pm 9\%$  от контроля ( $p < 0,01$ ).

Одновременно воздействие растяжения и Ацх у SHR подавляли синусовый ритм в 7 из 7 случаев, у летних крыс в 5 из 6 случаев. В то же время у зимних крыс при воздействии Ацх и растяжения синусовый ритм замедлялся на  $7 \pm 4\%$ .

Впервые выявлено сезонное долговременное изменение механочувствительности, а также чувствительности к холинергическим влияниям в суправентрикулярном миокарде сердца незимоспящих животных. Установлено, что крысы SHR демонстрируют гораздо большую чувствительность к механоиндуцированным блокам проведения возбуждения, чем крысы стока Wistar.

Продемонстрировано, что растяжение и время года сильно влияет на синусовый ритм при действии Ацх. Зимние крысы имеют наибольшую устойчивость синусного ритма при воздействии растяжения и Ацх. У летних крыс растяжение и Ацх вызывали остановку синусного ритма (в 5 из 6 случаев) у крыс SHR в 100% случаев (7 из 7).

Сезонные изменения биоэлектрических свойств суправентрикулярного миокарда при механических и холинергических воздействиях могут лежать в основе СКРА, наблюдаемого в человеческой популяции.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *IN VITRO***

Зайцев А.В., Проскурина Е.Ю., Трофимова А.М., Постникова Т.Ю., Ергина Ю.Л.,  
Амахин Д.В.

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

По оценкам ВОЗ, около 50 млн человек страдает эпилепсией, при этом несмотря на успехи в разработке новых противоэпилептических препаратов, припадки не удается полностью контролировать почти у трети пациентов. Одним из перспективных подходов к лечению эпилепсии может стать генная терапия и использование оптогенетического подхода. Поскольку эпилептическая активность вызвана дисбалансом между возбуждением и торможением, исследователи в первую очередь сосредоточились на регулировании возбудимости нейронов. Оптогенетика использует свет для изменения возбудимости определенных популяций нейронов и может также использоваться в парадигме биологической обратной связи, в которой источник света активируется только при риске возникновения судорожной активности. В настоящее время разработан целый ряд оптогенетических инструментов, включающий светоактивируемые катионные (например, ChR2) и анионные каналы (ACR), метаболитные рецепторы, помпы (NpHR, Arch) и ферменты.

В данном докладе рассматривается опыт практического применения оптогенетических инструментов при использовании 4-аминопиридиновой *in vitro* модели эпилептиформной активности в переживающих срезах энторинальной коры. Мы проверили эффективность подавления иктальной активности с помощью нескольких вариантов оптогенетической стимуляции: (1) активации возбуждающих и тормозных нейронов (на мышцах Thy1-ChR2-YFP), (2) активации только тормозных интернейронов (на мышцах PV-Cre после инъекции вируса с геном каналородопсина-2), гиперполяризации возбуждающих нейронов после экспрессии (3) археродопсина или (4) светозависимой натриевой помпы. Мы выявили, что иктальная активность успешно подавлялась, когда низкочастотная оптогенетическая стимуляция вызывала регулярную интериктальную активность. Обычно интериктальная активность запускалась при ритмической синхронной активации главных нейронов энторинальной коры. В остальных случаях иктальная активность сохранялась, хотя ее свойства могли изменяться. Нами определены параметры оптогенетической стимуляции, которые оказались наиболее эффективными для подавления иктальной активности.

Наличие широкого спектра подходов генной терапии эпилепсии, продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях, позволяет предположить, что клинические испытания некоторых из этих подходов начнутся в ближайшие несколько лет.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00427).*

## **ВЛИЯНИЕ DHPR НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ, $Ca^{2+}$ МЕТАБОЛИЗМ И МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ**

Заринова К.А., Шарло К.А., Тыганов С.А., Сидоренко Д.А., Немировская Т.Л.  
*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

Дигидропиридиновые рецепторы (DHPR) участвуют в изменении мембранного потенциала при мышечной разгрузке [1,2,3]. Мы использовали нифедипин, производное дигидропиридина и антагонист  $Ca^{2+}$ , для изучения роли  $Ca^{2+}$  каналов L-типа (Cav1.1, DHPR). Самцов крыс разделили на 3 группы (n=8 в каждой): виварный контроль с плацебо (С), 3-дневное вывешивание задних конечностей с плацебо (HS) и 3-дневное вывешивание задних конечностей с внутривнутренним введением нифедипина (N).

Было установлено, что введение нифедипина во время вывешивания предотвращает: 1) накопление АТФ; 2) снижение максимальной силы одиночного сокращения и времени сокращения; 3) увеличение содержания митохондриального и миоплазматического кальция. Таким образом, DHPR участвуют в энергетическом и  $Ca^{2+}$  обмене и влияет на функциональные свойства мышц.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда № 24-15-00088*

1. Jorquera, G. et al. // J. Cell Sci. (2013). doi: 10.1242/jcs.116855
2. Kravtsova, V.V. et al. // BioMed Research International (2015).
3. Kravtsova V.V. et al. // J. Gen. Physiol. (2016).

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КИБЕРСПОРТА: ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВИРТУАЛЬНЫХ ИГР НА ОРГАНИЗМ**

Зверев А.А., Сабиров Т. В., Гончаренко Д. И.

*Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, г. Казань, Россия*

Киберспорт — это категория соревновательных видеоигр. Важнейшей мотивацией киберспортсмена является победа над противником. Киберспорт в настоящее время считается самым быстрорастущим сектором современных спортивных «индустрий». Учитывая современные технологии, киберспорт и цифровые игры воспринимается как очень популярное занятие среди детей и молодежи. Длительное бездействие в неправильных позах во время цифровых игр приводит к различным повреждениям осанки, их сердечно-сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата. Также показано, что у игроков, занимающихся киберспортом, наблюдаются боли в суставах, головная боль, проблемы со сном и зрением [1]. Согласно современным литературным данным показано, что, вопреки всем медицинским последствиям, киберспортсмены, которые считаются физически неактивными, сидя, тратят примерно на 40% больше энергии, чем в сидячем положении, не играя в игры, даже на любительском уровне [2]. В киберспорте одна игра может продолжаться до 3 часов, в течение которых на игрока оказываются, как умственные, так и физические нагрузки. Изучение динамики показателей частоты сердечных сокращений при выполнении действий во время игры оказывали как положительную, так и отрицательную динамику с результативностью в игре. Во время игры большая нагрузка оказывается на ведущую руку, в которой они держат мышку. Естественно, что при такой нагрузке повышается активность симпатической нервной системы и вследствие наблюдаются гемодинамические изменения. У спортсменов в результате такой нагрузке изменяется, как ритм работы сердца, так и давление, что естественно ведет к изменениям амплитудно-временных характеристик ЭКГ. **Целью** нашего исследования явилось изучение всех основных показателей ЭКГ киберспортсменов во время игровой деятельности.

В исследовании приняли участие 15 киберспортсменов занимающиеся киберспортом в дисциплине DOTA 2 (Defense Of The Ancients 2). В ходе функционального исследования мы измеряли амплитудно-временные изменения ЭКГ, пульсовую волну и активность симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы во время игры. Производилась регистрация электрокардиограммы в 1 и 2 отведении покое в положении сидя, на установке PowerLab с помощью пакета программного обеспечения Lab Chart Pro (ADInstruments, Австралия). Пульсовую волну и ЭКГ обрабатывали с помощью встроенного модуля анализа ЭКГ, модуля анализа HRV и Peak Analysis в программном обеспечении LabChartPro.

В данном исследовании представлены показатели спортсменов, играющих на позиции поддержка. Частота сердечных сокращений во время игры изменялась с  $65.2 \pm 12.6$  до  $139.9 \pm 26.4$ . Средние показатели составила  $105.5 \pm 18.9$ . Во время игры у киберспортсменов

резко меняются амплитудно-временные показатели ЭКГ. Наиболее резкие изменения фиксируются во временных показателях. Так длительность зубца Р, как увеличивалась в наиболее сложные моменты игры на 89%, так и уменьшалась до 59%. Данные изменения сопровождалось увеличением быстрых высокочастотных волн и уменьшением основных показателей пульсовой волны. QRS комплекс также резко уменьшается (20%) в сложных игровых ситуациях, но быстро восстанавливается, иногда даже быстрее чем RR интервал.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного Фонда и Академии наук Республики Татарстан по проекту №24-25-20144.*

1. Boudard M., Alexandre J.M., Kervran C., et al. // J Med Internet Res. 2022 Jul 27; 24(7): e31803.
2. Leis O., F. Lautenbach. // Psychol. Sport Exerc. (2020), p. 101738

## **ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ БЛОКАДЫ If ТОКОВ НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫС НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА**

Купцова А.М., Иванова Т.С., Зиятдинова Н.И., Зефирова Т.Л.  
*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань*

Инфаркт миокарда (ИМ) и связанные с ним осложнения (желудочковые аритмии, развитие хронической сердечной недостаточности, кардиомиопатия), являются причиной значительной заболеваемости, инвалидизации и смертности людей во всем мире. ИМ запускает сложный патофизиологический процесс, который повреждает кардиомиоциты, коронарные сосуды. Частота сердечных сокращений (ЧСС) является одним из определяющих факторов клинических исходов ИМ, а ее снижение может быть полезной из-за тесной связи между ЧСС, коронарным кровотоком и сократительной функцией сердца. Ток, активируемый гиперполяризацией (If) является привлекательной мишенью в контроле ЧСС в норме и патологических состояниях (2). При сердечной недостаточности, гипертрофии желудочков и ИМ уровень If повышается (4). Исследования на моделях после ИМ показали, что пероральное введение блокатора If привело к снижению ЧСС, уменьшению фиброза, улучшению систолической функции и коронарной перфузии у крыс, путем модификации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (3). В исследовании на изолированном сердце с моделью острейшего ИМ блокада If уменьшала инотропию, хронотропию и коронарный поток (1). Несмотря на значительное количество данных, свидетельствующих об участии If в сердце с патологическими изменениями, роль данных токов в механизмах развития ИМ на разных стадиях его формирования остается невыясненной.

**Цель исследования** - изучить влияние блокады токов, активируемых гиперполяризацией на ЧСС изолированного сердца крыс на разных стадиях экспериментального инфаркта миокарда.

Экспериментальный ИМ воспроизводили путем наложения лигатуры на левую нисходящую коронарную артерию. В эксперименте использовано 6 групп животных: здоровые крысы (контроль), крысы на стадии острейшего ИМ (20 минут после операции), острого ИМ (через 1 сутки), подострого ИМ (через 10 дней), рубцовой стадии ИМ (через 54 дня), стадии отдаленных последствий ИМ (через 120 дней). ЧСС изучали в экспериментах на изолированном по Лангендорфу сердце крыс. Электрограмму сердца регистрировали с помощью атравматических электродов. Для блокады If использовали препарат ZD7288 (Sigma) в концентрации  $10^{-9}$  и  $10^{-5}$  Моль.

В группе здоровых животных блокатор If ( $10^{-9}$  М) уменьшал ЧСС на 19% ( $p < 0.001$ ), у крыс с острейшим ИМ - на 15% ( $p < 0.001$ ). У животных с острым и подострым ИМ при блокаде If ЧСС уменьшалась на 20% ( $p < 0.05$ ) и 17% ( $p < 0.05$ ), соответственно. В рубцовой стадии ИМ наблюдалось наиболее выраженное снижение ЧСС - на 32% ( $p < 0.05$ ). На стадии отдаленных последствий наблюдали минимальное уменьшение ЧСС на 6% ( $p < 0.05$ ).

При блокаде If препаратом ZD7288 в концентрации  $10^{-5}$  М у здоровых животных ЧСС уменьшилась на 20% ( $p < 0.01$ ). В острой стадии ИМ ZD7288 снижал ЧСС на 49% ( $p < 0.01$ ), от исходного значения. В группе с подострым ИМ блокада If приводила к урежению сердечной деятельности на 45% ( $p < 0.001$ ). Максимальная брадикардия на 62% ( $p < 0.001$ ) наблюдалась в рубцовой стадии ИМ, на стадии отдаленных последствий ЧСС уменьшалась на 13% ( $p < 0.05$ ).

Таким образом, в исследовании на изолированных сердцах крыс на разных стадиях экспериментального ИМ блокада If приводила к снижению ЧСС во всех экспериментальных группах животных, в исследуемых концентрациях препарата. Максимальные эффекты влияния блокады If выявлены на стадии рубцовых изменений ИМ. Возможно, полученная динамика выраженности наблюдаемых эффектов при блокаде If на разных стадиях экспериментального ИМ связана с изменением плотности и активности HCN каналов в ишемизированном миокарде.

1. Купцова А.М., Бугров Р.К., Зиятдинова Н.И., Зефилов Т.Л. // Ульяновский медико-биологический журнал. 2022. Т. 3, С. 106–119.
2. Sartiani L., Mannaioni G., Masi A. // Pharmacol Rev. 2017. Vol. 69. P. 354–395.
3. Sripusanapan A., Yanpiset P., Sriwichaiin S. et al. // Acta Physiol. 2024. 240:e14085.
4. Rivolta I., Binda A., Masi A. & DiFrancesco J.C. // Eur J Physiology. 2020. Vol. 472. P. 931–951.

## **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ СТИМУЛЯЦИИ $\alpha_1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕДСЕРДНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС**

Мансур Н., Зефилов Т.Л., Зиятдинова Н.И.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань*

В последние годы достигнуты значительные успехи в понимании молекулярных свойств и функциональных последствий подтипов  $\alpha_1$ -адренорецепторов ( $\alpha_1$ -АР), полученных как в *in vitro*, так и в *in vivo* исследованиях. Недавние исследования подчеркнули ключевую роль  $\alpha_1$ -адренергических рецепторов в поддержании сердечной функции. (Cotecchia, 2010). Активация  $\alpha_1$ -АР инициирует несколько внутриклеточных сигнальных путей, которые включают связывание с G-белками семейства  $G_q/11$ , за которым следует активация фосфолипазы  $C\beta$  (PLC $\beta$ ) (Hein & Michel, 2007). Метоксамин является известным агонистом  $\alpha_1$ -АР, клинически используемым в качестве более устойчивого аналога адреналина (Kohutova et al., 2023). У новорожденных крыс агонист  $\alpha_1$ -АР метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия как при навязанном, так и при собственном ритме (Mansour et al., 2023). Напротив, у взрослых крыс метоксамин проявлял двойное влияние на длительность реполяризации, он увеличивал длительность при навязанном ритме, в то время как при собственном ритме наблюдалось ее уменьшение (Mansour et al., 2023).

**Целью** нашего исследования было углубленное изучение влияния стимуляции  $\alpha_1$ -АР метоксамином на частоту спонтанной активности и параметры электрической активности миокарда предсердий с сохраненным синусовым узлом у крыс разных возрастов.

Исследование проводилось на 7-, 21- и 100-дневных белых крысах с использованием микроэлектродной техники. Готовили препарат предсердного миокарда с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью. Препарат погружали в специальный резервуар «Тирод». Внутриклеточный потенциал действия и электрическую активность кардиомиоцитов регистрировали через стеклянные микроэлектроды с сопротивлением 25–60 М $\Omega$  и диаметр кончика  $< 1$  мкм. Обработка результатов проводилась программой Elph 3.0. Проводили проверку выборки на нормальное распределение. Статистическая обработка

проводилась с помощью One Way ANOVA. Влияние агониста  $\alpha_1$ -АР метоксамина исследовалось в концентрации  $10^{-8}$  М.

Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М у новорожденных крысят увеличивал частоту спонтанной активности на 42.3% ( $p < 0.05$ ). При этом агонист увеличивал длительность потенциала действия при ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub> на 44% ( $p < 0.05$ ), 40% ( $p < 0.05$ ) и 27% ( $p < 0.05$ ) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации, значения амплитуды потенциала действия и мембранного потенциала не изменялась.

Метоксамин ( $10^{-8}$  М) у 21-дневных крыс увеличивал частоту спонтанной активности на 24.5 % ( $p < 0.05$ ). При этом агонист не влиял на мембранный потенциал и амплитуду ПД и длительность фазы деполяризации. Длительность ПД при ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub> уменьшалась на 16.8 % ( $p < 0.01$ ), 13.7 % ( $p < 0.05$ ) и 13 % ( $p < 0.05$ ) соответственно.

Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М у 100-дневных крыс увеличивал частоту спонтанной активности на 10.2% ( $p < 0.05$ ). При этом метоксамин уменьшал длительность ПД при ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub> на 27.3% ( $p < 0.05$ ), 23.2% ( $p < 0.05$ ) и 16.2% ( $p < 0.05$ ) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации, значения амплитуды потенциала действия и мембранного потенциала не изменялась.

Нами показано, что влияние стимуляции  $\alpha_1$ -АР метоксамином на электрическую активность миокарда предсердий у крыс разного возраста имеет существенные особенности. Результаты проведенных исследований показали, что стимуляция  $\alpha_1$ -адренорецепторов более всего увеличивала частоту генерации потенциала действия у новорожденных крыс. Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М увеличивал длительность реполяризации потенциала действия у новорожденных крыс, в то время как у взрослых крыс он ее уменьшал. Дефицит симпатических регуляторных влияний в связи с отсутствием адренергической иннервации автоматически приводит к изменению чувствительности адренорецепторов к катехоламинам, что может вызывать иные адренергические ответы, по сравнению со взрослыми животными. Наблюдаемые нами особенности реакции электрической активности кардиомиоцитов у животных разного возраста отражают молекулярные клеточные особенности миокарда предсердий на разных этапах формирования вегетативной регуляции сердца.

1. Cotecchia S. // Recept Signal Transduct Res. 2010. V.30. P. 410–419.
2. Hein P. & Michel M.C. // Biochem Pharmacol. 2007. V.73. P.1097–1106.
3. Kohutova A., Münzova D., Peřl M. et al. // Acta Pharm. 2023. V.73. P.281-291.
4. Mansour N., Ziyatdinova N.I., Gallieva A.M. et al. // Biophysics (Russian Federation). 3023. V.68. P.607–611.
5. Mansour N., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. // Opera Med Physiol. 2023. V.10 P.59–64.

## **ГИПЕР- И МИКРОГРАВИТАЦИЯ МЕНЯЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕХАНОУПРАВЛЯЕМЫХ ТОКОВ К РАСТЯЖЕНИЮ У КАРДИОМИОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА КРЫС ЗА СЧЕТ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ ЭТИХ КАНАЛОВ И СИНТЕЗА КАНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ**

**Золотарев В.И., Золотарева А.Д., Камкина О.В.**

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

Гипер- и микрогравитация оказывает значительное влияние как на структуру, так и на функцию сердца [1]. Однако на сегодняшний день отсутствуют данные о механизмах влияния этих факторов на электрофизиологическую активность клеток сердца, и, в частности, на механоуправляемые каналы и, как следствие, на эффективность механоэлектрической обратной связи, осуществляющей регуляцию работы сердца. В данной работе нами впервые показано изменение уровня экспрессии генов механоуправляемых и механосенситивных каналов кардиомиоцитов, и исследовано, в качестве примера, изменение количества

канального белка TRPM7 под влиянием гипер- и микрогравитации. Также было показано увеличение чувствительности дифференциального механоуправляемого тока ( $I_{SAC}$ ) к растяжению, выражающиеся в увеличение его амплитуды под действием гипергравитации, и значительное уменьшение  $I_{SAC}$  в ответ на растяжение при действии микрогравитации.

Гипергравитация в 4g для крыс моделировалась при помощи специально разработанной центрифуги. Крысы подвергались ее воздействию на протяжении 14 дней по 8 часов. Микрогравитация моделировалась стандартным методом tail suspension – разгрузки задних конечностей грызунов [2], которой подвергались крысы на протяжении 10 дней. Эксперименты проводили на изолированных кардиомиоцитах желудочков сердца крыс, полученных по методу Лангендорфа. Изучение транскриптома осуществлялось методом секвенирования мРНК и нормализацией транскриптов на миллион килобаз (TPM). Измерение содержания белка в клетке проводилось методом Western Blot. Запись токов проводилась методом patch-clamp в режиме voltage-clamp в конфигурации whole-cell. Растяжение клеток – с помощью локального осевого растяжения оплавленной patch-пипеткой.

Анализ экспрессии мРНК белков показал, что в ответ на гипергравитацию более чем на 100% увеличилось количество транскриптов катион-неселективных механоуправляемых каналов TRPC3, TRPV1 и TRPM7 и  $K^+$ -канала TRAAK, при этом количество транскриптов катион-неселективных каналов TRPV2, TRPA1 и Piezo2 несколько уменьшилась. Так же более чем на 100% увеличилось количество транскриптов механочувствительных каналов Cav1.2, Cav1.3 и Kv3.2. Микрогравитация уменьшила количество транскриптов катион-неселективных механоуправляемых каналов TRPM7, TRPC3, TRPC4, TRPV2, PKD и Piezo2 и увеличила более чем на 100% TRPM5, TRPM4, TRPC2 и TMEM63B. Также более чем на 100% увеличилось количество транскриптов механосенситивных каналов Nav1.5, TASK-1 и Kv7.1. Микрогравитация вызвала снижение содержания белка канала TRPM7 в клетке, а гипергравитация не вызвала значимых изменений его количества. Вероятно, именно эти изменения количества уровня экспрессии мРНК канальных белков и изменение их количества лежат в основе изменения  $I_{SAC}$ , однако вклад каждого конкретного канала еще предстоит выяснить. Гипергравитация увеличивала чувствительность клетки к растяжению, так  $I_{SAC}$  возникал при значительно меньших величинах растяжения, чем в интактной клетке (1 мкм против 6 мкм). Также значительно увеличились и величины  $I_{SAC}$  при равных степенях растяжения (от 1 до 10 мкм) для интактной клетки и клетки, подвергшейся действию гипергравитации. Микрогравитация, напротив, значимо уменьшает  $I_{SAC}$  для всех величин растяжения кардиомиоцита вплоть до 10 мкм.

Таким образом, анализ мРНК-ридов показал, что экспрессия генов различных механоуправляемых и механосенситивных каналов меняется разнонаправленно после воздействия как гипер-, так и микрогравитации на животное. Микрогравитация уменьшает количество белка канала TRPM7 в клетке, а гипергравитация не изменяет его количество. Вероятно, именно эти изменения уровня транскрипции генов и изменения количества белка, наряду с возможными перестройками в системах вторичных мессенджеров, играют роль в том, что гипергравитация вызывает усиление чувствительности механоуправляемых и механосенситивных токов к растяжению, а микрогравитация, напротив, ведет к резкому ее ослаблению.

1. Liu C, Zhong G, Zhou Y, et al. // Cell Proliferation. 2020 Mar; 53(3): e12783.
2. Morey-Holton ER, Globus RK. // Journal of applied physiology. 2002 Apr 1; 92(4): 1367-77.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НЕГЛЕКТА И ГЕМИАНОПСИИ ПРИ ПЕРИМЕТРИИ С ПОМОЩЬЮ АЙТРЕКИНГА. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Зыбин М.А.<sup>1,2</sup> Шурупова М.А.<sup>1,2</sup> Латанов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва

Зрительно-моторные нарушения, такие как односторонний пространственный неглект и гомонимная гемианопсия, являются одними из наиболее часто встречающихся неврологических расстройств<sup>1</sup>, возникающих после поражения одного из полушарий головного мозга. Несмотря на внешнее сходство симптомов, эти состояния существенно различаются по механизму возникновения<sup>2</sup> и пораженным областям мозга. Неглект связан с нарушением внимания к пространству<sup>2</sup>, тогда как гемианопсия — это выпадение полей зрения<sup>3,4,5</sup> в результате повреждения зрительных путей. Из-за подобной симптоматики требуется тщательная дифференциальная диагностика для точного определения заболевания. Целью данного исследования является разработка новой парадигмы для дифференциальной диагностики неглекта и гемианопсии.

Предполагается, что у пациентов с неглектом результаты будут варьироваться в зависимости от направления движения стимула: от центра к периферии или от периферии к центру. Для пациентов с гемианопсией такой разницы быть не должно. Также ожидается, что у пациентов с неглектом будет наблюдаться большее количество произвольных саккад при предъявлении периферического стимула.

У пациентов с гемианопсией не предполагается разницы в периметрии от центра к периферии и от периферии к центру, так как они осознают границы своего поля зрения и реагируют одинаково. При неглекте предполагается разница, потому что пациенты игнорируют часть пространства (обычно левую), и им сложнее воспринимать стимулы, когда исследование идет от периферии к центру из-за неспособности осознавать границы зрительного поля. Таким образом, когда они начинают от центра к периферии, предполагается меньшее количество упущенных стимулов.

**Целью** данного исследования является разработка простого и надежного метода, который позволит с высокой точностью дифференцировать неглект и гемианопсию. Такой метод удобен в применении в клинической практике для минимизации необходимости использования сложного оборудования и обеспечить высокую степень надежности и воспроизводимости результатов.

В исследовании будут участвовать пациенты, которым предварительно поставлен нейропсихологом диагноз неглект или неврологом - гемианопсия. Предполагаемая выборка - 32 человека, две группы - контрольная и экспериментальная, каждая по 16 человек. Экспериментальная группа набирается в федеральном центре мозга и нейротехнологий ФМБА России. Экспериментальная группа будет состоять из 8ми пациентов с гемианопсией и 8ми пациентов с неглектом. Критерии включения: возраст - от 18ти до 70ти лет, правополушарный инсульт, поражение зрительных полей, ранний восстановительный период, подписанное информированное согласие. Исключение: сильные нарушения зрения. Для оценки состояния пациентов будет проводится батарея тестов ВТ, включающая Bells Test, Line Crossing, Line Bisection Test и Apple Test в компьютеризированной форме. Основная экспериментальная задача - оценка качества периферического зрения с регистрацией моторного ответа. Пациенту на экране предъявляется точка фиксации в центре на черном фоне, а затем на этом же фоне появлялся стимул в периферической зоне, который медленно перемещается либо от периферии к центру, либо наоборот - от центра к периферии. Размер стимула и точки фиксации - 1 зрительный градус. Время экспозиции точки фиксации варьируется от 700 до 1500 мс для избежания механического научения. Время экспозиции периферического стимула - 1000мс. Перед каждым стимулом отдельно предъявляется точка фиксации. В 15% случаев вместо периферического стимула увеличивается точка фиксации для контроля фиксации взгляда в течение 1000мс. Пациенту предлагается не отводить взгляд

от центральной точки фиксации, а в случае обнаружения периферического стимула нажимать кнопку, регистрируя моторный ответ. При контроле фиксации от пациента тоже требуется давать моторный ответ.

Во время выполнения задания используется методика айтрекинга для регистрации произвольных саккад и фиксаций взгляда. Согласно инструкции, пациент должен постоянно удерживать взгляд на центральной точке фиксации. Айтрекинг обеспечивает контроль за тем, чтобы пациенты не смещали взгляд на периферический стимул, а продолжали фиксировать внимание на центральной точке, расположенной в середине экрана.

Для регистрации моторного ответа нами была разработана программа, которая синхронизируется с программой предъявления стимулов и айтрекинга, что позволяет нам оценивать скорость реакции моторного ответа.

Несмотря на схожесть симптомов, неглект и гемианопсия отличаются по механизмам возникновения и пораженным участкам мозга. Неглект связан с нарушением внимания, тогда как гемианопсия вызвана повреждением зрительных путей. Это требует дифференциальной диагностики для точного определения расстройства. У пациентов с неглектом ожидаются вариации в реакции в зависимости от направления движения стимула (от центра к периферии и обратно). У пациентов с гемианопсией такой разницы не предполагается, поскольку они осознают свои границы поля зрения и реагируют одинаково в обеих ситуациях. Айтрекинг и моторный ответ призваны подтвердить и усилить надежность результатов.

1. Шурупова М.А., Айзенштейн А.Д., Иванова Г.Е. // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2022 Т. 4, № 4. 223–237.
2. Müller-Oehring E.M., Kasten E., Poggel D.A., et al. // J Clin Exp Neuropsychol. 2003 Vol. 25, N 8. P. 1154–1168.
3. Shurupova M., Lizunkova K., Aizenshtein A., et al. // J Eye Movement Res. 2022. Vol. 15
5. Kerkhoff G. // Prog Neurobiol. 2001 Jan; 63(1): 1-27.
6. Kaufmann B.C., Cazzoli D., Pflughaupt T., et al. // Cortex. 2020. Vol. 129 P. 223–235.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫСЯТ, ВЫЗВАННЫЕ ПОТРЕБЛЕНИЕМ АЛКОГОЛЯ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ КРЫС**

Игнатова П.Д.<sup>1</sup>, Суханова Д.Д.<sup>1</sup>, Ереско С.О.<sup>1,2</sup>, Айрапетов М.И.<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup>*Университет ИТМО, Санкт-Петербург*

<sup>3</sup>*Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург*

Потребление алкоголя в период беременности является одним из важнейших факторов антенатальной патологии, в том числе приводит к развитию метального алкогольного спектра нарушений (ФАСН). Одним из предполагаемых механизмов его возникновения являются изменения в нейроиммунных процессах головного мозга, проявляющиеся в изменении содержания про- и противовоспалительных цитокинов в головном мозге плода. Рифампицин снижает уровень нейровоспаления при различных патологических состояниях ЦНС, что характеризуется снижением уровня содержания медиаторов воспаления, включая провоспалительные цитокины. Поэтому в данной работе мы рассмотрели влияние рифампицина на содержание мРНК цитокинов в мозге крысят на модели пренатального воздействия алкоголя (ПВА).

**Цель исследования:** оценить влияние рифампицина (50 мг/кг) на содержание мРНК цитокинов в головном мозге крысят с ПВА на 8-е сут. постнатального развития.

Моделирование ПВА осуществлялось посредством полупринудительного потребления самками крыс 15%-го раствора этанола со 2-ой недели беременности до окончания. Далее полученному потомству на протяжении семи суток (с 1-го по 7-ой постнатальный день) были выполнены инъекции физ. р-ра (n=4) и рифампицина (n=7, 50 мг/кг). Всего 7 инъекций.

Контрольной группе крысят (n=6, без ПВА) были выполнены инъекции физ. р-ра. Образцы префронтальной коры головного мозга выделялись на 8-е сутки постнатального развития. Суммарная РНК получена с помощью Extract RNA (Евроген, РФ). ОТ выполнена посредством «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). Реал-тайм ПЦР проводили в 10 мкл смеси, содержащей SYBR Green MIX (Евроген, РФ), смесь праймеров (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом 2ΔΔСТ и статистически обработаны. В качестве критерия достоверности использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты эксперимента показали наличие тенденции к повышению уровня мРНК ряда про- и противовоспалительных цитокинов (IL1β, CCL2, TNFα, IL6, IL10, IL13, TGFβ) во фронтальной коре головного мозга крысят С ПВА на на 8-ые сутки постнатального развития. Особо значимое повышение обнаружено для уровня мРНК IL10 (в 4, 15 раза, p<0.05). Ряд полученных сведений согласуется с данными других исследователей. Инъекции рифампицина (50 мг/кг) снизили уровень мРНК IL1β (в 1,44 раза), CCL2 (в 1,95 раза), TNFα (в 1,4 раза), IL6 (в 1,48 раза), IL10 (в 2,65 раза). На содержание мРНК IL13, TGFβ инъекции рифампицина не оказали значимого влияния.

ПВА приводит к изменению, а также к повышению уровня мРНК цитокинов во фронтальной коре головного мозга крысят на 8-ые сутки постнатального развития. Рифампицин способен вносить изменения в наблюдаемые патофизиологические изменения, а учитывая его способность проникать через ГЭБ препарат представляется перспективным фармакологическим агентом для коррекции патологических изменений в ЦНС.

1. Айрапетов М. И. и др. //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2015. Т. 13. №. 2. С. 10-13.
2. Айрапетов М.И. и др. // Биомедицинская химия. 2022. V. 68(4). P. 279-287
3. Зиматкин С. М. // С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь. Минск, 2014. 207 с. 3.
4. Parker J. et al. // Neuroscience letters. 2019. Т. 699. С. 195-198.
5. Qin, Liya et al. // International journal of molecular sciences. 2021. V. 22(5). P.254.

## **ПРОПРИОЦЕПТИВНЫЙ КОНТРОЛЬ МЫШЦ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ У СПОРТСМЕНОВ-САМБИСТОВ**

Иконникова Е.С.<sup>1</sup>, Мельников А.А.<sup>2</sup>, Люкманов Р.Х.<sup>1</sup>, Супонева Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», Москва*

<sup>2</sup>*Российский университет спорта «ГЦОЛИФК», Москва*

Высокая проприоцептивная чувствительность является важным фактором высокой эффективности технических элементов и спортивного результата во многих видах спорта. Однако способность к проприоцептивному контролю положений сегментов верхней конечности и мышечных усилий у борцов практически не исследована. **Цель работы** – изучить точность воспроизведения положения кисти и мышечного усилия при дискретном сокращении и расслаблении мышц предплечья у спортсменов-самбистов.

У молодых борцов-самбистов (n = 10) и неспортсменов (n = 15) оценивались точность воспроизведения углов пронации-супинации предплечья (20, 50, 80 °) с помощью кистевого джойстика с гониометром Pablo (Tyromotion, Австрия) и точность изометрического сокращения мышц при статической пронации-супинации с помощью неподвижного кистевого джойстика в восходящем и нисходящем направлении развития усилий (0, 20, 50 и 80 % от максимального усилия) по уровню электромиографической активности пронаторов и супинаторов предплечья (Система функциональной электростимуляции «Траст-М», Neuroscore, Россия).

Установлено, что проприоцептивный контроль точности положения предплечья и статического усилия при сокращении пронаторов и супинаторов предплечья не различался

между борцами и контрольными лицами. Однако абсолютная ошибка воспроизведения 50 и 80 % усилия во время дискретного расслабления пронаторов была меньше ( $p < 0,01$ ) у спортсменов, чем у неспортсменов. Также в общей группе испытуемых точность воспроизведения усилий при дискретном сокращении пронаторов была выше, чем при дискретном расслаблении, что указывает на дефицит проприоцептивного контроля усилий во время расслабления мышц.

Таким образом, тренировка мышц верхних конечностей при занятиях самбо улучшает проприоцептивный контроль дискретного мышечного расслабления. В дальнейшем необходимо выяснить роль установленного феномена в эффективности борцовских навыков и спортивном результате.

1. Sarlegna F.R., Sainburg R.L. // Adv. Exp. Med. Biol. 2009. Vol. 629. P. 317–335.
2. Sainburg R.L., Ghilardi M.F., Poizner H., Ghez C. // J. Neurophysiol. 1995. Vol. 73, № 2. P. 820–835.
3. Sevrez V., Bourdin C. // Res. Q. Exerc. Sport. 2015. Vol. 86, № 3. P. 274–280.
4. Feng J., Hung T.-M., Huang R., et al. // Percept. Mot. Skills. 2020. Vol. 127, № 2. P. 281–298.
5. Kato K., Vogt T., Kanosue K. // Front. Physiol. 2019. Vol 10. Art. № 1457.

## **ВЛИЯНИЕ ВИРТУАЛЬНОЙ РЕАЛЬНОСТИ НА СТУДЕНТОВ С НОРМАЛЬНЫМ ЗРЕНИЕМ И С БЛИЗОРУКОСТЬЮ**

*Инюшкина Е.М.<sup>1</sup>, Рязанцева Е.Ю.<sup>1</sup>, Инюшкин А.Н.<sup>1</sup>*

*Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара*

Виртуальная реальность (VR) является современной технологией, позволяющей пользователям погрузиться в симулированную среду и взаимодействовать с ней. Одним из ключевых компонентов VR являются очки виртуальной реальности, которые представляют собой главный интерфейс между пользователем и виртуальным миром.

Виртуальная реальность становится все более популярной технологией, привлекающей внимание широкой аудитории [2;4]. Однако, важно учитывать потенциальное влияние VR технологий и в частности очков виртуальной реальности на зрение человека. Существует ряд исследований, посвященных оценке влияния VR на зрительные функции и общее здоровье глаз [1;3].

При погружении в виртуальную реальность, пользователь может сосредоточиться на экране очков виртуальной реальности или другом устройстве, что требует интенсивной работы зрительной системы. Это может приводить к утомлению зрительных мышц и ощущению напряжения в глазах [5]. Очки виртуальной реальности также могут оказывать давление на лицо человека и вызывать ощущение неудобства, особенно при их длительном использовании [5]. Данный факт может быть связан с ограниченной вентиляцией и увеличенной влажностью в районе глаз, что может вызывать дискомфорт зрительной сенсорной системы.

Экспериментальная часть настоящего исследования заключалась в регистрации изменений спектральной мощности ритмов ЭЭГ основных частотных диапазонов испытуемых, а также в проведении тестов на остроту и контрастность зрения в исходном состоянии и после 6 минутной игры в VR-очках. В качестве испытуемых в исследовании участвовали здоровые студенты и студенты с близорукостью.

Все этапы эксперимента были проведены в соответствии с нормами и правилами биоэтики, применяемыми в процессе исследования физиологических функций у человека.

Электроэнцефалограмма регистрировалась на приборе нейровизор NVX 36 digital DCEEG. Запись электроэнцефалограммы у каждого человека проводилась дважды – до и

после 6 минутной игры в VR-очках. В качестве тестов на зрение использовали тест на остроту зрения с помощью таблицы Сивцева, тест на контрастную чувствительность зрения.

Статистический и графический анализ результатов исследования проводили с использованием программного пакета «SigmaPlot 12.0». Для оценки достоверности изменений спектральной мощности ритмов ЭЭГ у студентов после использования VR-очков относительно исходного уровня использовали «Paired t-test». Статистически значимыми считали различия при уровне  $P < 0,05$ .

В результате проведенных тестов на остроту зрения в группе студентов с близорукостью до и после нахождения в VR-очках нами было выявлено увеличение остроты зрения на 22,73%. Это может быть связано с тем, что для людей с миопией VR сильнее стимулирует зрительную систему при фокусировке на ближних объектах, что может приводить к временному улучшению остроты зрения. Мозг человека обладает высокой степенью нейропластичности, особенно у молодых людей. Когда человек с миопией использует VR-очки, зрительная кора подвергается новому виду сенсорной нагрузки, что может способствовать адаптивным изменениям. В результате такой адаптации зрительная кора может лучше обрабатывать визуальную информацию, что приводит к временному улучшению остроты зрения.

1. Есауленко И.Э., Петрова Т.Н., Судаков О.В. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2014. Т. 13. № 2. С. 483-487.
2. Кузнецов В.А., Руссу Ю.Г., Куприяновский В.П. // Международный журнал открытых информационных технологий. 2019. Т.7. № 4. С. 75-84
3. Петрова Т.Н., Судаков О.В. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2012. Т. 11. № 1. С. 217-221.
4. Смолин А.А., Жданов Д.Д., Потемин И.С., Меженин А.В., Богатырев В.А. // Санкт-Петербург: Университет ИТМО, 2018. 59 с.
5. Кащенко Т.П., Корнюшина Т.А. // Мед. труда и пром. экол. 2006. №9.

## **NPY КАК КАРДИОПРОТЕКТОР ПРИ СИМПАТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ**

Искаков Н.Г.<sup>1,2</sup>, Аникина Т.А.<sup>1</sup>, Николаев Т.И.<sup>1</sup>, Зефирова Т.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань*

<sup>2</sup>*Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма*

Нейропептид Y (NPY) является симпатическим медиатором и широко распространен в центральной и периферической нервной системе [3]. В сердечно-сосудистой системе NPY обнаруживается в нейронах, иннервирующих сосуды, кардиомиоциты и участвует в различных физиологических процессах. NPY участвует в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, включая гипертензию, атеросклероз, ишемию, инфаркт, аритмию и сердечную недостаточность [5]. Актуальность проблемы возрастает в связи с установленным кардиопротекторным влиянием нейропептида Y при патологических состояниях, таких как гипертония, сердечная недостаточность, и возможным терапевтическим использованием при сердечно-сосудистых заболеваниях.

На кардиомиоцитах присутствует высокая плотность рецепторов, чувствительных к NPY. Данные указывают на наличие нескольких типов рецепторов NPY в сердце, включая Y1, Y2, Y3 и Y5 [1].

**Целью** нашего исследования является изучение совместного влияния агониста  $\beta$ 1,2-адренорецепторов изопротеренола и агониста Y<sub>1,5</sub>-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на частоту спонтанной активности и параметры изометрического сокращения предсердного миокарда крыс 21 и 100-суточного возраста.

**Методы:** исследование проведено на 100-суточных лабораторных животных (n=12). Сердце препарировали и изготавливали препарат предсердного миокарда с сохраненным

синусным узлом и спонтанной активностью. Обработку кривой изометрического сокращения проводили в программе «Chart 8.0». Статистическую обработку полученных результатов проводили в программах MS Excel и IBM SPSS Statistics 2020. Достоверность различий рассчитывали с помощью парного и непарного t-критерия Стьюдента. Изучали влияние агониста  $\beta_{1,2}$ -адренорецепторов изопротеренола в концентрации  $10^{-5}$ М, а также совместное влияние изопротеренола и агониста  $\Upsilon^{1,5}$  рецепторов [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-7}$ М на параметры изометрического сокращения предсердного миокарда крыс с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью.

Результаты: Изопротеренол у 100-суточных животных вызывал увеличение частоты спонтанной активности на 214% ( $p<0.001$ ), уменьшение длительности сокращения на 49% ( $p<0.01$ ), амплитуды сокращения на 71% ( $p<0.001$ ,  $n=5$ ). Совместное добавление изопротеренола и [Leu31, Pro34] NPY увеличивает частоту спонтанной активности на 89% ( $p<0.001$ ), уменьшает длительность сокращения на 47% ( $p<0.001$ ), амплитуду сокращения на 49% ( $p<0.01$ ,  $n=8$ ).

Вывод: По нашим данным частота спонтанной активности и отрицательный инотропный и положительный хронотропный эффект изопротеренола уменьшается у 100-суточных животных при совместном добавлении с [Leu31, Pro34] NPY. Полученные результаты позволяют предположить следующий механизм снижения частоты спонтанной активности и сократимости предсердного миокарда при совместном влиянии агонистов. NPY<sub>1,5</sub>-рецепторы кардиомиоцитов сопряжены с разными G-белками, например, Gi/o-белками, которые угнетают аденилатциклазу, каскад аденилатциклаза-цАМФ-протеинкиназа А и вызывают ингибирование кальциевых каналов [2].  $\Upsilon_1$ -рецепторы локализованы на атипических кардиомиоцитах синусно-предсердного узла и NPY способен оказывать влияние и на  $I_f$  токи сердца и изменять частоту спонтанной активности [5]. Эффекты нейропептида  $\Upsilon$  в миокарде правого предсердия со спонтанной активностью на фоне изопротеренола являются «тормозными» и выражаются в уменьшении частоты спонтанной активности.

1. Маслюков П. М., Эмануилов П.М., Ноздрачев А.Д. // Успехи геронтологии. 2016. Т. 3. С. 442-453.
2. Cheryl M J., Peregrine G., Tapoulal N., et al. // Physiology. 2018. Vol. 19, №. 9, P. 1281.
3. Nozdrachev A.D. Masliukov P.M. // Zh Evol Biokhim Fiziol. 2011. Vol. 47, №2. P.105-112.
4. Protas L., Barbuti A., Qu J., et al. // Circulation research. 2003. Vol. 93, №. 10, P. 972-979.
5. Sheng Y., Zhu L. // Int. J. Physiol. Pathophysiol Pharmacol. 2018. Vol. 10, №. 1, P. 17-28.

## **ДВИЖЕНИЕ КАК ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ: ЗНАЧЕНИЕ МИОКИНОВ**

Капилевич Л.В.<sup>1</sup>, Захарова А.Н.<sup>1</sup>, Милованова К.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск*

В настоящее время сформирован новый подход к понятию «воспаление». Все больше данных указывает на то, что клеточные и молекулярные медиаторы воспаления участвуют в широком спектре биологических процессов, включая ремоделирование тканей, метаболизм, термогенез и функцию нервной системы [5]. Учитывая разнообразие биологических процессов, включающих воспалительные сигналы и клетки, традиционный взгляд на воспаление как реакцию на инфекцию или повреждение тканей является неполным, поскольку воспаление может формироваться и в отсутствие этих триггеров [4]. Предложенный 15 лет назад термин «паравоспаление» [3] не получил распространения, и в современной литературе постепенно распространяется понятие «физиологическое воспаление», которое обеспечивает поддержание гомеостаза и адаптацию организма в отсутствие инфекций [2].

На фоне физической нагрузки в мышечных клетках происходит выделение такого же спектра цитокинов, характерных для воспалительных реакций, как при наличии патогенов.

Однако эффекты этих цитокинов обеспечивают адаптационные изменения в организме и поддержание гомеостаза. В связи с этим актуальным является вопрос рассмотрения миокинового профиля на фоне физической нагрузки, как фактора физиологического воспаления. В настоящее время идентифицировано более 3000 миокинов [5], и продолжают открываться новые, но функции многих из них остаются недостаточно изученными. В высоких концентрациях мышцами секретируются IL-6, IL-8, IL-15, CXCL1, LIF, BDNF, иризин и др. Усиление продукции этих белков, которые могут действовать как мощные медиаторы передачи сигналов другим клеткам и тканям, подчеркивает важную роль скелетных мышц как секреторного органа.

Рассмотрев эффекты миокинов, продуцируемых на фоне физической нагрузки, мы приходим к выводу, что эти белки участвуют в обеспечении адаптационных изменений, про- и противовоспалительных реакциях для поддержания гомеостаза и суммарный эффект их может быть охарактеризован как физиологическое воспаление. При этом механизмы активации транскрипции многих миокинов значительно отличаются от аналогичных механизмов в клетках иммунной системы. Это позволяет предположить, что миокины можно рассматривать как факторы физиологического воспаления, которое не является патологическим процессом, а обеспечивает нормальные физиологические реакции при физических нагрузках, включая энергетическое обеспечение, мышечную гипертрофию, ангиогенез и ремоделирование, восстановление поврежденных мышечных волокон.

В этой связи представляется так же интересной некоторая параллель с недавними результатами Jovasevic с соавт [1], которые полагают, что воспалительный процесс в нейронах гиппокампа необходим, чтобы информация перешла из кратковременной памяти в долговременную. Согласно результатам, полученным авторами, стимул запускает в этих нейронах цикл повреждения и восстановления ДНК, в результате чего образуются узлы памяти. Эти результаты позволяют предполагать, что процессы формирования долговременной памяти так же являются разновидностью физиологического воспаления, протекающего в данном случае в нервной ткани.

Продолжительность и модальность физических упражнений, необходимая для обеспечения благотворного влияния на организм, требует дальнейшего изучения. Чтобы достичь оптимального влияния на организм, необходим тщательный подбор режимов физических упражнений с учетом исходного состояния и индивидуальных особенностей.

Все изложенное позволяет сформулировать гипотезу о роли миокинов как факторов, стимулирующих развитие физиологического воспаления. Эффекты, которые вызывают миокины, продуцируемые на фоне физической нагрузки, участвуют в обеспечении адаптационных изменений, противовоспалительных реакциях и поддержании гомеостаза. Физиологическое воспаление при этом можно рассматривать как в некотором роде антагониста патологического воспаления, именно за счет этого антагонизма могут реализовываться многие положительные эффекты физических нагрузок, в том числе при метаболических нарушениях.

1. Jovasevic V., Wood E.M., Cicvaric, A. // *Nature*. 2024. V. 62 8(8006). P. 145- 152.
2. Medzhitov R. // *Cell*. 2010. V. 140 (6). P. 771 – 788.
3. Medzhitov R. // *Nature*. 2008 V. 454 (7203). P. 428-435
4. Punchard N.A., Whelan C.J., Adcock I. // *J Inflamm*. 2004. V. 1. P. 1-18.
5. Rankin L.C., Artis D. // *Cell*. 2018. V.173. P. 554-562.

# НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВАНИЯ И НЕЙРОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ЧЕЛОВЕКО-ОРИЕНТИРОВАННОГО ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Каплан А.Я.

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, лаборатория нейрофизиологии и нейрокомпьютерных интерфейсов, Москва. akaplan@mail.ru*

Мультимодальные информационные нагрузки современного мира вкупе с ростом многозадачности и сложности деятельности человека, а также с повышением его ответственности за принимаемые решения приводят к необходимости разработки сервисных контуров искусственного интеллекта, динамично связанных с деятельностью человека на наиболее ответственных ее этапах. Ключевым модулем этих контуров являются технологии интерфейсов мозг-компьютер (ИМК), которые уже более 20 лет разрабатываются на кафедре физиологии человека и животных, как приложения фундаментальных нейрофизиологических исследований в области реабилитационной медицины [1]. Технологии ИМК позволяют в квази-реальном времени по данным непрерывной регистрации физиологических параметров, прежде всего ЭЭГ или НИРС (близкая к инфракрасной спектроскопия или Near-infrared spectroscopy - NIRS), декодировать намерения человека к совершению конкретного действия для формирования сигналов к внешним исполнительным системам [2]. Прежде всего, такие технологии востребованы пациентами с тяжелыми расстройствами речи и двигательных систем после инсультов и нейротравм, которые при хорошей когнитивной сохранности могут формировать четкие образы намерений. На основе нейрофизиологических исследований механизмов формирования ментальных образов авторами были разработаны основы для создания технологий восстановления моторных функций у постинсультных пациентов, для управления ими сервисными устройствами (инвалидные коляски, бытовые устройства и др.). Кроме того, были созданы теперь уже реально работающие в клинике нейроинтерфейсные системы для замещения речевой коммуникации, например, авторский комплекс НейроЧат для набора текстов без использования голоса и движений.

Технологии ИМК внесли совершенно новый аспект в тренажерные системы для восстановления движений посредством известных методов идеомоторных тренировок, т.е. на основе многократного мысленного представления реального движения. Этот аспект заключается в том, что в контурах ИМК, отслеживающих формирование моторных образов по ЭЭГ, стало возможным самому пользователю контролировать и тем самым поддерживать на высоком уровне качество мысленного представления движения [3]. На тех же основаниях, с детектированием моментов представления движения левой/правой руки или других частей тела, для постинсультных пациентов построены и системы управления сервисными устройствами, перемещением того же инвалидного кресла (команды направо/налево и др.) или включением/выключением бытовых приборов. Комплексы для замещения утраченной речевой коммуникации у постинсультных пациентов построены на основе детектирования в ЭЭГ ответных реакций на предъявление пациенту разных символов и пиктограмм, среди которых особым паттерном (волной P300) отличаются те реакции, которые вызваны нужным пациенту в данный момент символом. Автоматическое распознавание этого паттерна позволяет в контуре ИМК реализовать набор текстов на экране компьютера или запуск тех или иных исполнительных систем по предъявлению соответствующих пиктограмм (звонок другу, пересылка текста по почте и т.д.), что воплощено в работающих сейчас в клинике комплексах «НейроЧат» [4].

Наиболее амбициозной задачей, стоящей сейчас перед авторами перечисленных выше исследований и разработок, является исследования для создания нейроинтерфейсных технологий поколения 5.0, нацеленных на прямую передачу выделенных по ЭЭГ характеристик деятельности мозга к регистрам элементов искусственного интеллекта, к

внешним слоям искусственных нейронных сетей. В этом случае выход ИМК ориентируется не на срабатывание исполнительных механизмов, а на «понимание» собственно интегрированных психических состояний человека. Главная авторская идея для создания нейроинтерфейсных технологий 5.0 заключается в том, что принимающие информацию от мозга искусственные нейронные сети должны заниматься не прямой расшифровкой ЭЭГ для декодирования текущих психических образов, что весьма проблематично, а отгадыванием задуманного человеком образа посредством предъявления собственных гипотез. К примеру, человеком задумано яблоко, а гипотеза нейросети – автомобиль. Если нейросеть научится по ЭЭГ определять состояние мозга: «согласен/почти согласен/почти не согласен/не согласен», то при ограниченности первичного сета объектов в таком бинарном выборе система быстро придет к решению, тем самым расставив в своей машинной памяти все тестированные объекты на соответствующих семантических расстояниях от задуманного человеком объекта. При этом будут сохранены, копии ЭЭГ при мысленном представлении человеком каждого объекта для последующего анализа при наборе достаточного количества данных. При многократных испытаниях и наращивании сета объектов, предполагается формируемое в памяти нейросетей семантического пространства этих объектов, которое будет иметь явно антропоморфные свойства, поскольку, согласно описанной процедуре, это пространство копируется прямо «из мозга» конкретного человека. В настоящее время авторами получены уверенные данные о наличии ЭЭГ паттернов, специфичных для состояний мозга: «согласен/не согласен» [5]. Таким образом, открывается реальный путь к формированию нейроинтерфейсных модулей между мозгом человека и адекватными задаче композициями сетей формальных нейронов для создания человеко-ориентированного искусственного интеллекта.

1. Kaplan A.Ya., Lim J.J., Jin K.S. et al. // *Int. J. Neurosci.* 2005. V. 115. P. 781-802.
2. Wolpaw J.R., Birbaumer N., McFarland D.J. et al. // *Clin. Neurophysiol.* 2002. V. 113(6). P. 767-791.
3. Каплан А.Я. // *Физиология человека.* 2016. Том 42, № 1, с. 118-127
4. Ганин И.П. и др. // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 2020. Том 70, № 4, с. 435-445
5. Пономарев Т.Д., Васильев А.Н., Новикова Е.А., Покидько А.Б., Зайцева Н.В., Зайцев Д.В., Каплан А.Я. ЭЭГ корреляты согласия и несогласия при ответе на однозначные вопросы с бинарным выбором // (См. тезисы в данном сборнике).

## **РАННИЕ АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ НА ОБЛУЧЕНИЕ: РОЛЬ Е-КАДГЕРИНА И БЕЛКОВ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ**

**Каретникова Е.С.<sup>1,2</sup>, Марков А.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург*

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

Ионизирующее облучение оказывает прямое повреждающее воздействие, а также вызывает развитие окислительного стресса в органах и тканях, что приводит к нарушениям структуры и функций макромолекул. Различные дозы облучения вызывают специфичные для них каскады патологических реакций, протекание которых приводит к регенерации легочной ткани или к развитию пневмофиброза. Ранние изменения индуцируют последующие процессы; это показывает перспективность изучения изменений, происходящих в первые часы и дни после облучения.

Альвеолярный и бронхиальный эпителии, а также эндотелий являются ведущими структурами, обеспечивающими функционирование легочной ткани. Мультибелковые комплексы адгезионных и плотных контактов определяют структуру, барьерные свойства и

межклеточную проницаемость эпителиев. Также известно, что ряд белков межклеточных контактов способен влиять на такие процессы, как апоптоз [5], пролиферация, дифференцировка, эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) [1] и др. В настоящее время данные о влиянии индуцированного облучением окислительного стресса на уровни и распределение белков межклеточных контактов в легочной ткани крайне ограничены.

**Целью исследования** была оценка эффектов средней и высокой доз облучения на уровни и локализацию E-кадгерина и белков плотных контактов в легочной ткани крыс.

Самцы крыс Вистар были рандомизированы на три группы и подвергнуты общему рентгеновскому облучению в дозах 0 Гр (контрольная группа), 2 Гр (средняя доза облучения) и 10 Гр (высокая доза облучения). Образцы легочной ткани для выполнения Вестерн блота и иммунофлуоресцентных окрашиваний были забраны через 72 часа после облучения. В исследовании впервые была проведена оценка ранних индуцированных облучением изменений уровней и распределения E-кадгерина, клаудина-1, -3, -4, -5, -8, -12, -18, окклюдина, трицеллюлина и активированной каспазы-3 в легочной ткани.

Полученные данные показали, что облучение как в дозе 2, так и 10 Гр приводит к увеличению уровня E-кадгерина в альвеолярном и бронхиальном эпителиях, а также к появлению клаудина-8 в бронхиальном эпителии. Облучение в дозе 10 Гр помимо упомянутых выше изменений индуцировало увеличение уровня клаудина-4 в альвеолярном эпителии, вызвало катастрофическое нарастание уровня окклюдина, привело к снижению клаудина-8 в эндотелии, к снижению клаудина-12 в бронхиальном эпителии и эндотелии, а также к снижению уровня активированной каспазы-3 в легочной ткани.

Оценка эффектов повышения уровня E-кадгерина показала, что увеличение уровня этого маркера способствует подавлению процессов ЭМП и способствует регенерации эпителиев после повреждения [1]. Необходимо отметить, что для более поздних стадий реакции легочной ткани на облучение характерно снижение уровня E-кадгерина. Таким образом, отличительной особенностью ранних этапов реакции легочной ткани на облучение является адаптивная реакция в виде увеличения уровня E-кадгерина.

Повышение уровня клаудина-4 приводит к увеличению барьерных свойств альвеолярного эпителия, что способствует предотвращению заполнения альвеол жидкостью после повреждения [3]. Также было показано влияние клаудина-4 на апоптоз [5]. Наши данные выявили адаптивную реакцию легочной ткани на облучение в виде увеличения уровня клаудина-4 и торможения апоптоза.

Увеличение уровня клаудина-8 приводит к увеличению барьерных свойств эпителиев [4]. Это показывает, что следующей адаптивной реакцией легочной ткани является повышение клаудина-8 в бронхиальном эпителии, вероятно, способствующее сохранению воздушности бронхиального дерева.

Известно, что типичной реакцией легочной ткани на повреждения является снижение уровня окклюдина, а восстановление ткани можно оценивать по нормализации уровня этого белка [2]. В исследовании было выявлено увеличение уровня окклюдина в ранние сроки после облучения, это позволяет предположить, что выявленные изменения также носят адаптивный характер.

Таким образом, полученные данные показали, что для раннего периода реакции легочной ткани на облучение характерен ряд адаптивных реакций со стороны белков межклеточных контактов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (РНФ), грант № 23-25-00556.*

1. Nan L., Luo H. et al. // *Biomolecules*. 2021. 11(5).

2. Liu M., Gu C. et al. // BMC Pulm Med. 2014.14: 94.
3. Rokkam D., Lafemina M. J. et al. // Am J Pathol. 2011.179(3): 1081-1087.
4. Sun W., Wu W. et al. // Cell Mol Life Sci. 2024. 81(1): 240.
5. Zheng Y., Cai W. et al. // Am J Transl Res. 2016. 8(9): 3769-3779.

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ИНОСТРАННЫХ И РОССИЙСКИХ СТУДЕНТОВ ПЕРВОГО КУРСА**

**Карпов А.В.<sup>1</sup>, Ненашева А.В.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Южно-Уральский государственный университет, Челябинск*

При поступлении в университет российским студентам из малых населенных пунктов, а также иностранным студентам приходится адаптироваться к условиям большого города, и новым экологическим и социально-психологическим условиям, что связано с определенными трудностями, такими как нервные перегрузки и новые социально-бытовые условия. Экологическое состояние городской территории, включая загрязненность воздуха, качество воды, почвы и продуктов питания, а также акустическое воздействие, также может влиять на адаптацию студентов к жизни в большом городе и приводить к негативным последствиям для здоровья [2,3].

В рамках исследования нами было проведено анкетирование иностранных и российских студентов I курса по 4 методикам: Методика Г. Айзенка «Самооценки депрессивных состояний», Методика диагностики самооценки Спилбергера — Ханина, Гиссенский опросник, тестирование САН.

Результаты тестирования по методике «Самооценки депрессивных состояний» Г. Айзенка показали, что среди опрошенных студентов из Китая тревожность отсутствует у 64%, средний уровень наблюдается у 31%, у 5% отмечен высокий уровень личностной тревожности. У обучающихся из Средней Азии низкий уровень тревожности отмечен у 73% студентов, остальные 27% показали средний уровень тревожности, высокий уровень тревожности не был отмечен ни у кого. По результатам аналогичного тестирования у российских студентов тревожность отсутствует у 25% студентов, допустимый уровень тревожности у 64%, высокая тревожность у 5% опрошенных.

Оценивая агрессивность по методике Айзенка, можно отметить, что высокий уровень выдержанности показали 28% китайских студентов и 32% студентов из стран Средней Азии. Среднем уровнем выдержки обладают 72% студентов из Китая и 73% из стран СНГ. Изучая аналогичный параметр у российских студентов, мы можем отметить, что почти 29% опрошенных российских студентов проявляют допустимый уровень агрессии, остальные 71%, спокойны, выдержаны.

Тестирование Спилберга – Ханина, оценивающее ситуативную тревожность, говорит о преимущественно высокой степени тревожности у студентов из Китая, и умеренной степени тревожности у студентов местного происхождения и студентов из трёх центрально-азиатских республик.

Представители все трёх групп отметили, что основными факторами тревоги для них являются беспокойный сон, чувство страха перед возможными трудностями и с трудом переносимое время ожидания.

Отвечая на опросник САН, все группы анкетизируемых отметили, что они пребывают в благоприятном, либо хорошем настроении, и не имеют жалоб на самочувствие. По показателю активности, наилучший результат показали студенты-юноши из стран Средней Азии, студенты из Уральского региона несколько менее активны, наименее активны студенты из Китая.

По показателю ригидности все три группы продемонстрировали сходные результаты: ригидность отсутствует у 59% российских студентов, 69% китайских студентов и 59% студентов из стран СНГ. У остальных опрошенных – средний уровень ригидности.

Оценка показателя фрустрации отражает состояние, вызванное невозможностью достичь желаемого или преодолеть препятствия на пути к цели. У 41% студентов из КНР и 36% студентов из центрально азиатских стран фрустрация отсутствует, средний уровень показателя отмечен у 59% китайцев и 64% студентов из Туркменистана, Киргизии, Таджикистана и Узбекистана.

Для улучшения адаптивных способностей и психической устойчивости, а также оптимизации учебного процесса и подготовки квалифицированных специалистов, важно регулярно проводить психологические тесты, оценивать физическое и психологическое состояние иногородних студентов и осуществлять профилактическое вмешательство при необходимости [1].

1. Артюнина Г.П., Игнатъкова С.А. // Г.П. Артюнина, С.А. Игнатъкова. 3-е изд. М.: Академический проект, 2009. 304 с.
2. Болотов Б.В. // Б.В. Болотов. 2-е изд. СПб.: Питер, 2009. 512 с.
3. Витенберг Е.В. Социально-психологические факторы адаптации к социальным и культурным изменениям: автореф. дис. ...канд. псих. наук: 19.00.05: защищена 11.02.98 / Витенберг Елена Владимировна; Санкт-Петербургский государственный университет. Санкт-Петербург, 1994.

## **ТКАНЕРЕЗИДЕНТНЫЕ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫЕ КЛЕТКИ СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ И ПОДДЕРЖАНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА**

Кархов А.М.<sup>1,2</sup>, Кузьмин В.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России,

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Доминантный ритмоводитель сердца синоатриальный узел (САУ), представляет собой комплексную гетерогенную тканевую структуру, имеющую в своем составе, помимо кардиомиоцитов, большое количество соединительной ткани и невозбудимых клеток. В настоящее время предполагается, что соединительная ткань, клетки немиокардиального типа, в частности, фибробласты, оказывают значительное влияние на распространение возбуждения в САУ, передачу возбуждения от пейсмекерного к рабочему миокарду, и, соответственно, на генерацию сердечного ритма [1]. Помимо фибробластов, функционально важными для ритмоводителя и проводящей системы сердца, вероятно, являются тканерезидентные иммунокомпетентные клетки. Известно, что резидентные макрофаги широко представлены в атриовентрикулярном узле. Более того, резидентные макрофаги образуют электрические контакты с кардиомиоцитами атриовентрикулярного узла, способствуя проведению возбуждения из предсердий в желудочки [2]. Для САУ здорового сердца человека показана повышенная (относительно рабочего миокарда) экспрессия маркеров иммунокомпетентных клеток [3]. Однако особенности, распространенность, а также влияние макрофагов на электрофизиологические свойства САУ практически не изучены. Работа посвящена изучению роли тканерезидентных иммунных клеток в САУ.

Нами впервые показано, что в ткани САУ здоровых животных (самцы крыс стока Wistar (300±60 г) присутствуют тканерезидентные макрофаги. Соотношение F4/80+ клеток (рассматриваемых как макрофаги) и кардиомиоцитов в САУ может достигать 1:2. Нами впервые установлено, после введения липополисахарида (ЛПС) в САУ наблюдается многократный рост уровня мРНК всех маркерных молекул макрофагов (CD68, CD163, CD206), за исключением CD86. Рост уровня экспрессии CD163, CD206 (маркеров макрофагов противовоспалительных M2-типа) в САУ существенно больше, чем в предсердной ткани. Кроме того, после введения ЛПС наблюдается изменение профиля экспрессии транскриптов генов белков, определяющих электрофизиологические свойства САУ, а также маркерных

белков иммунокомпетентных клеток. Таким образом, макрофаги САУ являются функциональными иммунными клетками. Активация резидентных макрофагов приводит к изменению паттерна активности САУ. В частности, ЛПС способствует спонтанной миграции и увеличению вариабельности локализации точки первичной активации в САУ. Итак, тканерезидентные иммунокомпетентные клетки миелоидного ряда присутствуют в ткани САУ и взаимодействуют с кардиомиоцитами и влияют на электрическую активность САУ. Наблюдаемая в САУ преимущественная дифференцировка макрофагов по M2-пути может иметь протективное значение в условиях системных воспалительных реакций.

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант РФФ 22-15-00189).*

1. Csepe T.A. et al. // Front Physiol. 2015. V. 6: 37.
2. Hulsmans M. et al. // Cell. 2017. V. 169, 3. P. 510-522. e20.
3. Aminu A.J. et al. // Prog Biophys Mol Biol. 2021. V. 166. P. 86-104.

### **АКТИВАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ГЕМОКОНТАКТНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С УГЛЕРОДНЫМ ПРЕПАРАТОМ СКТ-6А ВЧ**

Киселева А.Д.<sup>1</sup>, Сорокин Д.В.<sup>1</sup>, Капирулин И.А.<sup>1</sup>, Кручинина Д.К.<sup>1</sup>, Киселёва М.Д.<sup>1</sup>,  
Буркова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава  
России, Санкт-Петербург*

Активация тромбоцитов, происходящая при контакте с поврежденной сосудистой стенкой или с искусственными материалами и сопровождающаяся дегрануляцией широкого спектра активных метаболитов, была учтена в методе малообъемной гемоперфузии [1, 2, 3]. Данный метод основан на принципе твердофазной контактной гемомодуляции и заключается в активации тромбоцитов при контакте с углеродным препаратом СКТ-6А ВЧ в течение 5 минут. Критерием активации тромбоцитов могут выступать активные метаболиты, высвобождающиеся из  $\alpha$ -гранул в процессе данного контакта, в частности, концентрация фактора роста тромбоцитов ВВ (PDGF-BB).

**Цель исследования.** Оценка активации тромбоцитов по изменению концентрации PDGF-BB в плазме крови при контакте с углеродным препаратом СКТ-6А ВЧ.

Использовали венозную донорскую кровь, полученную на станции переливания крови ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Кровь забирали из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином лития в объеме 9,0 мл (n=4). В качестве гемоконтактного препарата использовали углеродный гемоконтактный препарат СКТ-6А ВЧ. В колонки-активаторы загружали СКТ-6А ВЧ в объеме 2,0 мл, промывали физиологическим раствором с гепарином (20 ед/мл), добавляли 8,0 мл крови и помещали в роторную мешалку (10 об/мин). Предварительно отбирали пробу 1,0 мл крови «до контакта». Через 5, 10, 20 и 30 минут (реперные точки) забирали по 2,0 мл крови в пробирки с гепарином лития. Количество тромбоцитов получали на анализаторе SySmexXT 1800i. Плазму получали центрифугированием (3000 об/мин, 10 мин) тех же образцов крови. Для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) использовали набор Cloud-Clone Corp. (SEA633Hu) для количественного определения PDGF-BB «сэндвич»-методом ИФА. Оптическую плотность измеряли на приборе ChemWell 2910 фотометрическим методом на длине волны 450±10 нм. Концентрацию PDGF-BB в образцах рассчитывали в соответствии со стандартной кривой. Статистическую обработку данных проводили при помощи программного обеспечения RStudio и Excel 2016. В качестве центральной тенденции использована медиана, а в качестве меры разброса — интерквартильный размах.

Количество тромбоцитов через 5 минут (34,5\*10<sup>9</sup>/л; 27,0–51,3) резко снижалось относительно количества до контакта (64,0\*10<sup>9</sup>/л; 53,8–82,3). В последующих пробах

наблюдала постепенное повышение количества тромбоцитов с максимумом в пробах «30 минут» ( $57,5 \cdot 10^9/\text{л}$ ; 50,2–86,8). Максимальную концентрацию PDGF-BB отмечали в пробах «10 минут» (2,8 пг/мл; 1,9–3,6). Затем наблюдали снижение концентрации PDGF-BB в пробах «20 минут» (1,3 пг/мл; 1,1–1,6) и «30 минут» (0,7 пг/мл; 0,3–1,7).

Тромбоциты обладали наибольшим активационным потенциалом в течение 5 минут от начала контакта с углеродным препаратом СКТ-6А ВЧ. Дальнейшее повышение количества тромбоцитов и рост концентрации PDGF-BB связаны с деадгезией тромбоцитов с поверхности СКТ-6А ВЧ и их выходом в плазму крови.

1. Буркова Н.В., Кузнецов С.И., Тюкавин А.И. // Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. 2011. Т. 3, № 4. С. 24-32.
2. Грищук И.В., Знаменский В.А., Свиридов Э.Е. [и др.] // Прокопенковские чтения: Материалы I Международной научно-практической электронной онлайн-конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Л.Г. Прокопенко, Курск, 24 мая 2022 года. Курск: Курский государственный медицинский университет, 2022. С. 37-42.
3. Кузнецов С.И., Киричук О.П., Буркова Н.В. [и др.] // Трансляционная медицина. 2021. Т. 8, № 5. С. 57-66.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БЫСТРЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ КАРДИОМИОЦИТА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Коваленко С.Г.<sup>1,2</sup>, Фролова Ш.Р.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>2</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва

Данная работа посвящена исследованию работы потенциал-зависимых быстрых натриевых каналов ( $I_{\text{Na}_v}$ ), которые имеют огромное значение в формировании и распространении потенциала действия в возбудимых тканях. Из-за высокой амплитуды и быстрой активации тока  $I_{\text{Na}}$  измерения с помощью пэтч-кламп сложны и обычно проводятся при комнатной температуре. В этом исследовании измерения проводились на человеческих кардиомиоцитах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) здорового донора, при физиологической температуре (37°C).

Согласно литературным данным, большинство исследований  $I_{\text{Na}_v}$  проводят при комнатной температуре или на животных моделях [1,3,4], в то время как динамика активности  $\text{Na}_v$ -каналов человеческих кардиомиоцитов при физиологической температуре 37°C может сильно отличаться, что в свою очередь искажает количественное понимание процессов возбуждения кардиомиоцитов и распространения возбуждения в миокарде. В данной работе рассматривается один из таких примеров: условие гиперкалиемии, при которой в широко используемой модели О'Хара-Руди [2] распространения возбуждения не наблюдается.

С помощью электрофизиологического метода пэтч-кламп были изучены амплитуды  $\text{Na}$ -тока в кардиомиоцитах, дифференцированных из иПСК линии m34sk3, полученной от здорового донора. Нами был проведен ряд измерений, которые позволили оптимизировать внеклеточную концентрацию ионов  $\text{Na}^+$  таким образом, чтобы величина амплитуды  $\text{Na}$ -тока не превышала 1 нА при 37°C. Были рассмотрены внеклеточные растворы с концентрациями ионов натрия 5 мМ, 20 мМ и 50 мМ. Концентрация ионов натрия 5 мМ оказалась недостаточной для детектирования  $I_{\text{Na}_v}$ , когда как при 50 мМ амплитуда токов была больше 2 нА. По результатам экспериментов в оптимальном растворе, содержащем 20 мМ NaCl, получены кривые активации и инактивации. На основе полученных экспериментальных данных была модифицирована формулировка натриевого тока в модели О'Хара-Руди. Моделирование распространения возбуждения в ткани желудочков в условиях гиперкалиемии

показало, что в отличие от базовой модели О'Хара-Руди в модифицированной нами модели кардиомиоциты возбуждаются при внеклеточных концентрациях ионов калия до 14 мМ [5].

Таким образом, в данной работе были проведены измерения быстрого натриевого тока в кардиомиоцитах человека методом пэтч-кламп при физиологической температуре. Последующее математическое моделирование показало, что полученные активационные и инактивационные характеристики позволяют описать распространение возбуждения в условиях гиперкалиемии.

1. Blechschmidt S, et al. // Prog Biophys Mol Biol. 2008; 98: 309–318.
2. O'Hara T, Virág L, Varró A, Rudy Y. // PloS Comput Biol. 2011 May; 7(5): e1002061
3. Sakakibara, Y., et al. // Circulation Research, 1992; 71(3), 535–546.
4. Wettwer, E., et al. // Cardiovascular Research, 2013; 98(1), 145–154.
5. Abrasheva V., et al. // The Journal of Physiology. 2024; V. 602, 4, P. 633-661.

### **ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫВОРОТОК НА ОСНОВЕ ТРОМБОКОНЦЕНТРАТОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ.**

Колесникова И.С.<sup>1</sup>, Бельчиков В.<sup>2</sup>, Славина М.Ю.<sup>3</sup>, Симакина Д.К.<sup>3</sup>, Трахтман П.Е.<sup>2</sup>, Свешникова А.Н.<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>*ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, Москва*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО "Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева", Москва*

<sup>3</sup>*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва*

Концентраты тромбоцитов являются довольно перспективным терапевтическим средством и используются во многих областях регенеративной медицины, в том числе хирургии, ортопедии, эстетической дерматологии, так как они являются отличным источником цитокинов, факторов роста и других биологически активных веществ [1]. Данные компоненты сыворотки важны для регенерации тканей вследствие их влияния на пролиферацию, миграцию и синтез большого количества составляющих ЕСМ основными клетками соединительной ткани – фибробластами [2]. Но несмотря на обширное применение данных сывороток, их воздействие на эндотелиальные клетки человека может быть непредсказуемым, так как фибробласты чрезвычайно чувствительны к любым изменениям в окружающей их среде, а состав сывороток в основном зависит от метода высвобождения тромбоцитами биологически активных веществ, сохранение их целостности и дальнейшей очистки [3].

В данной работе оценивался пролиферативный эффект и влияние на морфологию сывороток, приготовленных различными методами на основе тромбоконцентратов предоставленных станцией переливания крови НМИЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева МЗ РФ. Сыворотки с кодами А1-А8 были получены путем активации плазменного свертывания в стандартном тромбоконцентрате человека, хранившемся при температуре +4°C 12-168 часов. Также проводилась фильтрация сывороток со сбором фракции меньше 300кДа. Эксперименты проводились на линиях клеток эндотелия человека, а именно на дермальных фибробластах и (HdFb 4p) и на гибридной культуре пупочной вены (Ea.hu926). Сыворотки тестировались в концентрации, не превышающей 5%, а результат сравнивался с фетальной бычьей сывороткой (FBS). Влияние полученных сывороток на пролиферацию оценивалось методом подсчета клеток в результате МТТ-теста, а изменение морфологии оценивалась с помощью микроскопии фазового контраста.

Практически у всех культур наиболее активный рост наблюдался в присутствии A2 300, превышая количество клеток, выросших в FBS. Это говорит о том, что в данной сыворотке содержатся оптимальные для пролиферации компоненты, что подходит обоим культурам клеток. Если же рассматривать каждую культуру в отдельности, то HdFb лучше всего себя чувствовали на сыворотках A2, A1 300, A3 300, а Ea.hy926 на A5, A6, A7, A8, A5 300, A8 300. Так же можно заметить, пролиферация HdFb была хуже на сыворотках Ai, чем на Ai 300, в то время как Ea.hy926 успешно пролиферировали на обеих сыворотках с разной фильтрацией. Данные различия можно объяснить, разной физиологией культур клеток и необходимостью фильтрации сывороток. Таким образом можно сделать вывод, что для полноценного культивирования данных культур важно использовать сыворотки либо бессывороточные среды с определенным составом, которые можно заменить на тромбоконцентраты, с составом, что может варьироваться в зависимости от метода приготовления.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 23-45-10039, <https://rscf.ru/project/23-45-10039/>

1. Giannotti L., Di Chiara Stanca B., Spedicato F., et al. // Genes. 2023.
2. Bainbridge P. // J Wound Care. 2013.
3. Marchetti E., Mancini L., Bernardi S., et al. // Materials. 2020.

## МАВАКАМТЕН УСТРАНЯЕТ ЭФФЕКТЫ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ L352P МУТАЦИИ СЕРДЕЧНОГО МИОЗИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С

Копылова Г.В.<sup>1</sup>, Кочурова А.М.<sup>1</sup>, Бельдия Е.А.<sup>1,2</sup>, Антонен Ю.Я.<sup>1,2</sup>, Матюшенко А.М.<sup>3</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург

<sup>2</sup>УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург

<sup>3</sup>ФИЦ Биотехнологии, Москва

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) представляет собой генетически обусловленное заболевание сердца, характеризующееся гипертрофией и диастолической дисфункцией левого желудочка. Около 50% мутаций саркомерных белков, связанных с ГКМП, обнаруживаются в гене *MYBPC3*, кодирующем сердечный миозин-связывающий белок С (сМуВР-С). сМуВР-С имеет молекулярную массу около 141 кДа и состоит из 11 доменов, обозначаемых от C0 на N-конце до C10 на C-конце [4]. Между доменами C1 и C2 находится *m*-домен с сайтами фосфорилирования. Домены C0, C1 и C2 взаимодействуют с миозином толстой нити, а домены C0-C2 – с актином тонкой. Домен C1 взаимодействует с тропомиозином [2]. Мы изучили влияние ГКМП мутации L352P, расположенной в *m*-домене, на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде. Для лечения гиперсократимости при ГКМП был разработан низкомолекулярный модулятор  $\beta$ -сердечного миозина мавакамтен [1]. Мы исследовали влияние мавакамтена на характеристики кальциевой регуляции актин-миозинового взаимодействия в случае мутации L352P сМуВР-С.

Сердечный миозин получали из левого желудочка сердца свиньи, актин – из скелетных мышц кролика. Белки миокарда человека: альфа-тропомиозин, тропониновый комплекс и N-концевые фрагменты C0-C1-m-C2 (далее C0-C2) сМуВР-С дикого типа (WT) и с аминокислотной заменой L352P экспрессировали в *E. coli*. Влияние мутации L352P на актин-миозиновое взаимодействие изучали в *in vitro* подвижной системе [3]. Регулируемые тонкие нити реконструировали из актина, тропомиозина и тропонина. Мавакамтен (Select Chemicals LLC) был растворен в ДМСО до концентрации 10 мМ и заморожен.

Мы сравнили зависимость скорости скольжения тонких филаментов по миозину в *in vitro* подвижной системе от концентрации C0-C2 фрагментов WT и L352P при насыщающей концентрации кальция ( $pCa_4$ ). Обнаружено, что L352P C0-C2 фрагмент снижал скорость скольжения тонких филаментов в большей степени, чем WT фрагмент. Скорость скольжения

тонких нитей снижалась в два раза при концентрации  $577 \pm 21$  нМ с WT C0-C2 фрагментом и  $348 \pm 23$  нМ с L352P C0-C2.

Мутация L352P оказывала существенное влияние на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия. Кальциевая зависимость скорости скольжения тонких филаментов в присутствии 300 нМ и 500 нМ WT C0-C2 была сигмоидальной, WT фрагмент уменьшал максимальную скорость филаментов (при  $pCa_4$ ) и увеличивал кальциевую чувствительность этой зависимости. При добавлении 500 нМ L352P C0-C2 скорость скольжения тонких филаментов не зависела от концентрации кальция и была примерно в три раза ниже максимальной для WT фрагмента. При 300 нМ L352P C0-C2 эта зависимость была сигмоидальной, и в отличие от WT фрагмента, L352P C0-C2 фрагмент не подавлял скольжение нитей при низких концентрациях кальция, что говорит об отсутствии ингибирования актин-миозинового взаимодействия и может являться причиной нарушения диастолической функции миокарда.

Без C0-C2 фрагментов добавление 300 нМ мавакамтена к тонким филаментам снижало их максимальную скорость на 20% и не влияло на кальциевую чувствительность актин-миозинового взаимодействия. В присутствии 300 нМ L352P C0-C2 мавакамтен снижал максимальную скорость скольжения филаментов, т. е. замедлялась кинетика поперечных мостиков миозина, и ингибировал движение филаментов при низких концентрациях кальция, что может приводить к снижению гиперсократимости при ГКМП.

Таким образом, мутация L352P сМуВР-С нарушает активацию тонких нитей, что является одним из молекулярных механизмов развития ГКМП, и мавакамтен можно рассматривать как потенциальный препарат для лечения ГКМП, вызванной мутациями гена сМуВР-С.

*Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 22-14-00174.*

1. Braunwald E., Saberi S., Abraham T.P., et al. // Eur Heart J. 2023. V. 44. P. 4622-4633.
2. Huang X., Torre I., Chiappi M. et al. // J. Muscle Res. Cell Motil. 2023. V. 44. P. 165–178.
3. Matyushenko A.M., Shchepkin D.V., Kopylova G.V. et al. // Biochemistry. 2017. V. 56. P.250-259.
4. Previs M.J., Mun J.Y., Michalek A.J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016. V. 113. P. 3239–3244.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВНЫХ ОБОРОНИТЕЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОВ И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ**

Иноземцев А.Н.,<sup>1</sup> Карпухина О.В.<sup>1</sup>, Королев А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, каф. высшей нервной деятельности

<sup>2</sup>РУДН им. П. Лумумбы, каф. нормальной физиологии

В современной нейробиологии инструментальные оборонительные рефлексы занимают центральное место среди методов изучения механизмов тревоги, страха, подкрепления и обучения. Ключевую роль в этих процессах играют взаимодействия миндалины, префронтальной коры и прилежащего ядра [4]. В лаборатории И.П. Павлова для анализа механизмов ВНД использовали оригинальный приём – «функциональные нарушения» (ФН) условного рефлекса, лишавшие выработанную реакцию приспособительного значения. ФН разрабатывались для пищевых условных рефлексов у собак, но общая идея может быть приложена и к инструментальным рефлексам. Нами данный принцип был применен в отношении упроченной реакции активного избегания у крыс в челночной камере, путём экстренного нарушения однозначных причинно-следственных («сбой реакции избегания») и пространственных отношений («пространственная переделка») между раздражителями, реакцией и её результатами после выработки прочного навыка [2].

Сбой вызывал резкое уменьшение числа реакций избегания (с  $92 \pm 5\%$  до  $52 \pm 7\%$ ;  $p < 0.01$ ) и увеличение межсигнальных реакций (с  $12 \pm 5\%$  до  $37 \pm 11\%$ ;  $p < 0.05$ ), свидетельствующее о

росте эмоционального напряжения [3]. Для коррекции вызванных сбоем нарушений обучения и памяти были использованы эталонный ноотроп пирацетам и ноотропы отличной от него структуры, а также два анксиолитика. Пирацетам (300 мг/кг) устранил уменьшение уровня избегания и рост межсигнальных реакций; число реакций избегания у опытных крыс ( $91 \pm 2\%$ ) после сбоя стало превышать ( $p < 0.01$ ) контрольный уровень ( $52 \pm 7\%$ ). Положительный эффект проявили и другие ноотропы, в частности, ноопепт (ГВС-111) и семакс. Анксиолитики феназепам (0.1 мг/кг) и гидазепам (20.0 мг/кг) предотвратили рост межсигнальных реакций, что сопровождалось уменьшением нарушений воспроизведения реакций избегания после сбоя. Так, число реакций избегания под воздействием феназепама стало превышать контрольный показатель ( $82 \pm 9\%$  vs  $61 \pm 8\%$ ;  $p < 0.05$ ).

Пространственную переделку оборонительного навыка осуществляли путём закрытия прохода в перегородке челночной камеры, через который крысы перебежали на другую половину при обучении, и открытия прохода на противоположной стороне перегородки. Это нарушило избегание у контрольных животных, так что в первом предъявлении после переделки отсутствовали не только реакции избегания, но и реакции избавления. При этом парадоксальным образом резко возросло число межсигнальных реакций. В отличие от ситуации со «сбоем», феназепам и гидазепам предотвратили только рост эмоционального напряжения, но не противодействовали падению уровня избегания. Пирацетам, ноопепт и семакс также ослабили рост числа межсигнальных реакций, но, в отличие от анксиолитиков, увеличили и число избеганий относительно контроля.

Таким образом, эффекты ноотропов и анксиолитиков в условиях «сбоя» оказались равнозначными, несмотря на их противоположные свойства (стимулирующие и депримирующие, соответственно). Но механизм их эффектов различен. Анксиолитики уменьшают эмоциональный стресс, вследствие чего крысы успешно воспроизводят рефлекс, когда схема опыта вновь становится прежней. Ноотропы активируют мнестические и когнитивные возможности, способствуя решению задачи избегания; следствием последнего выступает снижение эмоционального напряжения. Влияние ноотропов на воспроизведение реакции избегания после пространственной переделки отличается от анксиолитиков, что может быть объяснено следующим образом. «Переделка» основана на экстренной выработке нового навыка и переобучении, требующих активации мнестических и гностических механизмов, что является точкой приложения для ноотропов, но не для анксиолитиков.

Использованные новые экспериментальные модели ФН условной реакции активного избегания, полезны для изучения механизмов ВНД и влияния на них нейротропных веществ. Модели рекомендованы фармкомитетом РФ для расширенного изучения ноотропной и анксиолитической активности фармакологических препаратов [1].

1. Воронина Т.А., Середенин С.Б. // М.: Медицина, 2005. С. 253-263.
2. Иноземцев А. Н., Прагина Л. Л. // Журн. высш. нервн. деят. 1989. Т. 39. № 4. С. 764-766
3. Симонов П. В. // М.: Наука, 1981. 216 с.
4. LeDoux JE, Moscarello J, Sears R, // Mol Psychiatry, 2017. V.22(1): 24-36

## **ПРИМЕНЕНИЕ АЛГОРИТМОВ ГЛУБОКОГО МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В АНАЛИЗЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДЕЙСТВИЯ L-КАРНИТИНА**

Котихина Е.Е., Карчков Д.А., Рыбкин А.В., Смирнов Р.О., Москаленко В.А.,  
Осипов Г.В., Смирнов Л.А.

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Нижний Новгород*

Использование современных методов исследования биоэлектрической активности (БА) сердца с применением микроэлектродной техники позволяет регистрировать большие объемы

данных. С одной стороны, это способствует проведению исследований на более подробном уровне, но с другой стороны – усложняет анализ результатов. Так, использование микроэлектродных матриц (МЕА), включающих десятки электродов, при изучении работы сердца мелких грызунов ставит перед исследователем задачу проанализировать порядка 20000 локальных полевых потенциалов (ЛПП), возникающих за 1 минуту эксперимента. Решением проблемы обработки большого количества биоэлектрических потенциалов, которое характерно, например, при исследовании возбудимости миокарда, может стать автоматизация обнаружения ЛПП и моментов активации (МА) на электрограммах (ЭГ). С этой целью могут быть использованы алгоритмы глубокого обучения, а именно – применение сегментирующей нейронной сети (НС) на основе архитектуры U-net. Эффективность данной архитектуры была продемонстрирована в задачах сегментации многомерных и одномерных данных (2), что особенно важно для выделения структур в сложных биоэлектрических сигналах. Архитектура U-Net характеризуется наличием сверточных слоев для извлечения признаков и декодером для точного восстановления пространственной информации.

Применение новых методологических подходов в изучении электрофизиологии сердца позволяет получать новые данные в давно исследуемых направлениях. Так, остается открытым вопрос эффективности в лечении и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний приема дополнительных доз L-карнитина (LK), который играет важную роль в липидном обмене и функции митохондрий (3).

**Цель** проведенного исследования заключалась в изучении изменения БА миокарда изолированного сердца крысы при воздействии LK с применением алгоритмов глубокого машинного обучения для анализа ЛПП, зарегистрированных МЕА с эпикарда.

Многоканальные ЭГ регистрировались с помощью гибких МЕА (FlexMEA72, Multichannel systems, Германия) с эпикарда активно сокращающихся изолированных сердец белых аутбредных крыс, перфузируемых по методу Лангендорфа раствором Krebs-Henzley стандартного состава (NaCl 118, KCl 4.7, CaCl<sub>2</sub> 2, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 20, глюкоза 10 ммоль/л) и с добавлением 1 ммоль LK. При каждом сокращении сердца на ЭГ регистрируются ЛПП. Максимум спада на ЛПП соответствует (МА). Сопоставление МА по времени и локации возникновения позволяет оценить частотные и пространственно-временные характеристики БА миокарда.

Для автоматизации процесса обнаружения МА на ЭГ использовалась сегментирующая НС на основе архитектуры U-net, адаптированная для обработки одномерного сигнала. Предварительное обучение НС осуществлялось на ранее полученных авторским коллективом данных. В обучающую выборку были включены ЭГ изолированных сердец крыс, сокращающихся в условиях стандартной перфузии по методу Лангендорфа и при развитии химически-индуцированной фибрилляции. Экспериментальные условия позволили создать выборку из порядка 1 400 000 МА, существенно различающихся по форме, амплитуде и другим характеристикам, с использованием специально разработанного программного приложения (1) для разметки ЭГ и Cardio2D+ (Multichannel systems, Германия). По мере проведения новых исследований обучающая выборка для усовершенствования НС будет увеличиваться за счет регистрируемых ЭГ.

В результате исследований, проведенных методом многоканального картирования МЕА, и с применением сегментирующей НС на основе архитектуры U-net для анализа ЭГ было показано, что присутствие LK в перфузионном растворе вызывает снижение частоты сердечных сокращений и скорости проведения возбуждения в миокарде.

1. Смирнов Л.А., Осипов Г.В., Котихина Е.Е. и др. «Программное обеспечение для визуализации, сегментации и разметки сигнала электрограммы». Тип: свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. 2023685068. 2023.
2. Moskalenko V., Zolotykh N., Osipov G. // Advances in Neural Computation, Machine Learning, and Cognitive Research III: Selected Papers from the XXI International Conference on Neuroinformatics, Springer International Publishing. 2020. P. 246-254.

## МУТАЦИИ сМУВР-С МОГУТ ВЛИЯТЬ НА ЭФФЕКТЫ ОМЕКАМТИВ МЕКАРБИЛА

Кочурова А.М.<sup>1</sup>, Бельдия Е.А.<sup>1,2</sup>, Матюшенко А.М.<sup>3</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>,  
Копылова Г.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург;

<sup>2</sup>УрФУ, Екатеринбург;

<sup>3</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

Сердечный миозин-связывающий белок С (сМуВР-С) является одним из интегральных белков саркомера кардиомиоцитов. Молекула сМуВР-С имеет массу 141 кДа и состоит из 8 иммуноглобулиновых и 3 фибронектиновых доменов, названных от С0 в N-концевой части до С10 в С-концевой части [1]. На N-конце сМуВР-С находятся сайты взаимодействия с тонкими и толстыми нитями саркомера. Домен С0 связывает регуляторную легкую цепь миозина, домены С1-С2 – субфрагмент миозина-2; а домены С0-С2 и линкер между ними взаимодействуют с актином. Домен С1 взаимодействует с тропомиозином (Трп) [2]. сМуВР-С участвует в регуляции сокращения сердечной мышцы, обеспечивая прямое взаимодействие между толстыми и тонкими нитями. Большая часть мутаций, приводящих к гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), находится в гене *MYBPC3* [3]. Молекулярные механизмы развития ГКМП, вызванные точечными мутациями в сМуВР-С, остаются плохо изученными. Мы исследовали влияние ГКМП мутаций D75N и P161S в доменах С0 и С1 на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде, используя *in vitro* подвижную систему (ИПС), а также действие активатора функции сердечного миозина омекамтив мекарбила (ОМ) на актин-миозиновое взаимодействие.

Актин экстрагировали из скелетных мышц кролика, миозин – из левого желудочка сердца свиньи. Человеческий сердечный альфа-Трп, тропонин (Тн) и N-концевые фрагменты С0-С1-т-С2 (С0-С2) сМуВР-С дикого типа (WT) и с аминокислотными заменами D75N и P161S экспрессировали в *E. coli*. Влияние мутаций сМуВР-С на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия изучали в ИПС, реконструируя тонкие нити из актина, Трп и Тн.

Обнаружено, что мутации оказывают противоположный эффект на скорость скольжения тонких нитей в ИПС. Мутация D75N снижала максимальную скорость при  $pCa_4$ , а P161S увеличила её. Обе мутации значительно снижали  $Ca^{2+}$  чувствительность взаимодействия актина и миозина, и мы предположили, что они нарушают активацию тонких нитей поперечными мостиками миозина. Для проверки этого мы проанализировали зависимость скорости скольжения нитей от концентрации миозина. Обе мутации увеличивали концентрацию миозина, необходимую для достижения полумаксимальной скорости тонких нитей, то есть ухудшали мостик-мостиковую кооперативность.

АДФ дозозависимо снижал скорость скольжения тонких нитей в присутствии WT и P161S С0-С2 фрагментов, но не влиял на неё с фрагментом D75N, то есть, мутация D75N оказывает эффект на кинетику обмена нуклеотидов в АТФазном кармане миозина и замедляет его цикл.

ОМ является селективным активатором сердечного миозина. Связываясь с головками миозина, ОМ вовлекает большее их количество во взаимодействие с актином во время систолы [4]. Мы обнаружили, что 0.05 мМ ОМ увеличивает  $Ca^{2+}$  чувствительность актин-миозинового взаимодействия как без добавления, так и в присутствии WT С0-С2 фрагмента, снижая при этом скорость нитей на 30%, что согласуется с ранее опубликованными данными [5]. С P161S С0-С2 фрагментом скорость нитей в присутствии ОМ падала на 30%, но не менялась её  $Ca^{2+}$  чувствительность.

Результаты указывают на то, что существует несколько молекулярных механизмов развития ГКМП, вызванных мутациями D75N и P161S сМуВР-С. Обе мутации ухудшают

сократимость сердца, нарушая активацию тонких нитей. Мутация P161S увеличила скорость скольжения нитей, что может вести к повышению сократимости миокарда. Еще одним возможным механизмом патогенеза мутации D75N является нарушение обмена АТФ/АДФ в нуклеотидном кармане миозина. Результаты экспериментов с ОМ указывают на то, что мутации сМуВР-С могут влиять на эффекты модуляторов функции миозина.

*Исследование поддержано грантом РФФ №22-14-00174.*

1. Previs M.J., Mun J.Y., Michalek A.J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016. V.113. P.3239-3244.
2. Huang X., Torre I., Chiappi M. et al. // J. Muscle Res. Cell Motil. 2023. V.44. P.165-178.
3. Alfares A.A., Kelly M.A., McDermott G. et al. // Genet Med. 2015. V.17(11). P.880-888.
4. Teerlink J.R., Diaz R., Felker G.M., et al. // N Engl J Med. 2021. V. 384(2). P.105-116.
5. Shchepkin D.V., Nabiev S.R., Nikitina L.V. et al. // Biochem Biophys Res Commun. 2020. V.528(4). P. 658-663.

### **МОТИВ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ ГОЛОВОК КАК СТРУКТУРНАЯ ОСНОВА СУПЕР-РАССЛАБЛЕННОГО СОСТОЯНИЯ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ**

Кубасова Н.А.<sup>1</sup>, Цатурян А.К.<sup>1,2</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>3</sup>, Ferenczi M.A.<sup>4</sup>, Padrón R.<sup>5</sup>, Craig R.<sup>5</sup>

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

<sup>2</sup>*Университет Тель Авива, Тель-Авив*

<sup>3</sup>*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

<sup>4</sup>*Brunel University, London*

<sup>5</sup>*University of Massachusetts Chan Medical School, Worcester*

Электронная микроскопия (ЭМ) показывает, что головки миозина в толстых нитях, выделенных из расслабленных поперечно-полосатых мышц, взаимодействуют как друг с другом, так и с супер-альфаспиральным «хвостом» миозина, образуя «мотив взаимодействующих головок» (interacting head motif, ИМ). Этот структурный мотив высоко консервативен во всём животном мире и является основой супер-расслабленного состояния – физиологически важного состояния миозиновых головок, обеспечивающего минимальную скорость гидролиза АТФ, и, следовательно, являющегося энергетически выгодным. Однако недавнее исследование с помощью рентгеновской дифракции и её моделирования, вопреки ожиданиям, пришло к выводу, что ИМ не присутствует в расслабленной мышце рыб [1]. Мы предполагаем, что этот вывод является результатом использования для моделирования такой ЭМ реконструкции толстой нити, в которой головки миозина радиально прижаты к остову толстой нити, а не из-за отсутствия ИМ. Подобный радиальный коллапс в 3-4 нм часто наблюдают в ЭМ исследованиях, использующих технику негативного контрастирования с использованием солей тяжёлых металлов. Мы проверили эту идею, проведя аналогичное моделирование и определив влияние радиального положения головок на положение соответствующих рефлексов на рентгенограмме скелетной мышцы рыбы. Мы обнаружили, что в том случае, когда радиальное положение ИМ скорректировано на вышеуказанный методический артефакт, наблюдается хорошее совпадение с рентгенодифракционными данными. Мы показали, что моделирование малоугловых дифракционных рентгенограмм мышцы относительно нечувствительно к конформации головок миозина, но очень чувствительно к их радиальному расстоянию от оси нити [2]. Наше моделирование подтверждает универсальность ИМ в расслабленной мышце, что подчёркивает его важную роль в поддержании супер-расслабленного состояния и подтверждается новыми структурными данными [3, 4].

1. Knupp C., Morris E., Squire J.M. // Biology (Basel). 2019. V.8. P.67.

2. Koubassova N.A., Tsaturyan A.K., Bershitsky S.Y. et al. // *Biophys J.* 2022. V. 121 P.1354-1366.
3. Dutta D., Nguyen V., Campbell K.S. et al. // *Nature.* 2023. V. 623 P. 853-862.
4. Koubassova N.A., Dutta D., Tsaturyan A.K. et al. // *Biophys. J.* 2024. V. 123. P. 269a.

## АНАЛИЗ ПИК-ВОЛНОВЫХ РАЗРЯДОВ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ

Кужугет С.М.<sup>1</sup>, Аббасова К.Р.<sup>1</sup>

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

Аудиогенные судороги, развивающиеся рефлекторно у грызунов в ответ на звуковую стимуляцию, являются одной из широко применяемых и адекватных экспериментальных моделей генерализованной конвульсивной эпилепсии человека. Крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ) имеют генетическую предрасположенность к аудиогенной эпилепсии и характеризуются высокой чувствительностью к звуковому воздействию и припадками высокой интенсивности (по шкале Крушинского). Среди крыс других инбредных линий, например, линии WAG/Rij, также встречаются животные, предрасположенные к аудиогенной эпилепсии, однако они составляют меньше половины популяции и обычно имеют припадки низкой интенсивности. У аудиогенных крыс описаны различные поведенческие отклонения, такие как повышенная тревожность [1] и нарушения в социальном поведении [2]. Электрофизиологические исследования крыс КМ в основном направлены на изучение активности мозга во время аудиогенных припадков и воздействия аудиогенного киндлинга (раскачки), приводящего к отягощению аудиогенной эпилепсии. В данной работе нами впервые показано наличие у крыс КМ пик-волновых разрядов (ПВР) на ЭЭГ во время спокойного бодрствования, характерных для приступов абсансной эпилепсии. Абсансная эпилепсия – это генерализованная нековульсивная форма эпилепсии. Одной из распространенных генетических моделей абсансной эпилепсии является линия крыс WAG/Rij, наряду с крысами линии GAERS.

**Цель** – исследовать пик-волновые разряды на ЭЭГ у крыс линии КМ и сравнить их характеристики с абсансной активностью двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij (предрасположенные к аудиогенной эпилепсии и неаудиогенные). Исследование проводили на самцах крыс линии КМ (n=11), аудиогенных крыс линии WAG/Rij (n=8) и неаудиогенных WAG/Rij (n=8) в возрасте 6-7 месяцев. Регистрацию ПВР проводили с помощью биполярных электродов, вживленных во фронтальную кору. Проводили спектральный анализ ЭЭГ, а также оценивали количественные характеристики ПВР: количество, суммарную и среднюю длительность ПВР и индекс ПВР за 1 час записи. Тестирование на предрасположенность к аудиогенным судорогам проводили после записи ЭЭГ.

На ЭЭГ крыс линии КМ в состоянии спокойного бодрствования были зарегистрированы ПВР, спектральный анализ (анализ Фурье) которых показал пики мощности на фундаментальной частоте (8-9 Гц), а также пики в области кратной фундаментальной гармоники в диапазоне, соответственно 16-18 Гц (первая) и 24-27 Гц (вторая). Зарегистрированные ПВР подавлялись при в/бр введении противоабсансного препарата этосуксимида (50 мг/кг). Таким образом, можем предположить, что ПВР у крыс КМ имеют ту же природу, что и абсансные ПВР. Сравнение ЭЭГ крыс КМ с аудиогенными WAG/Rij (аудиогенные судороги низкой интенсивности) и неаудиогенными WAG/Rij, показало следующие результаты: у крыс КМ за 1 час записи было зарегистрировано в 2 раза больше эпизодов ПВР по сравнению с аудиогенными WAG/Rij и в 2,9 раза больше по сравнению с неаудиогенными WAG/Rij (КМ  $61,4 \pm 22,4$ , ауд. WAG/Rij  $30,1 \pm 12,1$ , неауд. WAG/Rij  $21,4 \pm 10,8$  (M $\pm$ SD)). Суммарная длительность ПВР у КМ в 3 раза больше, чем у аудиогенных WAG/Rij, и в 5,9 раза больше, чем у неаудиогенных WAG/Rij (КМ  $847,6 \pm 427,2$  с, ауд. WAG/Rij  $274,8 \pm 84,0$  с, неауд. WAG/Rij  $170,4 \pm 103,7$  с (M $\pm$ SD)). Средняя длительность ПВР у КМ

больше, чем у неаудиогенных WAG/Rij, в 1,7 раза и статистически не отличается от длительности ПВР у аудиогенных WAG/Rij (KM  $13,2 \pm 5,3$  с, ауд. WAG/Rij  $9,8 \pm 3,5$  с, неауд. WAG/Rij  $7,6 \pm 1,5$  с (M $\pm$ SD)). Индекс ПВР за 1 час записи у крыс KM в 3 раза больше, чем у аудиогенных WAG/Rij, и в 5 раз больше, чем у неаудиогенных (KM  $23,6 \pm 11,9$  с, ауд. WAG/Rij  $7,6 \pm 2,3$  с, неауд. WAG/Rij  $4,7 \pm 2,8$  с (M $\pm$ SD)).

Результаты нашего исследования показывают, что у крыс линии Крушинского-Молодкиной регистрируемые пик-волновые разряды абсансной природы более частые и более продолжительные, чем у крыс WAG/Rij аудиогенной и неаудиогенной субпопуляции. Полученные результаты могут указывать на отягощение абсансной эпилепсии у крыс при одновременном наличии у них аудиогенной эпилепсии.

1. Poletaeva I. I., Surina N. M., Kostina Z. A., et al. // *Epilepsy&Behavior*. 2015. V. 71. P. 130-141.
2. Rebiĳ A., Broshevitskaya N., Kuzhuĳet S., et al. // *Biomedicines*. 2023. V. 11(9). P. 2566.

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ БЛОКАДЫ If ТОКОВ НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫС НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

*Купцова А.М., Иванова Т.С., Зиятдинова Н.И., Зефиоров Т.Л.  
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань*

Инфаркт миокарда (ИМ) и связанные с ним осложнения (желудочковые аритмии, развитие хронической сердечной недостаточности, кардиомиопатия), являются причиной значительной заболеваемости, инвалидизации и смертности людей во всем мире. ИМ запускает сложный патофизиологический процесс, который повреждает кардиомиоциты, коронарные сосуды. Частота сердечных сокращений (ЧСС) является одним из определяющих факторов клинических исходов ИМ, а ее снижение может быть полезной из-за тесной связи между ЧСС, коронарным кровотоком и сократительной функцией сердца. Ток, активируемый гиперполяризацией (If) является привлекательной мишенью в контроле ЧСС в норме и патологических состояниях (2). При сердечной недостаточности, гипертрофии желудочков и ИМ уровень If повышается (4). Исследования на моделях после ИМ показали, что пероральное введение блокатора If привело к снижению ЧСС, уменьшению фиброза, улучшению систолической функции и коронарной перфузии у крыс, путем модификации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (3). В исследовании на изолированном сердце с моделью острейшего ИМ блокада If уменьшала инотропию, хронотропию и коронарный поток (1). Несмотря на значительное количество данных, свидетельствующих об участии If в сердце с патологическими изменениями, роль данных токов в механизмах развития ИМ на разных стадиях его формирования остается невыясненной.

**Цель исследования** - изучить влияние блокады токов, активируемых гиперполяризацией на ЧСС изолированного сердца крыс на разных стадиях экспериментального инфаркта миокарда.

Экспериментальный ИМ воспроизводили путем наложения лигатуры на левую нисходящую коронарную артерию. В эксперименте использовано 6 групп животных: здоровые крысы (контроль), крысы на стадии острейшего ИМ (20 минут после операции), острого ИМ (через 1 сутки), подострого ИМ (через 10 дней), рубцовой стадии ИМ (через 54 дня), стадии отдаленных последствий ИМ (через 120 дней). ЧСС изучали в экспериментах на изолированном по Лангендорфу сердце крыс. Электрограмму сердца регистрировали с помощью атравматических электродов. Для блокады If использовали препарат ZD7288 (Sigma) в концентрации  $10^{-9}$  и  $10^{-5}$  Моль.

В группе здоровых животных блокатор If ( $10^{-9}$  М) уменьшал ЧСС на 19% ( $p < 0.001$ ), у крыс с острейшим ИМ - на 15% ( $p < 0.001$ ). У животных с острым и подострым ИМ при блокаде If

ЧСС уменьшалась на 20% ( $p < 0.05$ ) и 17% ( $p < 0.05$ ), соответственно. В рубцовой стадии ИМ наблюдалось наиболее выраженное снижение ЧСС - на 32% ( $p < 0.05$ ). На стадии отдаленных последствий наблюдали минимальное уменьшение ЧСС на 6% ( $p < 0.05$ ).

При блокаде If препаратом ZD7288 в концентрации  $10^{-5}$  М у здоровых животных ЧСС уменьшилась на 20% ( $p < 0.01$ ). В острой стадии ИМ ZD7288 снижал ЧСС на 49% ( $p < 0.01$ ), от исходного значения. В группе с подострым ИМ блокада If приводила к урежению сердечной деятельности на 45% ( $p < 0.001$ ). Максимальная брадикардия на 62% ( $p < 0.001$ ) наблюдалась в рубцовой стадии ИМ, на стадии отдаленных последствий ЧСС уменьшалась на 13% ( $p < 0.05$ ).

Таким образом, в исследовании на изолированных сердцах крыс на разных стадиях экспериментального ИМ блокада If приводила к снижению ЧСС во всех экспериментальных группах животных, в исследуемых концентрациях препарата. Максимальные эффекты влияния блокады If выявлены на стадии рубцовых изменений ИМ. Возможно, полученная динамика выраженности наблюдаемых эффектов при блокаде If на разных стадиях экспериментального ИМ связана с изменением плотности и активности HCN каналов в ишемизированном миокарде.

1. Купцова А.М., Бугров Р.К., Зиятдинова Н.И., Зефилов Т.Л. // Ульяновский медико-биологический журнал. 2022. Т. 3, С. 106–119.
2. Sartiani L., Mannaioni G., Masi A. // Pharmacol Rev. 2017. Vol. 69. P. 354–395.
3. Sripusanapan A., Yanpiset P., Sriwichaiin S. et al. // Acta Physiol. 2024. 240: e14085.
4. Rivolta I., Binda A., Masi A. & DiFrancesco J.C. // Eur J of Physiology. 2020. Vol. 472. P. 931–951.

## ОСОБЕННОСТИ ЭФФЕКТОВ БЛОКАТОРА БЕТА-АДРЕНорецепторов НА ВАРИАбельность Сердечного Ритма Крыс со стимуляцией ЦЕНТРАЛЬНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ

Трясучев А.В., Ступин В.О., Курьянова Е.В.

*Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева, г. Астрахань, Россия*

Блокаторы бета-адренорецепторов способны снижать уровень адренергических влияний на миокард, и применяются для коррекции нарушений ритма сердца [3]. Полагают, что в возникновение аритмий и гипертензии существенный вклад вносят изменения на уровне надсегментарных структур. Аномальная активность центральных моноаминергических систем может возникнуть при длительных стрессах, эмоциональном перевозбуждении, вследствие приема стимулирующих средств, в том числе энергетиков. В этой связи представляется важным оценивать последствия повышенной активности центральных нейромедиаторных систем для функционирования периферического регуляторного аппарата, оказывающего непосредственное влияние на органы и ткани организма. **Цель работы** – проанализировать влияние стимуляции центральных норадренергической, серотонин- и дофаминергической систем (НАС, СРС и ДФС) на выраженность эффектов бета-блокатора в отношении вариабельности сердечного ритма (ВСР) нелинейных крыс.

У самцов нелинейных крыс изучали ВСР на фоне внутривентрикулярного введения препаратов, стимулирующих НАС (мапротилин, 10 мг/кг), СРС (5-гидрокситриптофан, 50 мг/кг и флуоксетин, 3 мг/кг), ДФС (L-Допа и амантадина по 20 мг/кг), и оценивали изменения ВСР у этих животных после однократной инъекции бета-адреноблокатора анаприлина (АНП, 2 мг/кг) [2, 5]. ЭКГ регистрировали на аппаратно-программном комплексе «Варикард» в состоянии спокойного бодрствования. ВСР анализировали в программе «ИСКИМ6» (Россия). Рассчитывали ЧСС (уд./мин), индекс напряжения (ИН, отн. ед.), мощности волн спектра (HF, LF, VLF, по [4]), индекс централизации (IC, отн. ед.) [1]. Результаты обработаны в Statistica.10.

У контрольных крыс, получавших физиологический раствор, введение АНП привело к урежению ЧСС почти на 20% ( $p < 0,01$ ) или до 250-260 уд./мин. Повышение ригидности сердечного ритма проявилось в росте ИН на 66% ( $p < 0,05$ ) и было связано со снижением мощности VLF-волн на 62% ( $p < 0,05$ ).

Стимуляция НАС сопровождалась повышением средней ЧСС до 340-360 уд./мин ( $p < 0,05$ ), ИН - до 45-50 отн. ед. ( $p < 0,1$ ) при ослаблении вариабельности в LF-диапазоне (на 20%,  $p < 0,1$ ). Введение АНП на этом фоне вызвало снижение ЧСС на 16,7% (до 280-290 уд./мин,  $p < 0,01$ ), рост ИН на 74,2% (до 80-85 отн. ед.,  $p < 0,01$ ) и снижение IC до 0,5 отн. ед. ( $p < 0,05$ ) при ослаблении мощности волн в LF- и VLF- диапазонах (на 75%,  $p < 0,01$  и 80%,  $p < 0,05$ ).

У крыс со стимуляцией СРС, отличавшихся в покое высокими величинами ЧСС (более 400 уд./мин), ИН (около 200 отн. ед.) и очень низкой мощностью волн во всех диапазонах спектра ВСР (ниже  $1 \text{ мс}^2$ ), после введения АНП ЧСС снизилась до 285 уд./мин или на 31% ( $p < 0,001$ ), ИН снизился до 60 отн. ед. ( $p < 0,01$ ). При этом выросла мощность HF-волн на 125%, LF-волн – на 150% ( $p < 0,05$ ). Однако в целом вариабельность оставалась ниже, а ИН - выше, чем в контроле ( $p < 0,1$ ).

Стимуляция ДФС вызвала умеренный рост ЧСС (до 340-350 уд./мин) и усиление мощности LF-волн на 114% ( $p < 0,01$ ), VLF-волн – на 83% ( $p < 0,1$ ), которые оказались выше контрольных в 2,6-2,3 раза ( $p < 0,01$ ). Из-за усиления низкочастотных волн IC превысил 4 отн. ед. ( $p < 0,01$ ), но ИН был близок к контрольному. Введение АНП на фоне стимуляции ДФС привело к урежению ЧСС до 290-300 уд./мин (на 14%,  $p < 0,05$ ). ИН вырос на 85% ( $p < 0,05$ ), IC снизился на 71%, до 1,1 отн. ед. ( $p < 0,01$ ) и стал ниже, чем в контроле, в связи с резким снижением мощности волн LF (на 75%,  $p < 0,001$ ) и VLF (на 77%,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, при блокаде бета-адренорецепторов на фоне стимуляции центральных нейромедиаторных систем 1) урежение ЧСС выражено слабее, т.к. во всех экспериментальных сериях ЧСС после введения анаприлина выше, чем в контрольной серии; 2) снижение мощности VLF и LF – волн проявляется сильнее при стимуляции НАС и ДФС; 3) прирост вариабельности за счет усиления HF и LF-волн регистрируется только на фоне стимуляции СРС, но мощность волн ВСР остается ниже контрольной 4) рост ИН и снижение IC отмечены на фоне стимуляции НАС и ДФС, снижение ИН и IC – на фоне стимуляции СРС. Следовательно, стимуляция центральных нейромедиаторных систем вызывает повышение адренергических влияний, что заметно влияет на эффекты блокатора бета-адренорецепторов в отношении ЧСС и параметров ВСР. Направленность и степень изменения показателей ВСР подтверждают синергизм эффектов стимуляции НАС и ДФС, и некоторую противоположность им эффектов стимуляции СРС.

1. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В., др. // Вестник аритмологии. 2002. №24. С. 65-87.
2. Белова Е.И. // М.: Аспект Пресс. 2006. 176 с.
3. Katzung B.G., Masters S.B., Trevor A.J. // McGraw-Hill Companies, Inc. 2012. 1245 p.
4. Курьянова Е.В. Вегетативная регуляция сердечного ритма: результаты и перспективы исследования: монография. Астрахань, Изд. дом «Астраханский университет», 2011. 139 с.
5. Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Ступин В.О., др. // Бюллетень эксп. биол. и медицины. 2020. Т.170, № 11. С.536-542.

## ПОДТИПЫ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОГИПОФИЗАРНЫХ ГОРМОНОВ: РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСКРЕЦИИ ВОДЫ, ИОНОВ И АЛЬБУМИНА ПОЧКАМИ У КРЫС

Кутина А.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург*

Нонапептиды нейрогипофиза, вазопрессин (АВП) и окситоцин (ОТ) у млекопитающих и вазотоцин и мезотоцин у большинства других позвоночных, и их рецепторы – представители одной из наиболее распространенных гормональных систем у животных. В ряду позвоночных идентифицировано 6 подтипов рецепторов к нейрогипофизарным гормонам, из которых у млекопитающих обнаружено 4 подтипа: V1aR, V1bR, V2R, OTR. Описано множество эффектов АВП и ОТ в почке на фильтрацию альбумина и транспорт воды и ионов натрия, при этом направленность перечисленных влияний нейрогипофизарных гормонов остается дискуссионной. АВП рассматривается и как гормон, задерживающий натрий в организме, и как натрийуретический фактор. В литературе есть работы, указывающие на его роль, как фактора прогрессии альбуминурии, а также свидетельства снижения экскреции альбумина при действии антидиуретического гормона. Целью работы было исследование эффектов различных доз АВП и ОТ у крыс на функции почек (экскрецию альбумина, воды, ионов натрия и калия) и анализ обусловленности выявленных эффектов тем или иным подтипом рецепторов.

Эксперименты выполнены на самках крыс Вистар в возрасте 2–4 мес. Все дозы препаратов и показатели функции почек рассчитывали на 100 г массы тела. Для стандартизации водного баланса животных поили водой (1 или 2 мл). АВП (0.005, 0.015, 0.05, 0.15 нмоль), ОТ (0.015, 0.05 и 0.15 нмоль) и агонисты V1aR (Фен<sup>2</sup>,Иле<sup>3</sup>,Орн<sup>8</sup>-вазопрессин), V1bR (дезамино-Цис<sup>1</sup>,Лей<sup>4</sup>,Лиз<sup>8</sup>-вазопрессин), V2R (десмопрессин), OTR (карбетоцин) вводили крысам внутримышечно, V<sub>2</sub>-антагонист и V<sub>1a</sub>-антагонист – внутривенно. Часть экспериментов проведена на крысах с моделированием микроальбуминурии внутривенным введением метилового эфира D-нитроаргинина (D-NAME, 5 мг). Пробы мочи у крыс собирали в индивидуальных клетках. В пробах определяли осмоляльность, уровень общего белка и альбумина, концентрацию ионов натрия, калия.

В дозе 0.005 нмоль АВП затормозил развитие водного диуреза после водной нагрузки (хорошо известный эффект активации V2R) и снизил экскрецию натрия. У здоровых крыс АВП в этой дозе не повлиял на выведение альбумина, а у крыс с исходной микроальбуминурией привел к нормализации экскреции белка. Этот эффект воспроизводился введением V2R-агониста. При повышении дозы АВП в 3 раза (до 0.015 нмоль) избирательно возросла экскреция калия почками. Селективный калийурез воспроизводился введением агониста V1bR. Экскреция альбумина при действии V1bR-агониста не изменилась. При повышении дозы АВП до 0.15 нмоль у крыс наблюдался натрийурез, калийурез и интенсивная реабсорбция осмотически свободной воды. Натрийурез воспроизводился введением V1aR-агониста. Антагонист V1aR устранил натрийурез при сохранении калийуретического и антидиуретического действия гормона, а антагонист OTR не повлиял на эффекты высокой дозы АВП. АВП в дозе 0.15 нмоль у здоровых крыс провоцировал появление микроальбуминурии, а у крыс с моделированием нарушений свойств гломерулярного фильтра (введение D-NAME) провоцировал выраженную протеинурию и альбуминурию (экскреция альбумина возросла в 100 раз). Блокада V2R усугубила потерю общего белка и альбумина, вызванную D-NAME и АВП, а блокада V1aR полностью ее предотвратила - экскреция альбумина и общего белка у крыс соответствовала нормальному уровню.

ОТ в дозе 0.005 нмоль и агонист OTR умеренно повысили выведение натрия и способствовали более быстрому развитию водного диуреза, повышению клиренса осмотически свободной воды. ОТ (0.005 нмоль) у здоровых крыс не повлиял на выведение альбумина, а у крыс с исходной микроальбуминурией способствовал нормализации экскреции

белка. При увеличении дозы ОТ наблюдались те же эффекты, что и для АВП (антидиурез, калийурез, усиление натрийуреза).

Таким образом, активация V2R вызывает антидиурез, антинатрийурез и нормализацию экскреции альбумина, V1bR – калийурез, V1aR – натрийурез и повышение экскреции альбумина, а ОTR - усиление водного диуреза, натрийурез и нормализацию экскреции альбумина. Полученные данные свидетельствуют о том, что множественные и разнонаправленные эффекты нейрогипофизарных гормонов на функции почек обусловлены различным спектром активируемых подтипов рецепторов при разной концентрации АВП и ОТ в крови.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН (№ 075-00264-24-00).*

## УЧАСТИЕ НЕЙРОКИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Ласукова Т.В.<sup>1</sup>, Горбунов А.С.<sup>2</sup>, Позднякова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск

Достаточно детально исследован феномен «ишемического прекондиционирования», суть которого заключается в повышении адаптационной устойчивости сердца к действию длительной ишемии после нескольких профилактических сеансов кратковременной коронароокклюзии и реперфузии [1]. Показано, что аналогичный кардиопротекторный эффект наблюдается при моделировании коротких эпизодов ишемии-реперфузии в постишемическом периоде после прекращения длительной ишемии сердца. Это явление получило название «ишемического посткондиционирования» [2]. Адаптивный феномен ишемического посткондиционирования воспроизводится не только в экспериментах *in vivo*, но и *in vitro* как на изолированном сердце, так и на культурах кардиомиоцитов. Можно предположить, что в механизме кардиопротекторного эффекта задействованы процессы, протекающими в самих клетках миокарда. В дальнейшем оказалось, что опиоидные пептиды играют существенную роль в ишемическом посткондиционировании [3]. Однако до сих пор оставался неизвестным рецепторный механизм ишемического посткондиционирования. **Цель работы** - изучение роли эндогенных агонистов  $\delta$ - и  $\kappa$ -опиоидных рецепторов в механизме адаптивного феномена ишемического посткондиционирования изолированного перфузируемого сердца.

Эксперименты проведены на модели изолированного перфузируемого по методу Лангендорфа сердце крыс. После 20-мин стабилизационного периода моделировали тотальную ишемию миокарда посредством полного прекращения подачи перфузионного раствора на 45 мин, а в начале реперфузии воспроизводили феномен ишемического посткондиционирования (ИП) с помощью трех сеансов ишемии (30 с) и реперфузии (30 с). продолжали наблюдение в течение 30 мин. Сразу после 3-х адаптационных циклов ИП в первые 10 минут реперфузии сердца перфузировали раствором Кребса-Хензelayта с антагонистами опиоидных рецепторов. Использованы блокаторы опиоидных рецепторов (ОР): неселективный антагонист всех типов опиоидных рецепторов налоксон, селективный антагонист  $\delta$ -рецепторов TIPP, селективный антагонист  $\delta_1$ -опиоидных рецепторов 7-Benzylidenenaltrexone maleate (BNTX), селективный антагонист  $\delta_2$ -опиоидных рецепторов налтрибен и антагонист  $\kappa$ -опиоидных рецепторов норбиналторфимин. Кардиопротекторный эффект оценивали по уровню активности креатинфосфокиназы (КФК) в оттекающем от сердца перфузате.

Кардиопротекторный эффект посткондиционирования был зафиксирован при использовании трёх циклов реперфузии-ишемии по 60с. В этом случае уровень КФК в перфузате был на 32% ниже, чем в контроле. На фоне блокады ОР (300 нМ/л) кардиопротекторный эффект ИП не проявился, поскольку активность КФК в перфузионном растворе оказалась идентична показателю контрольной группы. Это говорит о том, что

опиоидные рецепторы принимают участие в реализации кардиопротекторного эффекта ИП. При использовании смешанного антагониста  $\delta_1$ - и  $\delta_2$ -рецепторов налтриндола (30 нМ/л) защитный эффект ИП также выявить не удалось. Значит, что  $\delta$ -ОР принимают участие в формировании кардиопротекции. Дельта-ОР подразделяются на два субтипа:  $\delta_1$ - и  $\delta_2$ -, и дальнейшие эксперименты позволили выявить роль каждого из них в реализации защитного феномена посткондиционирования.

Оказалось, что на фоне блокады  $\delta_1$ -рецепторов селективным антагонистом BNTX в конечной концентрации 1 нМ/л толерантность сердца к патогенному действию реперфузии после посткондиционирования не проявлялась. В то же время, применение селективного антагониста  $\delta_2$ -рецепторов налтрибена в конечной концентрации 1 нМ/л не повлияло на кардиопротекторный эффект. Полученные данные свидетельствуют о том, что в реализации кардиопротекторного эффекта посткондиционирования ключевую роль играют  $\delta_1$ -опиоидные рецепторы.

Оценка роли эндогенных к-агонистов в реализации исследуемого феномена проводилась посредством их селективной блокады с помощью норбинаторфимина в конечной концентрации 3 нМ/л. Получены факты, не подтверждающие участие эндогенных к-агонистов в защитном эффекте посткондиционирования, поскольку блокада последних не повлияла на кардиопротекцию. Следовательно, к-опиоидные рецепторы не участвуют в механизме кардиопротекторного эффекта ишемического посткондиционирования.

1. Gross G. J. // J. Mol. Cell. Cardiol. 2003. 35(7): P.709–718.
2. Srensson P. et al. // Heart. 2010. 96(21): P.1710–1715.
3. Zatta A.J., et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2008. 294(3): P.1444–1451.

## **ИНВЕРСНАЯ ИММУНОРЕГУЛЯЦИЯ: ЭКСЦЕНТРИЧНАЯ ГИПОТЕЗА АКАДЕМИКА И.П. АШМАРИНА, ИЛИ ОТКРЫТИЕ НОВОЙ СИСТЕМЫ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ?**

**Ловать М.Л.<sup>1</sup>, Савицкий В.С.<sup>1</sup>, Белопольская М.В.<sup>2</sup>, Кушнир Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>ООО «НИИ Митотехнологии МГУ»

Концепция, предложенная И.П. Ашмариным в 1973 году о единстве нервной и иммунной регуляции нормальных физиологических функций высоко актуальна и сегодня. Суть гипотезы заключается в том, что иммунологическая и нейронная память обладают общими свойствами, такими как: запуск каскадов в клетке-мишени; наличие пластичности; узнавание по принципу «ключ-замок», а также селективностью. Следовательно, в формировании следа памяти может принимать участие не только нервная система, которая отбирает и фиксирует важные события внешней среды, но также и иммунная система, которая запоминает внутреннее состояние и настройку работы регуляторных систем в значимых ситуациях. На роль эффекторов претендуют аутоантитела, синтезируемые клетками иммунной системы, регуляторные пептиды, а также факторы, синтезируемые глиальными клетками (в том числе. микроРНК). В здоровом организме такой континуум, состоящий из сотен видов регуляторных пептидов и аутоантител, регулирующих их содержание, обеспечивал устойчивое и согласованное состояние органов и тканей (гомеостаз). При нарушениях данного баланса, например, в случае травм, инфекций, хронического контакта с токсинами или психоактивными молекулами, формируется патологический набор пептидов (и, возможно, микроРНК), поддерживаемый регуляторными аутоантителами. Основываясь на данной концепции, И.П. Ашмарин рассматривал многие дисфункции, такие как артериальную гипертензию, диабет, расстройства тиреоидной оси, а также депрессию, алкоголизм и наркоманию и др., как примеры такого нарушения иммунорегуляции. Следовательно, меняя количество и соотношение таких молекул, появляется возможность коррекции хронических дисфункций не

только на периферии, но и в мозге. Одним из малоинвазивных способов терапии данных патологических состояний может быть инверсная иммунорегуляция – мягкая иммунизация гетерологичными, либо модифицированными гомологичными молекулами, вызывающая легкий иммунный ответ на собственные мишени (ферменты, рецепторы, регуляторные пептиды).

Силами сотрудников кафедры физиологии, а также в коллаборации с коллегами из других учреждений, была проведена иммунизация к ряду регуляторных соединений (гормонам щитовидной железы, ферментам метаболизма этанола, обмена биоаминов), некоторые из которых показали свою способность на месяцы менять ключевые настройки организма. Важно, что возможно было как подавлять, так и повышать активность данных систем.

К сожалению, методические возможности того времени не позволили выявить все звенья данной регуляторной системы и ключевые механизмы взаимодействия. В настоящее время имеются многочисленные свидетельства наличия отдельных компонентов такой системы, однако исследователи рассматривают лишь отдельные этапы патогенеза, не касаясь его общей парадигмы. Возможности омиксных технологий и машинного обучения, возможно, в итоге смогут ответить на вопрос, существует ли данная система регуляции, или в случае каждой из изучаемых патологий триггеры и цепи патогенеза будут отличаться.

1. Ашмарин И.П. Загадки и откровения биохимии памяти. под ред. Е. М. Крепса; Ленинградский гос. ун-т им. А. А. Жданова. Ленинград: Издательство Ленинградского университета, 1975. 157 с.
2. Белополюская М.В., Рудько О.И., Данилова Р.А., Ашмарин И.П. Дизрегуляторная патология. Медицина Москва, ISBN 5-225-04747-5, 2002, 630 с.

## **АНАЛИЗ ФУРЬЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В ПОЯСНИЧНОМ РЕГИОНЕ ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН**

Макаров А.Д.<sup>1</sup>, Лимонов Е.В.<sup>1</sup>, Ревенко С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт экспериментальной кардиологии им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава РФ, Москва*

На сегодняшний день актуальной задачей медицины остается разработка новых неинвазивных способов оценки активности автономной нервной системы (АНС) [3]. Современная электроника и развитие программного обеспечения создали условия для прогресса в оценке активности АНС на основе измерения слабых электрофизиологических сигналов в различных регионах тела человека и их специальной математической обработки, включающей анализ Фурье. Особенностью активности АНС являются периодические изменения электрических характеристик кровеносных сосудов, проявляющиеся в ритмических изменениях разности биопотенциалов (БП) и биоимпедансов (БИ), измеряемых парой электродов, расположенных в исследуемом регионе тела человека [1]. Такие измерения позволили обнаружить периодические колебания БП и БИ в полосе частоты Майера (0.03-0.2 Гц) и в полосе частоты дыхания Траубе-Геринга (0.3-0.4 Гц), которые связывают с активностью, соответственно, симпатической [4] и парасимпатической [2] ветвей АНС. Анализ Фурье позволяет определить магнитуды (эффе́ктивные значения) этих колебаний, получив тем самым параметры активностей симпатической (СА) и парасимпатической (ПСА) АНС.

**Цель исследования** - определение референсных параметров активности АНС в почечном регионе у здоровых мужчин с помощью анализа Фурье.

Для неинвазивной оценки активности АНС в левом и правом поясничных регионах здоровых мужчин в возрасте от 20 до 60 лет (n=26) в области почек, определяли БП и БИ. Регистрацию и анализ сигналов выполняли с помощью программно-аппаратного комплекса

для анализа биосигналов, разработанного в Отделе биоинженерных технологий и поддержки научных исследований ИЭК ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» МЗ РФ. Одновременно записывались БП и БИ, отводимые двумя неполяризуемыми хлорсеребряными электродами лежа и стоя (ортопроба). Сигналы оценивали, применяя анализ Фурье, получая спектральные пики в области частоты Майера ( $M=0.1-0.2$  Гц) и контролируемой частоты дыхания Траубе-Геринга ( $TH=0.35$  Гц). Интегрированная в комплекс оригинальная программа А5 (ООО НПФ «БИОЛА») позволяла записывать и отображать на экране компьютера электрофизиологические сигналы и выполнять их анализ.

В исследовании получены параметры, позволяющие оценить активность АНС в области почек у здоровых мужчин: спектральные пики магнитуд БП на частоте Майера  $MV = 24$  (17;34) мкВ и частоте Траубе-Геринга  $THV = 8$  (4;18) мкВ, а также для БИ на соответствующих частотах  $M\Omega = 19$  (12;27) мОм и  $TH\Omega = 34$  (18;49) мОм. При вычислениях выбирали участки записи без высокоамплитудных импульсов или существенных колебаний изолинии («всплесков»). После определения электрических параметров в правом и левом поясничном регионах обнаружили, что данные оказались статистически неразличимыми ( $p>0.4$ ,  $n=23-28$ ). Это позволило объединить результаты в одну общую группу ( $n=45-50$ ). Ортопроба показала, что все ортостатические коэффициенты (ОСК), достоверно отличались от единицы, соответствующей отсутствию реакции на ортопробу. Также получены параметры:  $ОСК\_MV = 1.2$  (0.8;2.0) мкВ;  $ОСК\_THV = 1.2$  (0.6;2.0) мкВ;  $ОСК\_M\Omega = 2.8$  (1.9;5.2) мОм,  $ОСК\_TH\Omega = 2.8$  (1.5;4.4) мОм. По обоим пикам  $M\Omega$  и  $MV$  ортопроба показала достоверные увеличения, но наиболее выраженное изменение отразил параметр  $ОСК\_M\Omega$  ( $p<0.001$ ). Достоверные изменения при ортопробе показал параметр  $ОСК\_THV$  ( $p<0.05$ ), но наиболее выраженное увеличение показал  $ОСК\_TH\Omega$  ( $p<0.001$ ). Таким образом, для оценки функционирования обеих ветвей АНС в поясничном регионе с помощью ортопробы наиболее показательным является определения параметр БИ  $M\Omega$ , демонстрирующий более сильный рост по сравнению с увеличением параметров БП  $MV$ . Следовательно, эти 8 параметров можно применить как референсные значения при оценке активности АНС в поясничном регионе.

Получены медианные и квартильные магнитуды спектральных пиков биопотенциалов и биоимпедансов на частотах Майера и Траубе-Геринга в поясничном регионе здоровых мужчин, которые могут быть использованы в качестве референсных значений для неинвазивной оценки активности АНС в области почек.

1. Нестеров А.В., Гаврилов И.Ю., Селектор Л.Я. и др. // Бюл. exper. биол. 2010. Т.150, №7. С.31-37.
2. Barnett W.H., Latash E.M., Capps R.A. et al. // J. Appl. Physiol. 2020. Vol.129, N5. P.1193-1202.
3. Cheshire W.P., Freeman R., Gibbons C.H. et al. // Clin. Neurophysiol. 2021. Vol.132, P.666-682.
4. Julien C. // Cardiovasc. Res. 2006. Vol.70, N1. P.12-21.

## **ВЛИЯНИЕ КОНГРУЭНТНОЙ СЕНСОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ДЕСИНХРОНИЗАЦИЮ МЮ-РИТМА ЭЭГ ПРИ ПРОИЗВОЛЬНОМ ПРЕДСТАВЛЕНИИ ДВИЖЕНИЙ**

Маковская А.Е., Каплан А.Я., Васильев А.Н.

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

Мысленное представление движений (идеомоторная тренировка) широко изучаются в качестве инструмента для улучшения моторных навыков, нейрореабилитации и понимания механизмов сенсомоторной интеграции. Несмотря на отсутствие эфферентного компонента, представление движения вызывает тот же паттерн активации структур мозга, что и само произвольное движение. Однако, поскольку выраженность активации мозга при

представлении, как правило, значимо ниже, чем при движении, предпринимаются активные попытки усилить действенность идеомоторной тренировки за счёт дополнительной внешней стимуляции [1, 2]. Поэтому предметом настоящего исследования была оценка влияния конгруэнтной сенсорной стимуляции — визуальной, аудиальной и аудиовизуальной — на паттерны мю-ритма электроэнцефалограммы (ЭЭГ), как одного из наиболее выраженных нейрофизиологических маркеров активации сенсомоторных контуров мозга. Основная гипотеза исследования заключалась в том, что конгруэнтные стимулы, дополняющие мультисенсорный двигательный образ, усилят как субъективную яркость образа, так и его нейрофизиологическую выраженность, оцениваемую по десинхронизации мю-ритма.

Было проведено две серии экспериментов на здоровых добровольцах (N = 70). Задачей первой серии было сравнение конгруэнтных видео-стимулов различного темпа и предсказуемости у испытуемых, уже обученных произвольному представлению в ответ на статичные стимулы. Тогда как во второй серии изучалось влияние конгруэнтных аудио- и аудиовизуальных стимулов у наивных испытуемых, обучаемых с конгруэнтными и статичными стимулами. Перед началом исследования все испытуемые давали информированное добровольное согласие на участие в эксперименте, а все процедуры исследования были одобрены комиссией по биоэтике МГУ (Заявка №30-ч, протокол заседания Комиссии №160-д-з от 21.03.2024).

При помощи вейвлет-анализа было показано, что наблюдение за конгруэнтным представляемому движением от первого лица приводило к значимому увеличению амплитуды десинхронизации мю-ритма ЭЭГ в контралатеральном полушарии по сравнению с произвольным представлением без стимуляции. Кроме того, динамика десинхронизации мю-ритма зависела от скорости и ритмичности представляемого движения: чем медленнее движение, тем сильнее амплитуда и больше продолжительность десинхронизации. Эта закономерность выполнялась и для произвольных движений. При представлении вслед за звуковым конгруэнтным стимулом, а также при совмещении звукового и визуального конгруэнтного стимулов контралатеральная десинхронизация мю-ритма значимо увеличивалась. Эффект присутствовал как для группы, обучавшейся с конгруэнтным стимулом, так и группы со статичным стимулом, но во втором случае он более выражен. Анализ субъективных оценок испытуемых показал, что яркость двигательного образа усиливается при конгруэнтной стимуляции, а предпочтение испытуемых значимо сдвинуто в сторону аудиальных и аудиовизуальных стимулов независимо от изначального способа обучения представлению. Эти результаты подтверждают важную роль мультимодальной сенсорной информации в моторном планировании и представлении.

Таким образом, данное исследование показало, что конгруэнтные аудиовизуальные стимулы значительно улучшают качество представления движений и увеличивают нейрофизиологическую активацию мозга по сравнению со стандартным подходом со статическими стимулами. Эти результаты имеют важное значение для реабилитационных протоколов, особенно при разработке систем интерфейсов мозг-компьютер и программ нейрореабилитации пациентов после инсульта и нейропатических болей. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы изучить долгосрочные эффекты мультимодальной стимуляции на тренировку представления движений и ее потенциальные возможности для улучшения функционального восстановления в клинических условиях.

*Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300070-1.*

1. Castro F., Bryjka P. A., Di Pino G., et al. // Brain and Cognition. 2021. V. 152. P. 105768.
2. Eaves D. L., Hodges N. J., Buckingham G., et al. // Psychol Res. 2024. V. 88, № 6. P. 1891-1907.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СВОЙСТВА МИЕЛИНА ПРИ ФУНКЦИОНИРОВАНИИ НЕРВНОГО ВОЛОКНА

Максимов Г.В.

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

Миелин - одна из главных структур нервной системы позвоночных, основная функция которой заключается в осуществлении процесса эффективной передачи возбуждения посредством сальтаторного проведения потенциалов действия (ПД). Исследование высокоупорядоченной и регулярной структуры миелина остается важной задачей современной нейробиологии. В докладе представлен обзор данных автора, полученных с помощью современных методов (пикосекундная флуоресценция, ЭПР, ЯМР, лазерная интерференционная микроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния (КР), свидетельствующих об особенностях морфологии и структуры миелина, а также ориентации и упорядоченности ряда молекул и жирных кислот фосфолипидов миелина при функционировании миелиновых нервных волокон [1]. Представленные результаты свидетельствуют о возможности использования поляризационной КР спектроскопии для контроля за различиями структуры миелина функционирующих нервных волокон. Применение анизотропии КР позволило реализовать двумерное КР картирование молекул в миелине нервных волокон. Обсуждаются различия в распределении и конформации молекул каротиноидов и фосфолипидов обусловленные морфологией и структурой миелина. В миелине молекулы каротиноидов расположены преимущественно перпендикулярно к поверхности липидного бислоя миелина, а фосфолипидов – под углом 45° [2]. Предполагается, что *микродоменная* организация интернодальной области миелина обусловлена наличием участков, обладающих более высокой степенью насыщенности и упорядоченности жирнокислотных «хвостов» фосфолипидов миелина. Представленный подход предлагается использовать при исследовании изменений морфологии и структуры миелина, а также молекулярного состава и конформации молекул миелина в нервных клетках как в норме, так и при патологиях, связанных с дисфункцией миелина в ЦНС и ПНС.

1. Kutuzov N.P., Brazhe A.R., Maksimov G.V., Lyaskovskiy V.L. // *Biophys. J.* 2014. Vol.107, №.4 P. 891–900. 2. Kutuzov N.P., Brazhe A.R., Lyaskovskiy V.L., Maksimov G.V. // *J. Biomed. Optics.* 2015. Vol.20. № .5 P. 050501.
2. Kutuzov N., Gulin A., Lyaskovskiy V., Natochenko N., Maksimov G. // *PLoS ONE.* 2015. Vol.10. №.11. P. e0142084.

## МИКРОЭЛЕКТРОДНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕТИНО-ТЕКТАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РЫБЫ

Максимова Е.М.

*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН,  
Москва*

Главным оптическим центром рыб является *tectum opticum* (ТО), куда проецируется 98% аксонов ганглиозных клеток (ГК) – выходных нейронов сетчатки. Аксональные окончания ГК разных типов располагаются послойно на разной глубине, образуя в каждом слое ретино-топическую проекцию. Реакции ГК регистрировали от их аксональных окончаний в ТО обездвиженной рыбы (*Carassius auratus*) экстраклеточным микроэлектродом (металлическим в стекле) с платиновой шляпкой 2-3μ (по Джестеленду) [3]. Стимуляция и регистрация реакций осуществлялась с помощью специально разработанной компьютеризованной установки [4]. Разнообразные зрительные стимулы (границы, полосы, пятнышки, подвижные и стабильные, черно-белые разного контраста и цветные, возбуждающие селективно разные

типы колбочек) предъявляли на экране монитора. Рыба смотрела на экран через прозрачную стенку аквариума одним глазом. Глаз находился под водой. При помощи отдельных программных инструментов измерялись контрастная чувствительность, дирекциональная избирательность, ориентационная избирательность, пространственное и временное разрешение, размеры и свойства рецептивных полей (РП) ГК и собственно нейронов ТО. Данные эксперимента заносились в базу данных, частичная обработка данных производилась в процессе опыта (on-line). Мы уверенно регистрируем реакции от аксональных терминалей тринадцати типов ГК на разных глубинах ретино-реципиентного слоя ТО: шесть типов дирекционально избирательных (ДИ), два типа ориентационно избирательных (ОИ) ГК, два типа детекторов малого пятна (чёрного и белого) и три типа цветокодирующих ГК, два из которых обладают фоновой активностью (темновой и световой) [1]. ДИ ГК рыбы выделяют три предпочтительных направления, каудо-ростральное, дорзо-вентральное и вентро-дорзальное; среди ГК, выделяющих каждое из этих направлений, равное количество ON- и OFF- элементов [4]. ОИ ГК рыбы являются ON-OFF элементами. Они реагируют на границы и полосы, подвижные и неподвижные, ориентированные одни – близко к вертикали, другие – близко к горизонтали. Длительный разряд импульсов на стимул предпочтительной ориентации мгновенно затормаживается введением в РП полосы ортогональной ориентации [1]. Размеры РП ретинальных элементов – одинаковы по размеру и составляют 3°- 5° [4]. В сетчатке мыши, в отличие от рыбы, ДИ ГК являются ON-OFF элементами и выделяют четыре предпочтительных направления, а ОИ ГК подразделяются на ON- и OFF- элементы.

Кроме реакций аксональных окончаний ГК в ТО мы регистрируем и реакции собственно нейронов ТО. Они отличаются от ретинальных элементов размерами рецептивных полей (порядка 60° и более), формой спайка и характером залпа. И ГК и нейроны ТО обладают высокой контрастной чувствительностью и разрешающей способностью. Нейроны ТО выделяют четыре предпочтительных направления и являются ON-OFF элементами. Нейроны, выделяющие те же направления, что и ретинальные элементы, вероятно, получают возбуждающие входы от соответствующих ГК. Нейроны, избирательные к росто-каудальному направлению, впервые возникают в ТО [2]. Данные наших электрофизиологических микроэлектродных исследований одиночной активности в ретинотектальной системе рыбы подтверждаются в работах на *Danio rerio* методом кальциевого имаджинга [5].

1. Aliper A., Zaichikova A., Damjanović I. et al. // Fish Physiology and Biochemistry 2019, V. 45. P. 773-792.
2. Damjanović I., Maximov P., Aliper A. et al. // Brain Research. 2019. V. 1708. P. 20-26.
3. Gesteland, R.C. et al. Proc. IRE. 1959. V.47. P. 1856–1862.
4. Maximov V., Maximova E., Maximov P. // Annals of the New York Academy of Sciences. 2005. V. 1048. P. 198-205.
5. Nikolaou, N., Lowe, A. S., Walker, A. S. et al. // Neuron. 2012. V. 76. P. 317–324.

# ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ЭНДОГЕННОЙ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТОНИЧЕСКОГО ВЫДЕЛЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ ДИАФРАГМЫ МЫШИ

Маломуж А.И.<sup>1,2</sup>, Федоров Н.С.<sup>1</sup>, Петров А.М.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

<sup>2</sup>Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева – КАИ, г. Казань

<sup>3</sup>Казанский Федеральный университет, Казань

<sup>4</sup>Казанский Государственный медицинский университет, Казань

Участие тонически выделяемого нейромедиатора в поддержании морфо-функциональных свойств иннервируемой клетки доказано достаточно давно и первые свидетельства реализации так называемого «нейротрофического контроля» были получены на препарате «двигательный нерв – скелетная мышца» [1], где нейромедиатором выступает ацетилхолин (АХ). В отсутствие импульсной активности подавляющее количество АХ выделяется невезикулярным, некантовым механизмом, который способен регулироваться различными нейротропными молекулами. Так, в частности, было показано, что аппликация АТФ (являющегося одним из основных ко-трансммиттеров АХ) ингибирует процесс некантовой секреции медиатора посредством активации пуриновых рецепторов [2,3]. Однако, доказательств функционирования такой эндогенной регуляции до сих пор получено не было, что и стало **целью** настоящего исследования.

Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате диафрагмы мышцы с использованием электрофизиологического метода анализа уровня тонического выделения АХ (по величине Н-эффекта) и с помощью биохимической оценки количества холина (который образуется из АХ и коррелирует с уровнем последнего в области синапса). Измерения проводили до и после стимуляции двигательного нерва (3 мин 20 Гц).

Установлено, что как величина Н-эффекта, так и уровень холина после эпизода стимуляции двигательного нерва снижались относительно уровня, зарегистрированного до периода раздражения (на 40% и 20%, соответственно). Блокатор пуриновых рецепторов сурамин (сам по себе) приводил к некоторому увеличению регистрируемых параметров и полностью устранял феномен снижения количества АХ после стимуляции. При этом отмечалась полная корреляция данных, полученных электрофизиологическим и биохимическим методами.

Таким образом, с помощью двух независимых методических подходов был доказан факт снижения уровня тонического невезикулярного выделения АХ после периода его интенсивного кантового выделения и это снижение отсутствовало при инактивации пуриновых рецепторов. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что в холинергическом синапсе функция АТФ, выделяющегося в качестве ко-трансммиттера АХ, может заключаться в обеспечении баланса между способами выделения нейромедиатора (угнетение процесса некантового выделения АХ при интенсивном везикулярном высвобождении и повышение/восстановление уровня тонического выделения в отсутствие нервной импульсации). Такая регуляция позволяет, с одной стороны, экономить внутриклеточный запас медиатора для обеспечения более длительной передачи возбуждения, а с другой, поддерживать в синаптической щели базальный уровень АХ не ниже определенной концентрации. Последнее может быть необходимо для осуществления «нейротрофической» роли тонически выделяемого медиатора [4].

*Поддержано грантом РНФ № 23-25-00330 (<https://rscf.ru/project/23-25-00330/>).*

1. Thesleff S. // Prog. Brain Res. 1990. V.84. P.93-99.
2. Galkin A.V., Giniatullin R.A., Mukhtarov M.R. et al. // Eur. J. Neurosci. 2001. V.13. P.2047-2053.
3. Malomouzh A.I., Nikolsky E.E., Vyskočil F. // Neurosci. Res. 2011. V.71. P.219-225.
4. Cisterna B.A., Vargaa A.A., Puebla C. et al., // Nat. Commun. 2020. V.11. P.1073.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ ПАЦИЕНТА С РЕСТРИКТИВНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ВСЛЕДСТВИЕ МУТАЦИИ ГЕНА FLNC В ВОЗРАСТЕ 24 НЕДЕЛЬ

Малородова Т.Н.<sup>2</sup>, Кархов А.М.,<sup>1</sup> Патраханов Е.А.<sup>2</sup>, Покровский М.В.<sup>2</sup>, Галкин И.И.<sup>3</sup>, Шубина М.Ю.<sup>3</sup>, Бардина М.В.<sup>3</sup>, Егорова Т.В.<sup>3</sup>, Сушкова Д.Н.<sup>2</sup>, Павленко Е.В.,<sup>2</sup> Бурцев А.Р.,<sup>2</sup> Дейкин А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, <sup>3</sup>ООО «МАРЛИН БИОТЕХ», Сочи

**Цель:** охарактеризовать животную модель пациента с рестриктивной кардиомиопатией по параметрам эхокардиографии, на изолированном сердце мыши, ретроградно перфузируемом (по Лангендорфу) у модельных мышей в возрасте 24 недели.

В ходе экспериментов были соблюдены все актуальные требования этических норм работы с лабораторными животными в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (№ 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.). Животных содержали в виварии в стандартных условиях при световом режиме 12:12 с доступом к воде и пище *ad libitum*.

Произведено эхокардиографическое исследование с помощью ультразвукового аппарата VINNO6, Китай под наркозом (севофлуран 2% ингаляционно). Исследована диастолическая функция сердца с оценкой соотношения между ранней (Е) и поздней (А) диастолической скоростью трансмитрального доплеровского потока (Е/А), время изоволюметрической релаксации (IVRT), время замедления волны Е митрального клапана (DT), среднего диаметра левого желудочка в диастолу и систолу, конечного систолического и диастолического объема, толщины задней стенки левого желудочка, межжелудочковой перегородки, размеров левого предсердия; фракции выброса, фракции укорочения в возрасте мышей 24 недель (1). Исследование проведено 45 диких и 30 трансгенных самцах.

Работа выполнена с использованием препаратов изолированного сердца мышей (самцы FLNC с.7416\_7418delGAA (n=9) и одноплетники WT (n=10), возрастом 24 недели, 33±5 г). В экспериментах использовали изолированное сердце мыши, ретроградно перфузируемое (по Лангендорфу) при постоянном перфузионном давлении (80 мм рт.ст.). После предварительной анестезии (3,5% изофлюрана в смеси с кислородом) и гепаринизации (1000 ед./кг, внутривенно) мышью декапитировали, вскрывали грудную клетку и извлекали сердце, которое помещали в ванночку с холодным перфузионным раствором (4°C) и отмывали от крови. Затем препарат сердца мыши через аорту фиксировали на канюле и осуществляли ретроградную перфузию при 37°C; для перфузии использовали раствор Кребса-Хензелята следующего состава (в мМ): NaCl – 118,5, KCl – 4,7, CaCl<sub>2</sub> – 2,5, NaHCO<sub>3</sub> – 25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2, MgSO<sub>4</sub> – 1,2, глюкоза – 11. Перфузионный раствор непрерывно насыщали карбогеном (90% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) для оксигенации и стабилизации pH (7,4). Во всех экспериментах в препаратах изолированного сердца коронарный проток составлял не менее 2 мл/мин. Регистрирующее устройство, соединенное с датчиком давления (Statham gauge Ohmeda, Bilthoven, The Netherlands), было введено в левый желудочек после пересечения митрального клапана. Сигнал регистрировался с помощью аналого-цифрового преобразователя (5 КГц, E-154, L-Card, Россия), подключенного к персональному компьютеру; для записи и обработки ЭГ использовали программное обеспечение PowerGraph 3.3 (Ди-софт, Россия). После 10 мин адаптации изолированного сердца определяли частоту сердечных сокращений, развиваемое давление левого желудочка (LVDP) и первые производные давления LV (LV +dP/dt<sub>max</sub> и LV -dP/dt<sub>max</sub>). Параметры оценивались как в контрольных условиях, так и в присутствии 100 нМ агониста β-адренорецепторов изопротеренола (изо). Статистический анализ проводился с применением программы GraphPad Prism 8 при помощи непарного двустороннего теста Стьюдента.

Результаты. При ультразвуковом исследовании статистически значимых различий в частоте сердечных сокращений, конечно-диастолического размера левого желудочка, конечно-систолического размера левого желудочка, конечного систолического размера левого желудочка и конечно-диастолический объем левого желудочка в зависимости от генотипа выявлено не было. Был достоверно уменьшен у мышей-мутантов при сохраненной фракции выброса и фракции укорочения. Изменения толщины межжелудочковой перегородки в диастолу или задней стенки левого желудочка не выявлено. При исследовании диастолической функции сердца установлено, что соотношение E/A составило  $1,82 \pm 0,16$ , в группе контроля и  $2,28 \pm 0,22$  ( $p < 0,05$ ) в группе трансгенов. По сравнению с группой контроля IVRT уменьшился с  $6,61 \pm 0,46$  мс до  $4,32 \pm 0,21$  мс ( $p < 0,05$ ) в группе трансгенов. Выявлено достоверное уменьшение DT: у диких мышей  $14,91 \pm 0,26$  мс и  $12,42 \pm 0,313$  мс у трансгенов.

В проведенных экспериментах по регистрации давления в изолированных сердцах частота сердечных сокращений (ЧСС) у мышей дикого типа (wt, N=10) в контрольных условиях составляла  $328 \pm 157$  уд/мин, скорость систолического нарастания давления, нормированная на величину амплитуды изменения давления ( $dP/dt_{\text{норм}}$ )  $22,8 \pm 9,3$  с<sup>-1</sup>, а скорость диастолического уменьшения давления ( $-dP/dt_{\text{норм}}$ )  $14,9 \pm 7,4$  с<sup>-1</sup>. Длительность фазы желудочковой систолы (t<sub>сист</sub>) принимала значение  $0,083 \pm 0,031$  с, а длительность фазы желудочковой диастолы (t<sub>диаст</sub>) –  $0,134 \pm 0,065$  с. В свою очередь, у гетерозиготных мышей (het, N=9) измеряемые показатели в контрольных условиях принимали следующие значения: ЧСС:  $316 \pm 99$  уд/мин,  $dP/dt_{\text{норм}}$ :  $23,3 \pm 3,5$  с<sup>-1</sup>,  $-dP/dt_{\text{норм}}$ :  $13,0 \pm 4,4$  с<sup>-1</sup>, t<sub>сист</sub>:  $0,075 \pm 0,031$  с, t<sub>диаст</sub>:  $0,136 \pm 0,062$  с. Непарный тест Стьюдента не подтвердил значимых различий в выборках wt и het ( $p > 0,05$ ).

При перфузии препаратов изолированного сердца раствором агониста бета-адренорецепторов изопротеренола (100 нМ) у мышей дикого типа (N=7) исследуемые параметры принимали следующие значения: ЧСС:  $504 \pm 158$  уд/мин,  $dP/dt_{\text{норм}}$ :  $33,9 \pm 5,7$  с<sup>-1</sup>,  $-dP/dt_{\text{норм}}$ :  $22,0 \pm 8,7$  с<sup>-1</sup>, t<sub>сист</sub>:  $0,049 \pm 0,009$  с, t<sub>диаст</sub>:  $0,079 \pm 0,030$  с. В свою очередь у группы het (N=8): ЧСС:  $452 \pm 119$  уд/мин,  $dP/dt_{\text{норм}}$ :  $31,4 \pm 7,9$  с<sup>-1</sup>,  $-dP/dt_{\text{норм}}$ :  $18,4 \pm 5,8$  с<sup>-1</sup>, t<sub>сист</sub>:  $0,053 \pm 0,016$  с, t<sub>диаст</sub>:  $0,095 \pm 0,048$  с. Тест Стьюдента также не выявил значимых различий ( $p > 0,05$ ), однако наблюдается тенденция к увеличению времени диастолы у трансгенных мышей при активации бета-адренорецепторов, что может свидетельствовать о нарушении расслабления сердечной мышцы в результате развития рестриктивной кардиомиопатии.

При изучении зависимости длительности диастолы у групп животных в контрольных условиях и при воздействии изопротеренола, 100 нМ. В результате активации бета-адренорецепторов угол наклона регрессионной кривой у животных дикого типа не изменяется ( $\text{tg}\alpha = -0,0014$ ), а у гетерозигот изменяется в сторону увеличения, что может отражать предполагаемое развитие рестрикционной кардиомиопатии у гетерозиготных животных, патологически проявляющееся при активации симпатической вегетативной нервной системы.

Таким образом, охарактеризована новая гуманизированная мышьяная модель с мутацией в рамке считывания в гене FLNC, у которой выявлено достоверное увеличение соотношения между ранней (E) и поздней (A) диастолической скоростью трансмитрального доплеровского потока (E/A), уменьшение времени изоволюметрической релаксации (IVRT), времени замедления волны E митрального клапана (DT).

1. Zacchigna S, Paldino A, Falcão-Pires I, et al. // Cardiovasc Res. 2021 Jan 1;117(1):43-59.

## **СУБДУРАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСА 2ГО СЕРОТИПА ПРИВОДИТ К ОБШИРНОМУ ЗАРАЖЕНИЮ НЕЙРОНОВ НЕОКОРТЕКСА МЫШИ**

Смирнова М.П., Осипова А.А., Багриновцева Т.М., Бородинова А.А., Добрякова Ю.В., Смирнов И.В., Мальцев А.Ю.

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

Аденоассоциированные вирусы являются гибким и мощным инструментом доставки и экспрессии различных генов интереса во многих областях экспериментальной биологии, в частности, в нейробиологии. Одной из насущных проблем при использовании метода вирусной трансдукции является обеспечения достаточного объема заражения нервной ткани. Мы разработали новый метод трансдукции нейронов неокортекса мышей путем инъекции суспензии вирусных частиц AAV2 в субдуральное пространство головного мозга. При этом обеспечивается значительная площадь заражения, более, чем на порядок превосходящая объем ткани, заражающийся при введении того же количества вируса непосредственно в паренхиму мозга. С данным методом введения были опробованы несколько вирусных конструкций, несущих разные целевые гены (GFP, oChief-Venus и GCamp6f) под разными промоторами (CAG и CaMKII), и все они дали схожие результаты. Было обнаружено, что при таком способе инъекции вируса заражались нейроны 2/3 и 5 слоев, при этом практически полностью отсутствовало заражение клеток 4го и 6го слоев. Мы выдвинули предположение, что при таком способе инъекции вируса заражаются только те клетки, которые имеют дендриты, доходящие до 1го слоя коры, куда вирус может диффундировать из субдурального пространства. Согласно этому предположению, вирус захватывается дистальными дендритами нейронов и затем ретроградно транспортируется к телу клетки. Для доказательства данной гипотезы мы провели окрашивание срезов мозга мышей после субдуральной инъекции вируса антителами на парвальбумин. Известно, что парвальбумин-положительные интернейроны субгранулярных слоев как правило не имеют дендритов в верхних слоях коры. Оказалось, что если в супрагранулярных слоях присутствовали парвальбумин-положительные клетки, трансдуцированные вирусом, то в 5м слое трансдуцированных интернейронов не наблюдалось и все зараженные вирусом клетки были представлены исключительно пирамидными нейронами. Таким образом, разработанный нами метод вирусной трансдукции, помимо обеспечения широкой области заражения, позволяет осуществить селективную трансдукцию глутаматергических пирамидных нейронов 5го слоя, даже при использовании сильного неселективного промотора, такого как CAG. Кроме того, поскольку заражение клеток происходит достаточно далеко от места инъекции, использование данного метода обеспечивает сохранность тканей мозга для последующей оптической или электрофизиологической регистрации активности нейронов.

В пилотных экспериментах мы обнаружили, что использование вирусов других серотипов (в частности, 9) при субдуральном введении не обеспечивает сопоставимых объемов заражения нервной ткани, что может быть связано с повышенной абсорбцией вирусных частиц этого серотипа клетками оболочек мозга.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант 20-15-00398П.*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ-ПЕРВОКУРСНИКОВ СЕВЕРНОГО ВУЗА В ДИНАМИКЕ УЧЕБНОГО ГОДА**

Мальцев В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Сургутский государственный университет, Сургут*

Как известно [1], краткосрочная запись ВРС (5 мин.) является стандартизированной методологией физиологического обоснования индивидуального донологического контроля

состояния здоровья человека и выступает объективным критерием оценки функционального состояния организма при скрининговых исследованиях.

Актуальность исследования особенностей адаптации организма студентов первокурсников к условиям вузовского обучения обусловлена завершающим этапом морфофункционального созревания организма, изменением социального статуса, глубокими процессами трансформации динамического стереотипа к учебно-профессиональной деятельности и выступает самостоятельным вектором научного исследования,

Проживание в гипокомфортных природно-климатических и экологических условиях Северных территорий накладывает отпечаток на функционирование интегральных систем жизнеобеспечения (сердечно-сосудистой и дыхательной) и зачастую приводит к напряжению регуляторных механизмов у жителей региона [2, 3], что определяет значимость и актуальность исследования

**Цель работы:** оценить изменения функционального состояния организма студентов вуза Северного региона в динамике первого года обучения.

Организация и методы. Обследовано 96 студентов-первокурсников (64 девушки и 32 юноши) г. Сургута, среднего возраста  $17,8 \pm 0,6$  лет. Обследование проведено в межсессионный период, после периода срочной адаптации в октябре и апреле 2023 г., на добровольной основе с письменного согласия обследованных. Оценивали отдельные показатели ВРС, диагностируемые при помощи комплекса «ВНС-микро» («Нейрософт») в положении лежа (5 мин.): RRNN (мс) – средняя длительность квадроциклов, SDNN (мс) – стандартное отклонение RR-интервалов, TP ( $мс^2 \cdot 1000$  – общая спектральная мощность, SI (у.е.) - стресс-индекс. Анализ достоверности сдвига показателей проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых переменных в программе Statistica 7.0.. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

Результаты. Анализ динамики средних показателей (Me (Q1-Q3)) обследованных студентов характеризует в целом оптимальное нейровегетативное обеспечение регуляции сердечной деятельности. При этом средние показатели девушек отражают напряжение регуляторных механизмов в динамике учебного года.

Средние показатели вариабельности девушек снизились: RRNN на 7% с 824,5 (754,5-907,5) до 765,5 (728,0-852,5) при  $p=0,007$ ; TP на 17% с 2,9 (1,6-6,6) до 2,4 (1,4-4,6) при  $p=0,06$ ; SDNN на 13% с 57,5 (42,0-84,0) до 50,0 (38,0-72,0)  $p=0,09$ ; напряжение механизма регуляции обусловлено также увеличением стресс-индекса SI на 21,6% с 74,1 (37,7-124,7) до 90,5 (41,6-153,1) при  $p=0,18$ , отражающем переход на более высокий надсегментарный и менее экономичный контур регуляции.

У юношей средние показатели в динамике года RRNN практически не изменились с 901,5 (763,0-972,5) до 898,0 (800,5-1048,5) при  $p=0,18$ ; при этом возросли показатели TP на 37% с 3,7 (2,1-5,8) до 5,1 (3,2-7,1) при  $p=0,038$ ; SDNN на 14,3% с 63,0 (45,5-77,0) до 72,0 (58,0-88,5)  $p=0,07$ ; а стресс-индекс SI уменьшился на 6,1% с 49,3 (30,9-101,1) до 46,2 (21,7-81,0) при  $p=0,05$ .

Изменения показателей вариабельности ритма сердца первокурсников в динамике учебного года в вузе свидетельствуют о межполовых различиях в нейровегетативном обеспечении сердечной деятельности. Диагностированные показатели характеризуют снижение функционального состояния девушек, в следствие напряжения регуляторных механизмов, в то время как у юношей сохраняется оптимальное функциональное состояние, в следствие увеличения автономности регуляции вариативности кардиоритма.

Проводимые исследования позволяют объективно оценить особенности модификации нейровегетативной регуляции кардиоритма и функционального состояния организма на разных этапах учебной деятельности с учетом индивидуальных и региональных особенностей адаптации.

1. Shaffer F., Ginsberg J.P. // Front. Public Health. 2017. V. 5. P. 258. doi: 10.3389/fpubh.2017.00258

2. Нифонтова О.Л., Литовченко О.Г., Багнетова Е.А., Конькова К.С. // Экология человека. 2017. № 2. С. 17-21.х
3. Погоньшева И.А., Шаламова Е.Ю., Погоньшев Д.А., Бочкарев М.В., Рагозин О.Н. Артериальная гипертензия. 2022; 28(4): 444-454.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ МЕЖКЛЕТОЧНОГО ТРАНСПОРТА: ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ**

Марков А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

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

Основной вклад в разделение внешней среды от внутренней среды организма выполняет эпителий. Эпителиальный барьер создаётся эпителиоцитами с присущим им набором транспортных белков, а также межклеточными структурами – плотными контактами, которые обеспечивают барьер между внешней и внутренней средой организма в пространстве между клетками. Основным достижением последних лет в изучении молекулярных механизмов межклеточного транспорта является определение роли белков плотных контактов в этом процессе. В создании молекулярного ансамбля плотных контактов участвуют белки семейства клаудина, которых у животных насчитывается 27 участников, а также белки семейства MARVEL, к которым относится окклюдин и трицеллюлин. Установлено, что эти белки выполняют следующие функции: 1) ограничивают латеральную диффузию белков в плазматической мембране, формируя функциональную полярность эпителиоцитов; 2) обеспечивают селективность межклеточного транспорта для ионов, органических соединений и воды, повышая эффективность физиологических процессов; 3) участвуют в поддержании целостности эпителиального слоя, образуя вместе с апикальными актомиозиновым кольцом пространственную структуру, которая объединяет эпителиоциты; 4) вместе с адаптерными белками регулируют функции клеток, образуя сигнальную платформу; 5) акцептируют сигналы внешней среды, являясь местом связывания бактериальных токсинов, вирусов и различных соединений [1]. Молекулярная мозаика белков в тканях специфична, они образуют кластеры взаимодействующих белков, появление в которых нового члена семейства вызывает изменение свойств других белков и всего кластера [2].

Несмотря на очевидные успехи в этой области, существуют методологические и методические проблемы, которые сдерживают изучение и понимание роли отдельных белков или их ансамблей в осуществлении этих функций. Методологическая проблема связана с тем, что до сих пор не дан ответ на вопрос о том, являются ли изменения в плотных контактах триггерным механизмом для запуска клеточных процессов или они должны рассматриваться как результат активации в клетке других сигнальных путей? Методические проблемы включают в себя отсутствие стандартного протокола и одинаковых методических подходов при проведении экспериментов, которые не дают возможность сопоставить результаты различных исследований. К экспериментальным условиям, необходимым для дальнейшего продвижения в понимании барьерных свойств тканей, можно отнести следующие положения: 1) исследовать весь спектр белков плотных контактов, установленных для этой популяции клеток или ткани, так как наличие некоторых из них, даже без изменения их уровня в плотных контактах, вносит существенные коррективы в функции кластера белков этих межклеточных структур; 2) учитывать разницу в функциях молекулярных детерминант плотных контактов в опытах на клеточных линиях и тех же белков в клеточной популяции на тканевом уровне; 3) интегрировать данные о разнонаправленном изменении различных по своему вкладу в барьерные свойства эпителия белков плотных контактов; 4) установить причину несовпадения между функциональными характеристиками тканевого барьера и изменениями в уровне белков плотных контактов, которые по присущим им свойствам должны обеспечивать этот процесс, что выражается, например, в снижении барьерных свойств эпителия и

одновременным увеличением белков плотных контактов, повышающих непроницаемость эпителия.

Перспективы изучения молекулярных основ межклеточного транспорта и включения этих данных в развитие представлений о дисфункции органов заключаются в следующем: 1) изучение молекулярной структуры белков методом компьютерного моделирования и выяснение возможных механизмов их взаимодействия; 2) разработка представлений о формировании вместе с другими сигнальными платформами клетки многокомпонентных регуляторных комплексов; 3) выяснение роли отдельных клаудинов и их ансамблей при развитии адаптаций тканей и органов к различного рода воздействиям, в частности, к радиации; 4) выявление изменения уровня или мозаики белков плотных контактов, которые могут быть индикаторами развития злокачественных процессов. Изучение молекулярных основ межклеточного транспорта позволит понять роль молекулярных механизмов в повышении эффективности функций, а также в развитии патологии органов.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 23-25-00556.*

1. Markov A.G., Aschenbach J.R., Amasheh S. // IUBMB Life. 2017. V. 69. P.290-296.
2. Markov A.G., Aschenbach J.R., Amasheh S. // IUBMB Life. 2015. V. 67. P.29-35

## **УЧАСТИЕ ГИПОТАЛАМУСА В РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ**

Маслюков П.М.

*Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль*

Процесс старения в гипоталамусе сопровождается изменениями внутриклеточных путей,  $Ca^{2+}$  сигналинга и возбудимости нейронов головного мозга [1]. Изменения концентрации гормонов в крови, например, гормона роста, IGF1 и половых стероидов, приводят к нарушению внутриклеточных путей, включая PI3K/AKT/mTOR [2], что, в свою очередь, может влиять на синаптическую передачу через изменения в транспортировке рецепторов, их вставке в мембрану, кинетике открытия/доступности каналов и рециркуляции белка.

В целом, старение мозга характеризуется снижением синаптической передачи глутамата. Однако в ядрах гипоталамуса при старении имеет место гипер- и гиповозбудимость. С возрастом наблюдается увеличение глутаматергической возбуждающей передачи в супрахиазмальном (СХЯ) и паравентрикулярном ядрах и уменьшение в преоптической области. Напротив, ГАМКергическая тормозная передача повышается в нейронах преоптической области и снижается в супрахиазмальном ядре при старении. В туберальной области, включая аркуатное, дорсомедиальное и вентромедиальное ядра, у старых грызунов активируется одновременно глутаматергическая и ГАМКергическая передача. Возможно, повышение возбудимости глутаматергических возбуждающих волокон в нейронах СХЯ может служить компенсаторным процессом за счет уменьшения их количества с возрастом.

Преимущественно для нейронов гипоталамуса при старении характерно снижение частоты их возбуждения за счет изменения возбудимости мембран и баланса возбуждения/торможения в их входных волокнах. Центральные циркадные часы, которые синхронизируют время в нашем организме, расположены в СХЯ. С возрастом происходит значительное снижение амплитуды электрического ритма СХЯ, что позволяет предположить ослабление выходного синхронизирующего сигнала. Таким образом, другие области и органы мозга не только демонстрируют связанные со старением недостатки в своих собственных локальных часах, но также получают более слабый системный сигнал синхронизации.

Взаимодействия глии и нейронов играют важную роль в мозге и подвергаются ремоделированию, сопровождающемуся прогрессирующей потерей функций с возрастом. Измененная структурная пластичность нейроглии в пределах срединного возвышения

участвует в механизмах, лежащих в основе снижения высвобождения нейрогормонов, включая гонадолиберин, во время старения.

Молекулярные воспалительные изменения в стареющем гипоталамусе часто являются результатом гипоталамической умеренной активации NF-κB сигналинга. Нейровоспалительные реактивные астроциты повышают экспрессию воспалительных цитокинов, снижают экспрессию факторов роста и снижают свою способность поглощать ГАМК, высвобождаемую в синапсах нейронов, что приводит к повышению уровня ГАМК во внеклеточном пространстве и смещению баланса возбуждения/торможения.

Тем не менее, механизмы старения гипоталамуса все еще неясны, несмотря на недавние улучшения в нашем понимании гипоталамических сетей. Применение последних достижений нейрофизиологии, нейрофармакологии, молекулярной биологии и генетики поможет прояснить этот вопрос.

1. Masliukov P.M., Nozdrachev, A.D. // J. Evol. Biochem. Phys. 2021. V. 57. P. 473–491.
2. Masliukov P.M. // Curr. Issues Mol. Biol. 2023. V. 45. P. 8289-8308.
3. Masliukov P.M. Vitam. Horm. 2024. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2024.07.003>.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ НАРУШЕНИЯ МОТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ВЕРХНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ, С ПОМОЩЬЮ fNIRS**

Медведева А.С.<sup>1</sup>, Сыров Н.В.<sup>1</sup>, Алиева Я.А.<sup>2</sup>, Яковлев Л.В.<sup>1</sup>, Петрова Д.А.<sup>1</sup>,  
Лебедев М.А.<sup>3</sup>, Иванова Г.Е.<sup>2</sup>, Каплан А.Я.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> *Центр нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана  
Сколковского института науки и технологий, Москва*

<sup>2</sup> *Федеральный центр исследований мозга и нейротехнологий ФМБА, Москва*

<sup>3</sup> *Механико-математический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва*

<sup>4</sup> *Лаборатория нейрофизиологии и нейрокомпьютерных интерфейсов  
биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва*

Одним из наиболее распространенных последствий инсульта, значительно усложняющих жизнь пациентов, является нарушение двигательных функций конечностей. Это связано с изменениями кровоснабжения через среднюю мозговую артерию, что приводит к дисфункции фронтальных и теменных кортикальных областей. Спектроскопия ближнего инфракрасного диапазона (functional near-infrared spectroscopy, fNIRS) позволяет отслеживать изменения церебральной гемодинамики, вызванные активностью корковых регионов, а также наблюдать патофизиологические изменения, возникающие после инсульта. Благодаря своей простоте метод fNIRS может быть использован для рутинной оценки динамики восстановления пациентов в процессе реабилитации. Результаты такой оценки могут служить основой для анализа эффективности реабилитационных мероприятий [1, 2]. Кроме того, на основе данных fNIRS могут быть разработаны системы нейробиоуправления и интерфейсы "мозг-компьютер" для реабилитации [3, 4]

Настоящее исследование было направлено на оценку пространственно-временных характеристик изменений кортикальной гемодинамики у пациентов, перенесших инсульт, во время движений здоровой и пораженной конечностями.

В эксперименте приняли участие 15 пациентов с гемиплегией, возникшей в результате кортикального инсульта. Участникам было предложено выполнить задачу по разгибанию пальцев кисти как здоровой, так и пораженной конечности в ответ на зрительный стимул. В случаях, когда выполнение движения пораженной рукой было невозможно, участников просили представить это движение. На протяжении всего исследования регистрировались сигналы fNIRS и электромиографическая активность обеих конечностей. Результаты

позволили выявить закономерности изменений гемодинамических ответов у пациентов после инсульта, проявляющиеся в компенсаторной гиперактивации как в пораженном, так и в интактном полушарии при выполнении движений паретичной конечностью. Эти данные уточняют информацию о вкладе непораженного полушария в функциональное восстановление паретичной конечности.

1. Huo, C., Xu, G., Li, W., et al. // *Medicine in Novel Technology and Devices* (Vol. 11).
2. Lin, P. Y., Chen, J. J. J., & Lin, S. I. // *Human Brain Mapping*, 2013, 34(10).
3. Matarasso, A. K., Rieke, J. D., White, K., et al. // *PLoS One*, 2021, 16(5), e0250431.
4. Naseer, N., & Hong, K. S. // *Frontiers in human neuroscience*, 2015, 9, 3.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ВОДОРОД УМЕНЬШАЕТ РЕАКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА АОРТЫ К АЛЬФА-1 АГОНИСТУ И СИМПАТИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТ БАРОРЕФЛЕКСА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА КРЫСАХ**

Медведева Н.А.<sup>1</sup>, Артемьева М.М.<sup>1</sup>, Куропаткина Т.А.<sup>2</sup>, Козаева Л.П.<sup>1</sup>, Медведев О.С.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>*Российский университет дружбы народов, Москва*

Молекулярный водород (H<sub>2</sub>) – природный антиоксидант, может избирательно восстанавливать гидроксильные радикалы (OH) и пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>), которые являются очень сильными окислителями и активность которых приводит к необратимым изменениям тканей и гибели клеток. Важно, что молекулярный водород не восстанавливает такие сигнальные молекулы в тканях как H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и NO (1). Обладая такими свойствами, молекулярный водород может уменьшать оксидативный стресс, не влияя на сигнальные молекулы, участвующие в физиологических процессах. В ходе многочисленных исследований было обнаружено, что H<sub>2</sub> способен ингибировать синтез провоспалительных и воспалительных цитокинов, изменяя внутриклеточные пути реализации их сигналов (2). В работах, проведенных на крысах, показали, что добавление молекулярного водорода к атмосферному воздуху, которым дышат животные, уменьшает ишемическое/реперфузионное повреждение миокарда за счет снижения оксидативного стресса и NLRP3-опосредованного пироптоза (3). Ранее мы показали, что добавление молекулярного водорода (H<sub>2</sub>) к атмосферному воздуху вызывает уменьшение среднего и систолического артериального давления (АД) у крыс с монокроталиновой формой легочной гипертензии (МКТ-H<sub>2</sub>), что сопровождается снижением воспаления и фиброза в легочной ткани (4). Гипотензивный эффект, опосредованный уменьшением величины систолической составляющей АД был также описан в исследованиях на пожилых пациентах с диагнозом гипертензия (5). Было высказано предположение, что наблюдаемое уменьшение АД опосредовано уменьшением активности симпатической системы. В связи с этим **целью** настоящей работы явилось изучение влияния молекулярного водорода на барорефлекторную регуляцию АД у крыс с монокроталиновой формой легочной гипертензии в экспериментах *in vivo* и влияния H<sub>2</sub> на реактивность изолированной аорты крысы с МКТ легочной гипертензией на агонист альфа-1 адренорецепторов в экспериментах *in vitro*.

Опыты проводили на самцах линии Wistar с МКТ легочной гипертензией, которую вызывали однократным подкожным введением монокроталина в дозе 60 мг/кг. Животных помещали в пластиковые камеры, которые аэрировались атмосферным воздухом со скоростью 4 л/мин с контролем содержания O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub>. Участвовали четыре группы животных: группе МКТ-H<sub>2</sub> и Контроль-H<sub>2</sub> два раза в сутки по 2 часа добавляли 4% H<sub>2</sub> к атмосферному воздуху. Группы МКТ-Воздух и Контроль-Воздух дышали только атмосферным воздухом. Длительность эксперимента составляла 21 день. На 20 день у бодрствующих животных

измеряли АД, ЧСС и тестировали барорефлекторную реакцию на фенилэфрин (ФЭ) и нитропруссид (НП). В экспериментах *in vitro* изучали влияние добавления 4% молекулярного водорода к перфузионной жидкости на реактивность изолированных препаратов аорты МКТ и Контрольных крыс на агонист альфа-1 адренорецепторов ФЭ и вазодилататоры НП и АЦХ. Данные экспериментов оформлены и представлены в виде  $\text{среднее} \pm \text{стандартное отклонение}$  ( $M \pm SD$ ). Статистический анализ данных проводили в программах Statistica 12.0 (Statistica Inc., США) и GraphPad Prism 8.0.

Было показано, что при изучении влияния молекулярного водорода на барорефлекторную реакцию на НП в дозе 4,5 мг/кг у бодрствующих крыс, в группе МКТ-Воздух увеличение ЧСС составляло  $73,1 \pm 16,7$  уд/мин, а у группы МКТ-Н<sub>2</sub> -  $48,1 \pm 10,2$  уд/мин ( $p < 0,01$ ). В группах Контроль-Н<sub>2</sub> и Контроль -Воздух наблюдалась тенденция к уменьшению ЧСС в группе Контроль- Н<sub>2</sub>, но различия были недостоверны. В реакции ЧСС на введение ФЭ различий между всеми экспериментальными группами не было выявлено. В опытах на изолированном препарате аорты МКТ крыс было показано, что добавлению 4% водорода в перфузионную среду вызывает уменьшение максимального ответа на ФЭ на 30% по сравнению с МКТ группой без водорода ( $p < 0,01$ ), а  $ED_{50}$  уменьшалось на 7% ( $p < 0,05$ ).

Представленные результаты свидетельствуют о влиянии молекулярного водорода как на центральное, так и периферическое звено реализации симпатического воздействия на сердечно-сосудистую систему

1. Ohta S. // Current Pharmaceutical Design. 2011. V. 17(22). P2241-52.
2. Xiao K, Liu J, Sun Y, et al. // Front. Immunol. 2024. V. 15. P.1444958
3. Nie C, Ding X, Zheng M et al. // Life Sci 2021. V. 1(272). P.119248.
4. Kuropatkina T, Atiakshin D, Sychev F et al. // Biomedicines. 2023. V. 11(12) P.3141.
5. Liu B, Jiang X, Xie Y, et al. // Front Pharmacol. 2022. V. 7(13). P.1025487.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ВОДОРОД КАК ФАКТОР ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ ПОВРЕЖДЕНИЮ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ГЛИКОКАЛИКСА**

Мелькумянц А.М.<sup>1,2</sup>, Хейло Т.С.<sup>3</sup>, Бурячковская Л.И.<sup>1</sup>, Антонова О.А.<sup>1</sup>,  
Джаватханова М.Р.<sup>3</sup>, Ермишкин В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова Минздрава России, Москва*

<sup>2</sup> *Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Моск. обл.*

<sup>3</sup> *Центр терапевтической офтальмологии, Москва*

В основе патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы лежит оксидативный стресс, то есть неспособность антиоксидантной системы эффективно противостоять свободными радикалам, образующимся в избытке в ходе перекисного окисления липидов. Ранее в опытах на анестезированных крысах мы показали, что образующийся в процессе оксидативного стресса малоновый диальдегид приводит к дисфункции эндотелия и, в частности, к подавлению способности эндотелиоцитов регулировать сопротивление артерий при изменениях скорости кровотока [2]. Поскольку механорецептором, воспринимающим действующее со стороны текущей крови напряжение сдвига и обеспечивающим регуляцию просвета артерий при изменениях скорости кровотока, являются волокна эндотелиального гликокаликса [1], мы предположили, что именно гликокаликс прежде всех компонентов сосудистой стенки повреждается продуктами оксидативного стресса.

В настоящее время наиболее перспективным антиоксидантом считают молекулярный водород, который, в силу своих малых размеров, способен проникать в митохондрии и оказывать антиоксидантное действие непосредственно в месте производства свободных радикалов [3].

В пилотном исследовании на людях мы попробовали оценить способность молекулярного водорода восстанавливать поврежденный гликокаликс, улучшая, таким образом, органный кровоток. Для этого с помощью аппаратно-программного комплекса ОКО была изучена микроциркуляция бульбарной конъюнктивы 20 больных с возрастной макулодистрофией и атрофией зрительного нерва и 5 больных с синдромом сухого глаза. У 20 больных в качестве сопутствующей патологии наблюдалась артериальная гипертензия и метаболический синдром. У всех больных имелась дислипидемия разной степени выраженности. Всем участникам исследования проводили капилляроскопию при видеосъемке с частотой 100 кадров в секунду и увеличении x200 при первичном визите и спустя 10 дней, в течение которых больные ежедневно получали ингаляцию 4% водородом длительностью 30 минут. Также при первичном визите и по окончании десятидневного цикла ингаляции водородом у больных брали кровь для определения в ней с помощью иммуноферментного анализа содержания продукта дегградации гликокаликса синдекана-1.

Мы выяснили, что ингаляции молекулярным водородом привели у всех больных к выраженному повышению плотности видимой (функционирующей) капиллярной сети в системе микроциркуляции бульбарной конъюнктивы, увеличению скорости кровотока в микрососудах и к значительному уменьшению количества эритроцитарных агрегатов в наблюдаемых сосудах (или даже к полному их исчезновению). Эти позитивные изменения сопровождались значительным и достоверным уменьшением содержания синдекана-1 в периферической крови – от  $1,45 \pm 0,10$  нг/мл при первичном визите до  $0,94 \pm 0,12$  нг/мл спустя 10 дней; ( $p < 0,05$ ,  $n = 25$ ), что свидетельствовало о выраженном снижении разрушения эндотелиального гликокаликса.

Эти данные позволяют полагать, что молекулярный водород обеспечивает защиту эндотелиального гликокаликса от повреждающих воздействий. Наиболее вероятно, что такое протективное действие водорода обусловлено его способностью инактивировать активные формы кислорода, хотя для подтверждения этого вывода необходимо провести не наблюдательное, а рандомизированное клиническое исследование на большом числе испытуемых с различной сосудистой патологией.

1. А.М.Мелькумянц, С.А.Балашов, И.В.Гончар // Росс.физиол. ж. им. И.М.Сеченова, т.103, №12, с.1370-1376, 2017.
2. Ермишкин В.В., Лукошкова Е.В., Мелькумянц А.М. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2021, том 57, N4, с.320–330.
3. Рахманин Ю.А., Егорова Н.А., Михайлова Р.И. и др. // Гигиена и санитария. 2019; 98 (4): 359-365.

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ ТАКТИЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПОДОШВЫ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ПОЗЫ У СПОРТСМЕНОВ**

Мельников А.А., Ли В.

*Российский университет спорта «ГЦОЛИФК», Москва*

Способность сохранять вертикальную позу имеет значение, как для проведения эффективных бытовых, так и, особенно, спортивных действий. Показано, что повышение эффективности постуральной регуляции влияет на риски спортивных и бытовых падение и травм, выполнение произвольных движений и достижение результатов в отдельных видах спорта, например, в гимнастике, стрельбе, акробатике. Постуральная регуляция зависит от интеграции зрительной, вестибулярной и проприоцептивной сенсорной информации в центральной нервной системе [4]. Однако существенную роль в поддержании равновесия позы играет тактильной чувствительности подошвы стопы. Так, у лиц с избыточной массой тела сниженная устойчивость позы в стойке на податливом коврике коррелировала с пониженной тактильной чувствительностью подошвы [2], а экспериментальные изменения активности

кожных афферентов влияет на поструральные движения человека [5]. Тактильные сигналы дополняют проприоцепцию о положении и движении суставов, а также модулируют сокращение поструральных мышц голени [3], что оказывает влияние на поструральные команды мышцам. У спортсменов многих видов, как правило, устойчивость позы повышена [1], однако роль тактильной сенсорной системы в этих адаптациях мало исследована. Поэтому **целью** работы было оценить порог тактильной чувствительности подошвы стопы и устойчивость вертикальной позы на твердой опоре и подвижной пресс-папье у спортсменов пловцов и игровиков, а также неспортсменов. Методы исследования. В эксперименте с информированным добровольным согласием приняли участие молодые здоровые испытуемые (18-26 лет, n = 61): пловцы (n=9), спортсмены игровых видов (n=29) и бывшие, но не тренирующиеся > 2 лет на момент обследования спортсмены-студенты (Контроль, n=23). Устойчивость вертикальной позы определяли в стойке на стабиллоплатформе с открытыми (ОГ) и закрытыми (ЗГ) глазами, а также в стойке на подвижной в сагиттальной плоскости пресс-папье (r=87, высота 17 см) с помощью стабилметра («Стабилан 01-2». Таганрог). Пороги тактильной чувствительности определяли в 7 точках подошвы обеих стоп с помощью набора прецизионных нейлоновых монофиламентов Semmes-Weinstein (San Jose, USA) в расслабленном положении лежа. Результаты. Скорость и площадь колебаний центра давления (ЦД) не различалась между группами во всех тестах: в стойке на устойчивой опоре и на качающейся пресс-папье с ОГ и ЗГ (однофакторный анализ ANOVA: все p>0,1). Однако средний за семь точек порог тактильной чувствительности подошвы существенно различался между группами для правой (ANOVA p = 0,004) и левой стоп (ANOVA p = 0,04). Средний порог чувствительности подошвы правой стопы была ниже у игровиков и пловцов, чем у неспортсменов, без различий между группами спортсменов. Средний порог чувствительности подошвы левой стопы была наименьший у пловцов, существенно (p<0,05) выше у спортсменов игровых видов (p<0,05) и наибольший у контрольных лиц. Между порогами чувствительности и скоростью/площадью колебаний ЦД в стойке с ОГ и ЗГ на стабиллоплатформе корреляций в общей группе испытуемых не обнаружено, однако площадь и скорость колебаний ЦД в стойке на пресс-папье с ЗГ коррелировали (r = 0.40-0.34) со средним порогом тактильной чувствительности правой стопы. Корреляции с показателями чувствительности левой стопы были мене значимые. Вывод. Тактильная чувствительность подошвы стоп существенно выше у спортсменов, однако это не обеспечивает им повышенную устойчивость тела в обычной или в более сложных стойках. Вместе с тем, корреляция повышенной тактильной чувствительности подошвы с пониженными колебаниями тела в стойке на пресс-папье указывает на положительное влияние высокой тактильной чувствительности на регуляцию позы в более сложных условиях стояния, когда сигналы из других сенсорных систем значительно искажены, либо, когда колебаний тела существенно увеличены, как на качающейся опоре.

1. Andreeva A, Melnikov A., Skvortsov D. et al. // Sports (Basel). 2020. V. 8. - P. 89.
2. Bueno J.W.F., Coelho D.B., de Souza, C.R. et al. // Biomechanics. 2021. V. 1. P. 334-345.
3. Fallon J.B., Bent L.R., McNulty P.A. et al. // J. Neurophysiol. 2005. V. 94. P. 3795-3804.
4. Fitzpatrick R.C., McCloskey D.I. // J. Physiol. 1994. V. 478. P. 173-186..
5. Machado Á.S., da Silva C.B., da Rocha E.S. et al. // Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed. 2017. V. 57. P. 30-36.

## ЦИРКАДИАНЫЕ РИТМЫ КОРТИЗОЛА У СТУДЕНТОК С РАССТРОЙСТВОМ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Милашечкина Е.А.,<sup>1</sup> Джандарова Т.И.,<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, г. Москва, Россия

<sup>2</sup>Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Россия

Среди студентов все чаще диагностируются заболевания «вегетососудистая дистония» и «нейроциркуляторная дистония» по некоторым данным до 50%, эти заболевания значительно снижают качество жизни и трудоспособность организма [4]. Среди установленных диагнозов чаще выявляется вегетососудистая дистония, природа которого заключается в изменении деятельности вегетативной нервной системы, которая в свою очередь причастна к регуляции ритмообразования функционирования ведущих адаптационных систем организма [2]. Особая роль в этих процессах отводится ритмам нейроэндокринной системы, одним из важнейших звеньев которой является кортизол. Предложенная А.М. Вейном с соавторами (2010) классификация вегетативных нарушений относит вегетососудистую дистонию к синдрому вегетососудистой дисфункции при органических соматических заболеваниях, которые проявляются как синдром вегетативно-сосудисто-трофических нарушений [1]. Согласно приведенным данным и МКБ 10, мы в своей работе придерживались термина «расстройство вегетативной нервной системы» (РВНС).

В исследовании участвовали студентки первого курса Северо-Кавказского университета с РВНС по гипотоническому (n=60) и гипертоническому типу (n=60). Контрольную группу составили практически здоровые студентки (n=127). Кортизол в плазме слюны определяли высокочувствительным конкурентным иммунологическим методом, забор осуществляли в 8-00, 12-00, 16-00, 20-00 часов. Циркадианные ритмы рассчитывали при помощи компьютерной программы «Cosinor Ellips 2006» (Свидетельство о регистрации № 2006611345) [3].

В результате полученных данных в начале учебного года у студенток всех исследуемых групп выявлен циркадианный ритм секреции кортизола, однако определена разница в показателях их ритма. Так, у девушек контрольной группы пик функции, то есть акрофаза секреции кортизола приходится на 6,58 часа, мезор или средний уровень синусоиды составил 12,80 нмоль/л, амплитуда – 2,90 нмоль/л. У студенток с РВНС по гипотоническому типу акрофаза приходится на 1,97 часа, мезор составил 15,39 нмоль/л, амплитуда – 6,35 нмоль/л. То есть пик секреции кортизола приходится в ночные часы, амплитуда больше чем в два раза превосходит показатель контрольной группы. Такие отличия указывают на «сбой» ритма и нарастание адаптационного пресса в ночное время. У студенток с РВНС по гипертоническому типу акрофаза зафиксирована в 6,18 часов, амплитуда составила 3,93 нмоль/л, что сопоставимо с показателями контрольной группы, однако мезор определен на уровне 14,17 нмоль/л, что выше на 9,7 % значений контрольной группы (P<0,01).

При повторном исследовании изменений секреции кортизола в конце учебного года выявили отсутствие циркадианного ритма у студенток с РВНС как по гипотоническому, так и по гипертоническому типу. То есть циркадианный ритм под влиянием внешних факторов к концу учебного года оказался разрушен. У студенток контрольной группы фиксируется ритм с акрофазой в 7,08 часа, мезором 11,11 нмоль/л, амплитудой 2,79 нмоль/л. На фоне отсутствия ритма у студенток с РВНС по гипотоническому типу сохранилась динамика увеличения значения кортизола в вечернее время до 12,66 нмоль/л, а у студенток с РВНС по гипертоническому типу увеличение концентрации кортизола наблюдается в 12 часов (16,94, нмоль/л), изменения находятся на достоверно значимом уровне по сравнению с контрольной группой (P<0,01).

Вывод. Выявленные циркадианные ритмы секреции кортизола в начале учебного года у студенток с РВНС различны в зависимости от типа патологии. Причем у студенток с РВНС по гипотоническому типу изменения имеют более негативный прогноз и противоречат данным контрольной группы. Сдвиги, которые произошли в течение учебного года указывают на негативный вектор развития адаптационных процессов у студенток с РВНС обоих типов, при

дальнейших изменениях могут сопровождаться нарушением регуляторных механизмов адаптации организма в реакции на воздействие внешней среды.

1. Ивахник О.Н., Кузнецова И.Г. О.Н. Ивахник, И.Г. Кузнецова // Саратовский научно-медицинский журнал. 2009. Т.5. № 1. С. 83-86.
2. Корягина Ю.В., С.В. Нопин. // Cosinor Ellipse 2006. № 3 (56). С.42.
3. Суринов, Д. В. // Научный медицинский вестник Югры. – 2021. – № 1(27). – С. 32-42.

## ИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Миннебаева Е.В.<sup>1,2</sup>, Гонотков М.А.<sup>1</sup>; Лебедева Е.А.<sup>1</sup>, Азаров Я.Э.<sup>1,2</sup>, Берникова О.Г.<sup>1</sup>

*1 Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар*

*2 Медицинский институт Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина, г. Сыктывкар*

Сведения о возрастных изменениях параметров потенциала действия (ПД) и определяющих их ионных токах в кардиомиоцитах у крыс противоречивы. Чаще всего при старении описывают увеличение длительности ПД [3, 5], однако есть данные об отсутствии изменений либо даже об укорочении ПД [2]. В предыдущих исследованиях нами также была обнаружена меньшая длительность ПД кардиомиоцитов в нормальных условиях и ограничение сокращения длительности ПД в ответ на ишемию у старых крыс по сравнению с молодыми животными [4]. Неоднозначные данные об изменении основных токов, влияющих на длительность ПД у крыс, таких как  $I_{CaL}$  и  $I_{to}$  [2, 5], а также  $I_{K_{ATP}}$  [1] в условиях гипоксии, определило цель настоящего исследования.

**Цель работы:** выявить изменения ионных токов, определяющих длительность ПД, при старении у крыс.

Регистрация ионных токов в конфигурации whole-cell проводилась на энзиматически выделенных желудочковых кардиомиоцитах 3, 12 и 24-месячных крыс. Ток  $I_{CaL}$  записан с использованием внешнего и внутреннего раствора с добавлением ионов цезия. Для регистрации  $I_{K_{ATP}}$  в пипеточный раствор добавляли карбонил-цианид 3-хлорофенилгидразон (СССР, 100 нМ). Ток  $I_{to1+2}$  был вызван ступенчатым протоколом от -80 мВ до +60 мВ со ступенью в 10 мВ. Регистрация тока  $I_{to1}$  проходила с присутствием нифедипина (20 мкМ), натрий во внешнем растворе заменяли на Трис.

Медленный кальциевый ток ( $I_{CaL}$ ). Кардиомиоциты 24-месячных крыс демонстрировали уменьшение тока  $I_{CaL}$  при удерживающем потенциале от 10 до 40 мВ ( $p < 0.05$ ). Пиковые значения при удерживающем мембранном потенциале 10 мВ составили: -6,6[-5.8;-7.5] пА/пФ для 3-мес., -6.2[-4.9;-6.4] пА/пФ для 12-мес. и -5.3[-4.3;-5.9] пА/пФ для 24-мес. крыс.

Калиевый АТФ-зависимый ток ( $I_{K_{ATP}}$ ). Кардиомиоциты 24-месячных крыс демонстрировали устойчивое снижение тока  $I_{K_{ATP}}$  по сравнению с 3-месячными начиная с удерживающего потенциала - 50 мВ ( $p < 0.05$ ). Значения тока на удерживающем потенциале 60 мВ составили: 130[93;144] пА/пФ для 3-мес., 76[64;93] пА/пФ для 12-мес., и 28[22;35] пА/пФ для 24-месячных животных.

Транзиторный выходящий калиевый ток ( $I_{to1+2}$ ). При изучении тока  $I_{to1+2}$  нами не было выявлено различий между кардиомиоцитами разновозрастных животных ( $p > 0.05$ ). Значения тока при потенциале 60 мВ составили: 22,7[20;25] пА/пФ для 3-мес., 23[18;34] пА/пФ для 12-мес. и 19[15;21] пА/пФ для 24-мес. Однако, после добавления во внешний раствор нифедипина (20 мкМ) было обнаружено снижение  $I_{to1}$  в кардиомиоцитах старых крыс при значениях удерживающего потенциала от 10 до 60 мВ ( $p < 0.05$ ). Значения тока при потенциале 60 мВ составили: 19[17;21] пА/пФ для 3-мес., 22[18;27] пА/пФ для 12-мес. и 10[10;13] пА/пФ для 24-мес.

При старении в кардиомиоцитах крысы происходит уменьшение медленного кальциевого тока, АТФ-зависимого калиевого тока. Транзиторный выходящий ток калия ( $I_{to1+2}$ ) с возрастом не изменяется за счет увеличения вклада кальций-чувствительных реполяризирующих токов.

*Финансирование:* (FUUU-2022-0068) (2022-2026), *уникальный номер темы:* 1021052404529-3.

1. Bao, L., et al. // *Aging Cell*, 2013. 12(1): p. 167-76.
2. Liu, S.J., et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000. 279(3): p. H889-900.
3. Luo, X., et al. // *Oxid Med Cell Longev*, 2022. 2022: p. 8538296.
4. Minnebaeva, E.V., et al. // *J Evol Biochem Physiol*, 2022. 58(Suppl. 1): p. S63-S73.
5. Walker, K.E., E.G. Lakatta, and S.R. Houser. // *Cardiovasc Res*, 1993. 27(11): p. 1968-77.

## РОЛЬ МЕХАНОАКТИВИРУЕМЫХ КАНАЛОВ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕХАНО-АНАБОЛИЧЕСКОГО СИГНАЛА В МИОТУБАХ C2C12

Мирзоев Т.М., Вильчинская Н.А., Бабкова А.Р., Сергеева К.В., Шенкман Б.С.

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

Хорошо известно, что механическая стимуляция мышечных волокон (клеток) приводит к активации внутриклеточных сигнальных каскадов, регулирующих анаболические процессы, в частности, биосинтез белка [1, 2]. Однако роль мембранных механосенсоров, воспринимающих механические возмущения и инициирующих активность внутриклеточных анаболических сигнальных каскадов в мышечных клетках остаётся малоисследованной. Ключевыми мембранными механосенсорами являются механоактивируемые (МА) ионные каналы. Одним из претендентов на роль таких каналов является недавно идентифицированный в мышечных клетках/волокнах белок Piezo1 [3]. **Цель работы** состояла в выявлении вклада механоактивируемых каналов в процесс *анаболической механотрансдукции* (преобразование механических сигналов в сигнальные пути, регулирующие синтез белка) в миотубах C2C12. Для реализации данной цели проводилась импульсная электростимуляция (ЭС) миотуб C2C12 на фоне их инкубации со специфическим химическим активатором Piezo1 – Yoda1 (10 мкМ), а также ингибитором МА каналов – гадолинием (30 мкМ). ЭС миотуб проводили в течение 3-х часов (45Hz, 21V) при помощи электростимулятора C-Pace EM (IonOptix, США). Через 4 часа после окончания ЭС (необходимое время для активации анаболических сигнальных путей) производили забор биоматериала для проведения вестерн-блоттинга и ПЦР. Для определения интенсивности белкового синтеза методом SUnSET за 30 мин до забора биоматериала миотубы инкубировали в среде с пуромицином (1 мкМ). Как и ожидалось, после ЭС в миотубах наблюдалась тенденция к увеличению интенсивности белкового синтеза, что сопровождалось повышенным фосфорилированием таких анаболических маркеров, как АКТ/ПКВ (Ser 473), p70S6K (Thr 389), rpS6 (Ser 240/244), а также повышенной экспрессией с-Мус, 45S пре-рРНК и увеличенным содержанием 18S+28S рРНК. Инкубация миотуб с Yoda1 на фоне ЭС значительно увеличила фосфорилирование таких регуляторов белкового синтеза, как p70S6K (Thr 389), nNOS (Ser 1417), GSK-3beta (Ser 9) и уменьшила фосфорилирование eEF2 (Thr56). Эти изменения в фосфорилировании сигнальных молекул сопровождались стабильно повышенным уровнем интенсивности синтеза белка. Инкубация миотуб на фоне ЭС одновременно с Yoda1 и гадолинием привела к отмене изменений как в фосфорилировании p70S6K (Thr 389), eEF2 (Thr56), nNOS (Ser 1417), GSK-3beta (Ser 9), так и в интенсивности белкового синтеза по сравнению с миотубами, которые инкубировались только с Yoda1 на фоне ЭС. Примечательно также, что инкубация покоящихся миотуб (то есть без ЭС) с Yoda1 в течение 7 часов привела к увеличению фосфорилирования АКТ/ПКВ, p70S6K и экспрессии рРНК с-Мус, а также усилению синтеза белка. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что механоактивируемые ионные каналы (в частности, Piezo1) вносят

вклад в активацию внутриклеточных анаболических процессов в дифференцированных мышечных клетках C2C12 в ответ на импульсную ЭС.

*Работа выполнена за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 22-75-10046).*

1. Vandeburgh H.H. // Med. Sci. Sports Exerc. 1987. V19. P. 142-149.
2. Hornberger T.A., Armstrong D.D., Koh T.J. et al. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2005. V.288. P.185-194.
3. Bosutti A., Giniatullin A., Odnoshivkina Y. et al. // Acta Physiol. (Oxf). 2021.V.233(4): e13702.

## **ОПТИЧЕСКАЯ ДИФФУЗИОННАЯ ТОМОГРАФИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ РАЗЛИЧИЙ В КОРТИКАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКЕ ПРИ СЕНСОМОТОРНОМ ВООБРАЖЕНИИ**

Мирошников А.А.<sup>1,4</sup>, Яковлев Л.В.<sup>1,2</sup>, Васильев А.Н.<sup>1,3</sup>, Сыров Н.В.<sup>2</sup>, Беркмуш-Антипова А. М.<sup>4</sup>, Каплан А.Я.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва

<sup>3</sup>Московский психолого-педагогический университет, Москва

<sup>4</sup>Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград

Воображение сенсомоторных ощущений можно разделить на два основных типа: моторное (МВ) воображение и соматосенсорное воображение. МВ является хорошо изученным феноменом, нашедшим свое применение в разработке основанных на воображении интерфейсов мозг-компьютер (ИМК). Тактильное воображение (ТВ) является менее исследованным, хотя представляет большой научный интерес как самостоятельное явление, а также как компонент сложных мультисенсорных мысленных образов.

Для исследования кортикальных процессов, происходящих при сенсомоторном воображении, был выбран метод функциональной ближней инфракрасной спектроскопии (фБИКС). Он позволяет регистрировать локальные изменения концентрации оксигенированного (HbO<sub>2</sub>) и дезоксигенированного (Hb) гемоглобина в сосудах головного мозга, которые отражают нейрональные процессы в соответствующих регионах коры. Расширением метода фБИКС является оптическая диффузионная томография, которая на основе моделирования диффузии фотонов в тканях головы и данных фБИКС позволяет с большой точностью локализовать на коре очаги гемодинамической активности.

В исследовании приняли участие 15 здоровых испытуемых. В 4 экспериментальных условиях испытуемые принимали участие в задачах на выполнение движений (ВД), кинестетическое моторное воображение (МВ), вибротактильную стимуляцию (ТС) и тактильное воображение (ТВ). Каждая запись состояла из 20 попыток с сенсомоторной задачей и 20 попыток покоя, длительность попытки 15 с, выполнение задачи происходило в первые 4 секунды. Все сенсомоторные задачи выполнялись относительно правой руки.

Данные фБИКС после предобработки и очистки [4] разделялись на участки (эпохи), соответствующие разным типам попыток. Обработанные эпохи использовались для реконструкции кортикальной активности с помощью библиотеки NeuroDOT MATLAB с применением нелинейной модели головы ICBM 152 [2].

На основании реконструкций были выбраны следующие регионы коры левого (контралатерального) полушария, уровень активности в которых был наивысшим среди экспериментальных условий: премоторная кора (PMC), первичная моторная кора (M1), первичная соматосенсорная кора (S1), угловая (ANG) и супрамаргинальная (SMG) извилины теменной доли. Усредненные по объему значения изменений концентрации HbO<sub>2</sub> в данных регионах использовались для построения кривых гемодинамического ответа и статистического анализа.

Результаты реконструкции источников демонстрируют повышение концентрации HbO<sub>2</sub> во всех кортикальных регионах для моторных задач (ВД, МВ), в то время как для тактильных задач (ТС, ТВ) более характерна постцентральная локализация источников с вовлечением SMG. В М1 и РМС наблюдалось снижение концентрации HbO<sub>2</sub> во время тактильных задач. Важными являются различия в профилях гемодинамической активности во время МВ и ТВ: в обоих условиях регистрируется выраженное вовлечение S1, в то время как уровень активации в М1 и РМС во время ТВ значительно ниже. Наблюдаемая динамика активации может говорить о ключевой роли соматосенсорных регионов коры в генерации сенсомоторных образов, в то время как активация моторных регионов является более специфической для задач, связанных с движением [3]. Вовлечение в процессы сенсомоторного воображения таких регионов теменной доли как SMG и ANG может свидетельствовать об их участии в формировании сенсомоторных образов, где они выступают связующим звеном между соматосенсорной корой и семантической памятью [1]. Полученные результаты являются важными для понимания механизмов сенсомоторной интеграции, а также разработки мультисенсорных ИМК.

*Работа Мирошникова А. А. была поддержана Некоммерческим Фондом развития науки и образования «Интеллект».*

1. Jäncke L., Kleinschmidt A., Mirzazade S. et al. //Cerebral cortex. 2001. V. 11. №. 2. P. 114-121.
2. Mazziotta J., Toga A., Evans A. et al. //Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. 2001. V. 356. №. 1412. P. 1293-1322.
3. Yoo S. S., Freeman D. K., McCarthy III J. J. et al. //Neuroreport. 2003. V. 14. №. 4. P. 581-585.
4. Yücel M. A., Lühmann A. V., Scholkmann F. et al. //Neurophotonics. 2021. P. 8. №. 1. P. 012101.

## **ВЛИЯНИЕ ЭМПАГЛИФЛОЗИНА НА ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕРДЦА**

Михайлова В.Б.<sup>1</sup>, Клименко Е.С.<sup>1</sup>, Карпушев А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург*

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

Эмпаглифлозин (EG) представляет собой ингибитор натрий-глюкозного котранспортера SGLT2, применяемого для лечения сахарного диабета 2 типа. Механизм действия заключается в предотвращении реабсорбции глюкозы в проксимальных канальцах почек, что способствует увеличению её выведения и снижению концентрации в крови [1]. Диабет связан с повышенным риском развития сердечной недостаточности и кардиомиопатии. Анализ клинических исследований EG показал, что этот препарат обладает клинически значимым потенциалом в роли антиаритмического средства [2]. Однако механизм, с помощью которого достигается этот эффект, в настоящее время до конца не изучен. **Целью** этой работы стало изучение механизмов влияния EG на электрофизиологические характеристики желудочковых кардиомиоцитов *Danio rerio* и *Mus musculus*.

В экспериментах были использованы тропические пресноводные рыбки (*Danio rerio*) дикого типа, а также мыши (*Mus musculus*) дикого типа и линии db/db с нокаутом лептинового рецептора и сахарным диабетом 2 типа. Мыши db/db были разделены на две экспериментальные группы для оценки хронического эффекта: предварительно не получавшие EG и получавшие EG в течение недели (150 мг/кг). Острый эффект при инкубации с 5 мкМ EG в течение двух часов оценивался в обеих группах db/db, а также в группах дикого типа *Mus musculus* и *Danio rerio*. Желудочковые кардиомиоциты были получены путем энзиматического выделения. Ионные токи регистрировались методом

локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole cell. Для выявления механизмов кардиопротекторного действия были выполнены эксперименты по регистрации потенциалов действия (ПД) на изолированном сердце рыбки *Danio rerio*. На свежесыведенных желудочковых кардиомиоцитах зарегистрированы основные ионные токи, определяющие генерацию ПД: натриевый и кальциевые (L- и T-типа) потенциал-зависимые токи ( $I_{Na}$ ,  $I_{CaL}$ ,  $I_{CaT}$ ), быстрая и медленная компоненты калиевого тока задержанного выпрямления ( $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ), и токи натрий-кальциевого обменника ( $I_{NCX}$ ). На объекте *Mus musculus* выполнены эксперименты по регистрации потенциал-зависимого кальциевого тока  $I_{Ca}$  и внутриклеточной концентрации ионов кальция  $[Ca^{2+}]_i$  в изолированных желудочковых кардиомиоцитах мышей дикого типа и db/db. Вызванные осцилляции  $[Ca^{2+}]_i$  были получены методом прижизненной эпифлуоресцентной микроскопии с использованием  $Ca^{2+}$ -связывающего зонда Fura-2 AM.

Исследование антиаритмических свойств EG на кардиомиоцитах *Danio rerio* показали, что EG вызывает значительное уменьшение плотности  $I_{NCX}$  и увеличение плотности  $I_{Kr}$  и  $I_{Ks}$ . Однако эффектов на активационные и инактивационные параметры  $I_{Na}$  и  $I_{CaL}$  и  $I_{CaT}$  обнаружено не было. Также было определено, что EG вызывал достоверное уменьшение длительности ПД при реполяризации на уровне 20%, 50% и 90% на изолированном сердце. Исследования на кардиомиоцитах *Mus musculus* установили, что плотность  $I_{Ca}$  у мышей db/db ниже, чем у контрольных особей. Однако предварительное введение EG, а также инкубация в течение двух часов способствует увеличению плотности тока до уровней, сопоставимых с контрольными мышцами, и повышает плотность  $I_{Ca}$  у контрольных мышей при двухчасовой инкубации. В рамках исследования динамики внутриклеточного  $Ca^{2+}$  было выявлено, что у мышей db/db скорость снижения внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  выше, а длительность  $Ca^{2+}$  волны короче по сравнению с контрольными животными. Инкубация с EG в течение двух часов увеличивает амплитуду и скорость нарастания внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ , а также сокращает длительность  $Ca^{2+}$  волны у контрольных мышей. При хроническом воздействии EG на мышей db/db наблюдается сокращение длительности, увеличение амплитуды, а также рост скорости как нарастания, так и падения  $Ca^{2+}$  волны.

В результате проведенного исследования было установлено, что EG модулирует кальциевые и калиевые ионные токи, вовлеченные в генерацию ПД и регулирует динамику внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , что, вероятно, играет ключевую роль в его кардиопротекторном эффекте.

1. Корбут А.И., Климонтов В.В. // Сахарный диабет. 2017. Т. 20 (1). С. 75-84.
2. Zinman B., Wanner C. et al. // N. Engl. J. Med. 2015. N. 26 (22). P. 2117–28.

### **EX VIVO МОДЕЛЬ ТРОМБОВОСПАЛЕНИЯ В МОДЕЛИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЕМТ-6 У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C**

Коробкина Ю. Д.<sup>1,2</sup>, Мишуков А.А.<sup>1</sup>, Свешникова А.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва,

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии, и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

Тромбовоспаление – это комплексное взаимодействие между системой гемостаза и иммунной системой, и считается, что тромбовоспаление в основном обусловлено взаимодействием между гранулоцитами (нейтрофилами) и тромбоцитами [1]. Тромбовоспаление часто связывают с развитием и прогрессированием рака [2]. Взаимная активация тромбоцитов и нейтрофилов при онкологии может привести как к тромбозам, так и к усилению метастазирования опухоли за счет появления провоспалительных цитокинов и ДНК-ловушками нейтрофилов [3].

Целями данной работы является разработка *ex vivo* модели тромбовоспаления у мышей, а также анализ состояния тромбовоспаления в *in vivo* модели рака молочной железы ЕМТ-6 на ранней стадии туморогенеза.

Для *in vivo* модели использовались самки мышей линии BALB/c, которым ортотопически [4] инокулировалось суспензия клеток ЕМТ-6. Взятие крови производилось на гирудин (1 Ед/мл) прижизненно из ретро-орбитального синуса при достижении опухоли размера 50-100 см<sup>3</sup>. Тромбовоспаление наблюдалось аналогично работе 5, вкратце, антикоагулированная цельная кровь прокачивалась со скоростью сдвига 100-1000 с<sup>-1</sup> через плоско-параллельные проточные камеры, наблюдение проводилось на микроскопе Nikon Ti Eclipse.

В настоящей работе была разработана мышьяная модель тромбовоспаления, позволяющая анализировать взаимодействие нейтрофилов с растущими тромбами. Нами было показано, что использование комбинации фибронектина (4 мг/мл) и коллагена I типа (0,1 мг/мл) в качестве поверхности (матрикса), активирующей тромбоциты, позволяет индуцировать тромбообразование, моделирующее как сам рост тромбов, процессы ретракции и окклюзии тромбом потока крови, так и отслеживать движение и поведение нейтрофилов в окрестности тромбов.

При помощи разработанной модели показано, что в мышцах, несущих опухоль ЕМТ-6, рост тромбов замедлен. Так, на 5 минуте размер тромбов у мышей с опухолью составляет  $21 \pm 11$  % от поля зрения против  $40 \pm 10$  % у здоровых мышей (значимость  $p < 0.05$ ), на 10 минуте –  $41 \pm 15$  % и  $70 \pm 7$  % у опухолевых и здоровых мышей ( $p < 0.01$ ) соответственно. При этом количество нейтрофилов, адгезирующих к тромбам, и их средняя скорость не отличаются у здоровых мышей и мышей с опухолями. Однако количество нейтрофилов, покидающих тромб и адгезирующих на фибронектин-коллагеновый матрикс значимо увеличено у мышей с опухолью. Интересно отметить, что количество нейтрофилов, покидающих тромб, положительно коррелирует ( $\rho = 0.84$ ,  $p < 0.05$ ) с размером опухоли.

Таким образом, нами было показано, что уже на ранних этапах развития опухоли ЕМТ-6 у мышей BALB/c наблюдается замедление скорости роста тромбов, а также изменение поведения нейтрофилов вокруг тромбов. *Работа была поддержана грантом РФФ № 23-45-10039.*

1. Darbousset, R.; Mezouar, S.; Dignat-George, et al. // *Pathologie Biologie* 2014, 62 (1), 1–9.
2. Schattner, M.; Jenne, C. N.; Negrotto, S.; Ho-Tin-Noe, // *V. Front. Immunol.* 2020, 11, 1079.
3. De Meo, M. L.; Spicer, J. D. // *Seminars in Immunology* 2021, 57, 101595.
4. Tavera-Mendoza, L. E.; Brown, M. // *Lab Anim* 2017, 51 (1), 85–88.
5. Korobkin, J.-J. D.; Deordieva, E. A.; Tesakov, I. P. et al. // *ВМС Biol* 2024, 22 (1), 115.

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО И НЕОНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЛУВОКСАМИНА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ БЕЛЫХ КРЫС.**

Моничева А.А.<sup>1</sup>, Герасимов А.А.<sup>1</sup>, Глазова Н.Ю.<sup>1</sup>, Манченко Д.М.<sup>1</sup>, Левицкая Н.Г.<sup>1</sup>.

*1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва,  
e-mail: anastasiamonicheva@gmail.com*

Серотонин (5-НТ) является одним из важнейших регуляторов развития нервной системы в период эмбриогенеза и ее дальнейшего созревания. Этот медиатор участвует во многих поведенческих, когнитивных и физиологических функциях, регулирует настроение, эмоциональный фон, память и социальные взаимодействия [1]. Вмешательства в гомеостаз серотонина в важнейшие периоды формирования нервной системы могут приводить к развитию психических заболеваний. Одной из групп препаратов, воздействующих на серотонинергическую систему, являются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС). Эти препараты повышают уровень внеклеточного серотонина в

головном мозге, блокируя его обратный нейрональный захват. Флувоксамин (ФА) – один из антидепрессантов группы СИОЗС, который активно используется в клинике, в том числе и для лечения депрессивных расстройств у беременных и кормящих женщин. ФА хорошо проникает через плацентарный барьер и способен воздействовать на развивающуюся нервную систему эмбриона. В дальнейшем такое воздействие может привести к долговременным изменениям психологического статуса организма и нарушению некоторых поведенческих реакций.

**Целью** нашей работы было выявить отставленные эффекты пренатального или неонатального воздействия флувоксамина на уровень двигательной активности и тревожности у потомства белых крыс. Опыты проводились на крысах стока Wistar. ФА вводили внутрибрюшинно ежедневно в дозе 10 мг/кг. В случае пренатального воздействия инъекции препарата получали самки крыс с 3-го по 10-й дни или с 8-го по 14-й дни беременности; в случае неонатального воздействия – новорожденные крысята с 1-го по 14-й постнатальные дни (ПНД). Время введения антидепрессанта выбрано в соответствии с разными периодами развития серотонинергической системы крыс. В период с 3-го по 10-й дни эмбрионального развития (ЭД) собственная 5-НТ система у плода отсутствует. Период 8-14 ЭД соответствует этапу закладки собственной 5-НТ системы эмбриона крысы. При неонатальном введении воздействие антидепрессанта происходит в период интенсивного развития 5-НТ системы [2].

Двигательную активность и уровень тревожности оценивали у крыс препубертатного возраста в тестах «Открытое поле» (ОП) на 30 ПНД и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) на 31 ПНД. Тестирование в ПКЛ проводили в двух модификациях: стрессогенной (при ярком контрастном освещении рукавов лабиринта) и бесстрессорной (при рассеянном освещении лабиринта). Все исследования проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

Проведенные исследования показали, что как пренатальное, так и неонатальное введение ФА не приводит к изменению параметров поведения крыс в ОП, следовательно, препарат не влияет на двигательную активность животных в возрасте 30 ПНД. Воздействие ФА в период 3-10 ЭД не вызывало изменения параметров поведения крыс в разных модификациях теста ПКЛ. Воздействие антидепрессанта с 8 по 14 ЭД приводило к снижению времени, проведенного на свету, и числа выходов на открытые рукава лабиринта как в бесстрессорной, так и стрессогенной модификациях ПКЛ, что свидетельствует об увеличении уровня тревожности крыс в различных условиях эксперимента. Неонатальное введение ФА не оказало влияния на уровень тревожности животных в бесстрессорной модификации теста ПКЛ, однако в стрессогенных условиях было зарегистрировано статистически значимое снижение времени, проведенного на открытых рукавах, и уменьшение числа выходов на свет у крыс, получавших ФА неонатально.

Таким образом, можно заключить, что введение ФА до образования 5-НТ системы организма не оказывает влияния на двигательную активность и уровень тревожности крыс в подростковом возрасте. Однако воздействие на крыс антидепрессанта группы СИОЗС флувоксамина как в период закладки серотонинергической системы, так и во время ее созревания приводит к увеличению уровня тревожности животных в препубертатный период, при этом не влияя на уровень их двигательной активности. Введение ФА в период образования 5-НТ системы плода приводит к более выраженным изменениям поведения потомства крыс.

1. Berger, M., Gray, J.A., Roth, B.L. // Annual Review of Medicine, 2009, V. 60. P. 355–366.
2. Pattyn A., Simplicio N., Doorninck J.H. van, et al. // Nat. Neurosci. 2004 V. 7. P. 589–95

## ВЛИЯНИЕ ЭСТРАДИОЛА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРЕДСЕРДИЙ И ЖЕЛУДОЧКОВ

Мячина Т.А.<sup>1</sup>, Бутова К.А.<sup>1</sup>, Симонова Р.А.<sup>1</sup>, Кочурова А.М.<sup>1</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>,  
Щепкин Д.В.<sup>1,2</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
Екатеринбург

Эстрадиол является основным и наиболее биологически активным гормоном из группы эстрогенов, синтез которого преимущественно осуществляется в яичниках, коре надпочечников и жировой ткани. Эстрадиол участвует в регуляции функционирования сердечно-сосудистой системы, и дисбаланс его концентрации влияет на риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. В частности, как повышение, так и понижение уровня эстрадиола приводят к развитию аритмий. Показано, что эстрадиол оказывает значительное влияние на регуляцию сократительной активности желудочков [1], но его влияние на механическую функцию предсердий слабо изучено. Работа посвящена изучению воздействия повышенного уровня  $\beta$ -эстрадиола на сократимость предсердий и желудочков на клеточном и молекулярном уровнях организации миокарда.

Эксперименты выполнены на половозрелых самках крыс Вистар возрастом 18-19 недель согласно Директиве 2010/63/EU. Одиночные кардиомиоциты желудочков и предсердий получены при помощи ретроградной перфузии изолированного сердца по Лангендорфу в комбинации с внутрикамерными инъекциями [2]. Для оценки прямого влияния повышенного уровня  $17\beta$ -эстрадиола на сократительные характеристики клеток и фосфорилирование сократительных белков суспензию кардиомиоцитов предсердий и желудочков инкубировали с 10 нМ  $17\beta$ -эстрадиолом (Sigma-Aldrich, США) в течение 10 минут. Динамику сокращения-расслабления саркомеров измеряли на программно-аппаратном комплексе MCSYS-02 (IonOptix, США). Концентрацию цитозольного  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ) оценивали при помощи системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (LSM-710, Carl Zeiss, Германия) и  $Ca^{2+}$ -чувствительного флуорофора Fluo 8-AM (AAT Bioquest, Inc., США). Измерения выполняли в течение 5 минут после инкубации при частоте электрической стимуляции 1 Гц и температуре  $36 \pm 1^\circ C$ . Изменение актин-миозинового взаимодействия, оценивали, измеряя в *in vitro* подвижной системе, скорость скольжения тонких филаментов, реконструированных из актина, тропонина и тропомиозина, по миозину, экстрагированному из суспензии кардиомиоцитов. Степень фосфорилирования основных саркомерных белков определяли гелем-электрофорезом с окрашиванием Pro-Q Diamond и SYPRO Ruby (Thermo Fisher Scientific, США) [3].

Обнаружено, что инкубация суспензии кардиомиоцитов с  $17\beta$ -эстрадиолом не оказывала статистически значимого влияния на конечно-диастолическую длину саркомеров и временные параметры сокращения-расслабления саркомеров кардиомиоцитов как предсердий, так и желудочков, но уменьшала время достижения 50% спада  $[Ca^{2+}]_i$  в кардиомиоцитах желудочков. Инкубация с  $17\beta$ -эстрадиолом в миоцитах желудочков снижала амплитуду укорочения саркомеров и его максимальную скорость, но увеличивала амплитуду изменения  $[Ca^{2+}]_i$ .

После инкубации с  $17\beta$ -эстрадиолом увеличивалась скорость скольжения филаментов по миозину из кардиомиоцитов желудочков на 25% и предсердий на 18%, то есть увеличилась скорость циклирования поперечных мостиков миозина. В миоцитах желудочков увеличилась степень фосфорилирования сMyBP-C на 20% и TnI – на 60%, уменьшилась степень фосфорилирования Trm на 37%, а в миоцитах предсердий на 53% увеличилась степень фосфорилирования Trm.

Таким образом, высокие концентрации  $17\beta$ -эстрадиола оказывают наибольшее воздействие на сократительные характеристики кардиомиоцитов желудочков по сравнению с кардиомиоцитами предсердий. Можно предположить, что несоответствие между

характеристиками сокращения кардиомиоцитов и данными по скорости циклирования миозина объясняется изменением характеристик динамики  $[Ca^{2+}]_i$ . Уменьшение амплитуды сокращений саркомеров кардиомиоцитов желудочков может быть связано с уменьшением степени фосфорилирования сМуВР-С.

*Эксперименты выполнены на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН при поддержке гранта РФФИ № 22-75-10134.*

1. Bell J.R., Mellor K.M., Wollermann A.C. et al. // *Endocrinology*. 2011. V.152. № 12. P.4937–47.
2. Butova X.A., Myachina T.A., Khokhlova A.D. // *MethodsX*. 2021. V.8. P.101189.
3. Khokhlova A.D., Myachina T.A., Volzhaninov D.A. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V.23. № 3. P.1719

### **СЕРДЕЧНЫЙ МИОЗИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК-С УВЕЛИЧИВАЕТ ВРЕМЯ ЖИЗНИ АКТИН-МИОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА**

Набиев С.Р.<sup>1</sup>, Никитина Л.В.<sup>1</sup>, Матюшенко А.М.<sup>2</sup>, Ямпольская Д.С.<sup>2</sup>, Бершицкий С.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

<sup>2</sup>*ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва*

Сердечный миозин-связывающий белок-С (сМуВР-С) является одним из вспомогательных белков саркомера, который располагается в С-зоне. N-терминальная часть молекулы сМуВР-С, включающая домены от С0 до С2 имеет сайты связывания, как с актином тонких нитей, так и с миозином толстых нитей, влияя на взаимодействие сократительных белков в мышце [2]. Домен С0 связывается с регуляторными легкими цепями миозина, С1-С2 – с субфрагментом 2 миозина, домены С0-С2 и линкерные участки между ними связываются с актином [2]. На многоклеточных препаратах показано участие сМуВР-С в регуляции сокращения миокарда [4]. Эти данные дают основание полагать, что N-концевые домены белка-С могут влиять на характеристики взаимодействия молекул миозина с F-актином. **Целью** данной работы было исследование влияния N-терминального С0-С2 фрагмента сМуВР-С на характеристики одиночного взаимодействия молекулы миозина с F-актином с помощью оптической ловушки.

Сердечный миозин выделяли из левого желудочка сердца свиньи, актин экстрагировали из быстрых скелетных мышц кролика [3]. N-терминальный С0-С2 фрагмент человеческого сМуВР-С экспрессировали в *E. coli* [3]. Характеристики взаимодействия одиночной молекулы миозина с F-актином – размер рабочего шага миозина и длительность актин-миозинового взаимодействия – измеряли с помощью оптической ловушки (ОЛ), как описано ранее [5]. Измерительный зонд, состоящий из актиновой нити, прикрепленной к двум полистироловым шарикам (1 мкм), удерживаемым лазерными лучами, использовался для регистрации взаимодействия с одиночной молекулой миозина на 2 мкм пьедестале. Фрагмент С0-С2 сМуВР-С загружали в экспериментальную ячейку вместе с миозином в молярном соотношении 1:5.

Фрагмент С0-С2 сМуВР-С не влияет на размер шага сердечного миозина. Величина шага соответствовала данным, опубликованным ранее для миозина поперечнополосатых мышц. Фрагмент С0-С2 существенно – на 22% – увеличивал продолжительность актин-миозинового взаимодействия с 25,5 мс без фрагмента С0-С2 сМуВР-С до 38,2 мс в присутствии С0-С2 сМуВР-С при концентрации АТФ в растворе 10 мкМ.

Используя фрагмент С0-С2 сМуВР-С и прямое измерение характеристик актин-миозинового взаимодействия в оптической ловушке, мы показали, что N-терминальная часть сМуВР-С оказывает влияние на время жизни актин-миозинового комплекса. Такое влияние, наиболее вероятно, обеспечивается за счет связывания С0 сМуВР-С с регуляторной легкой цепью миозина, которая, в свою очередь, может замедлять цикл работы поперечного мостика [1].

1. Farman G.P., Muthu P., Kazmierczak K. et al // J Appl Physiol (1985). 2014. Vol. 117. N 12. P. 1471-1477.
2. Heling L.W.H.J., Geeves M.A., Kad N.M. // J. Muscle Res. Cell Motil. 2020. Vol. 41, N 1. P. 91-101. doi: 10.1007/s10974-019-09567-1
3. Kochurova A.M., Beldiia E.A., Nefedova V.V. et al. // Biochemistry (Mosc). 2024. Vol. 89. N 1. P. 116-129.
4. Napierski N.C., Granger K., Langlais P.R. et al. // Circ. Res. 2020. Vol. 126. N 6. P. 737-749.
5. Shchepkin D.V., Nabiev S.R., Kopylova G.V. et al. // J. Muscle Res. Cell Motil. 2017. Vol. 38. N 2. P. 183-191.

## **ДИНАМИКА ЗРИТЕЛЬНЫХ ГАММА ОСЦИЛЛЯЦИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ЗРИТЕЛЬНОГО СНЕГА (СЗС) УКАЗЫВАЕТ НА ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОННОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ**

Наумова С.М.<sup>1,2</sup>, Обухова Т.С.<sup>1</sup>, Орехова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Центр нейрокогнитивных исследований (МЭГ-центр), Московский государственный психолого-педагогический университет (МГППУ), Москва*

<sup>2</sup> *Институт когнитивных нейронаук, Национальный исследовательский институт Высшая школа экономики (НИУ ВШЭ), Москва*

Синдром зрительного снега (СЗС) характеризуется наличием иллюзорных точек по всему полю зрения и другими аномалиями зрительного восприятия, часто сопровождается неврологическими (мигрень, тиннитус) и/или психиатрическими (депрессия, тревожность) нарушениями. Механизмы СЗС неизвестны, предполагают, что зрительные нарушения при СЗС связаны с повышенной возбудимостью зрительной коры (Bou Ghannam, 2017). Немногочисленные нейрофизиологические исследования людей с СЗС указывают на нарушение привыкания (уменьшения амплитуды при многократном предъявлении стимула) зрительных вызванных потенциалов (ВП), что свидетельствует о нарушении нейронной пластичности (Yildiz, 2019). Недавние исследования на животных (Peter, 2021) и человеке (Stauch, 2020) показали, что многократное предъявление зрительного стимула ведет сначала к быстрому падению, а затем – к устойчивому росту мощности зрительных гамма осцилляций. Такой рост может являться следствием стимул специфичной нейронной пластичности, ведущей к укреплению связей в нейронных цепях, вовлеченных в обработку стимула и к ослаблению иррелевантного входа (Stauch, 2020).

Мы предположили, что нарушение баланса активности тормозных и возбуждающих нейронов при СЗС отразится в нарушении временной динамики мощности гамма-ответа (зависимости от порядка предъявления стимула). Мы также предположили, что изменение такого баланса приведет к атипичной зависимости мощности гамма осцилляций от интенсивности зрительного входа, модулируемой скоростью движения высококонтрастной решетки (Manuykhina, 2023).

У участников с СЗС (22 человека, 10 женщин, средний возраст -  $26.18 \pm 4.4$  лет) и контрольных испытуемых (26 человек, 12 женщин, средний возраст -  $26.8 \pm 3.54$  лет) регистрировали магнитоэнцефалограмму (МЭГ) в то время, как им в случайном порядке предъявлялись статичные и движущиеся с различной скоростью (0.6, 1.2, 3.6, 6.0 %/сек.) концентрические решетки (угловая частота: 1.66 циклов/°, размер 18°). Целевыми показателями были изменение мощности ответа на гамма частоте в зависимости от скорости стимула и времени. Анализ зависимости усредненной мощности гамма-ответа от типа стимула проводили методом ANOVA. Для анализа временной динамики гамма-ответа использовали метод смешанных линейных моделей (функция lmer статистического пакета R). В последнем

случае, зависимой переменной являлось изменение мощности в гамма диапазоне при каждом предъявлении стимула по сравнению с непосредственно предшествующим фоном.

Моделирование динамики гамма-ответов в объединенной группе испытуемых показал, что амплитуда гамма ответа снижается в течение первых 20-ти предъявлений, а затем растет, что согласуется с данными предыдущих исследований. У пациентов с СЗС по сравнению с контрольной группой наблюдалось значимо более быстрое увеличение мощности гамма-ответа с течением времени. Так, в среднем от 20-го к 137-му (последний стимул в блоке) предъявлению гамма-ответ увеличилась на 43% у контрольных участников и на 97% у участников с СЗС. Вопреки нашей второй гипотезе, мощность гамма-ответа и ее зависимость от типа стимула у участников с СЗС не отличались от нормы.

Результаты свидетельствуют о повышенной пластичности нейронов зрительной коры при СЗС. Наше исследование не позволяет судить о синаптических механизмах такого нарушения. Несмотря на это, показатели зависимости мощности гамма-ответа от порядка предъявления стимула могут оказаться полезными биомаркерами нарушения баланса нейронной активности, применимыми в клинических исследованиях. Следует отметить, что до настоящего времени зависимость мощности гамма ответа от порядка предъявления стимула изучалась только у здоровых людей, и наше исследование впервые выявило атипичную временную динамику зрительных гамма осцилляций в клинической группе.

1. Bou Ghannam. // Current treatment options in neurology. 2017.
2. Manyukhina et al // PLoS One. 2023.
3. Peter et al. // Cell Rep. 2021.
4. Stauch et al. // eLife. 2021.
5. Yildiz et al. // Headache. 2019.

## ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ЭНДОГЕННОГО МОДУЛЯТОРНОГО ВЛИЯНИЯ ГАМК НА ПРОЦЕСС НЕЙРОСЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ МЫШИ

Невский Е.С.<sup>1</sup>, Маломуж А.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

<sup>2</sup>Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н.

Туполева –КАИ, г. Казань

Гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК) принято рассматривать как основной тормозной нейромедиатор в синапсах ЦНС, однако к настоящему моменту накоплен значительный массив данных, свидетельствующий о возможной сигнальной роли этой аминокислоты и в периферических синапсах [1], включая и нервно-мышечный контакт [2], где функцию нейромедиатора выполняет ацетилхолин (АХ). С помощью экзогенно апплицируемой аминокислоты было обнаружено наличие ГАМКергического механизма угнетения процесса вызванного квантового выделения АХ [3]. При этом, данных о наличии эндогенного модуляторного влияния ГАМК непосредственно на процесс нейросекреции АХ в периферическом синапсе до сих пор получено не было, что и стало **целью** настоящего исследования, в котором процесс вызванного выделения нейромедиатора оценивали с помощью классического флуоресцентного метода с использованием липофильного красителя FM1-43.

Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате *m. Levator Auris Longus* мышцы с соблюдением всех общепринятых биоэтических норм. После выделения препарат помещали в раствор с FM1-43 (5 мкМ), где производили «загрузку» красителя внутрь терминали, стимулируя двигательный нерв (3 мин. 30 Гц). Вследствие липофильности краситель обратимо связывается с пресинаптической мембраной и попадает в рециклируемых везикулах внутрь нервных терминалей во время эндоцитоза. По окончании стимуляции терминаль насыщается

красителем; далее, препарат тщательно отмывали от избытка FM1-43 и впоследствии (через 15-20 минут в контроле или в присутствии фармакологических агентов) производили «разгрузку» терминали, стимулируя нерв при той же частоте, но в течение 10 мин. Снижение интенсивности окраски терминали связывают с экзоцитозом ранее загруженных везикул и отмывкой красителя из пресинаптической мембраны. Данные по разгрузке флуоресцентного красителя представляются в виде нормализованных значений к максимальному (изначальному) уровню свечения (%). Ускорение «разгрузки» трактуется как усиление процесса экзоцитоза, и наоборот, снижение темпа «разгрузки» - свидетельство замедления процесса везикулярного выброса медиатора.

Контрольное значение «разгрузки» нервных терминалей *m. LAL* к окончанию 10 мин. составило  $36.2 \pm 1.9\%$ . Аппликация ГАМК (10 мкМ) приводила к снижению темпов «разгрузки» на  $30.4 \pm 3.6\%$ , что согласуется с данными литературы об ухудшении экзоцитоза в присутствии аминокислоты [3]. Для выявления эндогенного выделения и эффекта ГАМК мы использовали блокаторы ГАМК транспортеров – нипекотиновую кислоту (1 мМ) и  $\beta$ -аланин (1 мМ). В случае, если ингибиторы апплицировались за 15-20 минут перед «разгрузкой», никакого эффекта обнаружено не было. Однако, если эти соединения добавляли на этапе «загрузки», то по окончании протокола эксперимента регистрировали замедление снижения флуоресценции (до  $74.3 \pm 1.9\%$  и до  $56.8 \pm 4.3\%$ , соответственно). Для верификации того, что эффекты ингибиторов ГАМК транспортеров связаны именно с накоплением эндогенной ГАМК использовали блокатор ГАМК<sub>Б</sub> рецепторов саклофен (100 мкМ). В присутствии блокатора никакого угнетающего влияния  $\beta$ -аланина зарегистрировано не было. Однако и сам блокатор не влиял на темп «разгрузки» терминали. При увеличении же частоты стимуляции до 50 Гц нам удалось выявить ускоряющий «разгрузку» эффект блокатора ГАМК<sub>Б</sub> рецепторов.

Таким образом, в данном исследовании нам удалось получить доказательства того, что ГАМК выделяется в нервно-мышечном синапсе в ответ на стимуляцию нерва (либо из нервных терминалей, либо из перисинаптических Шванновских клеток) и эта аминокислота угнетающе влияет на процесс нейросекреции АХ, активируя ГАМК<sub>Б</sub> рецепторы. При этом получены экспериментальные свидетельства важности ГАМК транспортеров для функционирования нервно-мышечной трансмиссии.

*Поддержано грантом РФФИ № 23-25-00330 (<https://rscf.ru/project/23-25-00330/>).*

1. Malomouzh A., Ilyin V., Nikolsky E. // Amino Acids. 2019. V. 51. P.1093-1102.
2. Nurullin L.F., Nikolsky E.E., Malomouzh A.I. // Acta Histochem. 2018. V. 120. P. 298-301.
3. Malomouzh A.I., Petrov K.A., Nurullin L.F. et al. // J. Neurochem. 2015. V. 135. P. 1149-1160.

## **IP3-ЗАВИСИМЫЙ СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ АТРОФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ПРИ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ**

Немировская Т.Л.

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

При разгрузке мышц в мышечных волокнах soleus происходит накопление макроэргических фосфатов [1], снижается мембранный потенциал покоя [2], что сопровождается накоплением  $Ca^{2+}$  в саркоплазме [3]. АТФ, который попадает во внеклеточное пространство (в том числе и через паннексиновые каналы), может вызывать отставленное медленное высвобождение  $Ca^{2+}$  в миоплазме через P2Y2-PLC-IP3 путь [5]. Высвобождение  $Ca^{2+}$ , вызванное деполяризацией мембраны мышечных волокон, можно разделить на два независимых компонента: быстрый транзитный  $Ca^{2+}$ , равномерно распределенный по клетке, что соответствует сопряжению возбуждения и сокращения, и медленный транзитный  $Ca^{2+}$  с отчетливым ядерным компонентом, генерируемый IP3. «Медленный»  $Ca^{2+}$  может

стимулировать активацию внутриклеточных сигнальных путей и мышечную атрофию, а также участвует в сопряжении возбуждения и транскрипции и сохраняется в саркоплазме в течение длительного времени. В работах в экспериментах на культуре миотуб было обнаружено, что медленные кальциевые процессы опосредованы IP3, но не RYR. Мы полагаем, что при функциональной разгрузке скелетных мышц механизм генерации IP3 может осуществляться посредством активации метаболитных пуринергических рецепторов P2Y внеклеточным АТФ, высвобождаемым через механизм, зависимый от паннексина 1, сопряженного с работой сенсора напряжения DHPR. Ранее аналогичный механизм был описан в лаборатории Jaimovich в экспериментах на культуре миотуб, мышечных волокон, а также в модели mdx мышей. Мы проверяли гипотезу о связи между изменениями клеточной концентрации  $Ca^{2+}$ , накоплением АТФ и активацией IP3-зависимого сигнального пути при разгрузке *m. soleus*. Было проведено 3 эксперимента: 1. с ингибированием каналов L-типа нифедипином; 2. с ингибированием PI3-киназы и 3. с ингибированием IP3-рецепторов при разгрузке *m. soleus* крыс Wistar. Обнаружено, что при разгрузке *m. soleus*: 1. блокирование DHPR предотвращает повышение уровня АТФ и  $Ca^{2+}$  в миоплазме ( $p < 0,05$ ); 2. ингибирование PI3K замедляет атрофию камбаловидной мышцы, предотвращает накопление в ней АТФ, экспрессию убиквитинлигазы MuRF1 и Ub, увеличение уровня IP3 и экспрессию IP3R, увеличение экспрессии Ca-зависимой мРНК CaN, предотвращает снижение p-CaMKII (Ca-кальмодулин киназы II) ( $p < 0,05$ ); предотвращает снижение уровня маркеров анаболической сигнализации в ненагруженных мышцах (IRS1 и 4E-BP); 3. ингибирование рецепторов IP3 предотвращает уменьшение площади поперечного сечения *m. soleus* быстрых и медленных мышечных волокон, что связано с предотвращением снижения рибосомального биогенеза и повышением экспрессии маркеров аутофагии ULK-1 и IL-6 ( $p < 0,05$ ). Предотвращено также снижение уровня фосфорилирования Ca-зависимой CaMK II. Вывод: имеется взаимосвязь между притоком  $Ca^{2+}$  в волокно, содержанием АТФ и атрофией камбаловидной мышцы. IP3K и IP3R участвуют в регуляции атрофических процессов и сигнализации при разгрузке скелетных мышц.

*Поддержано РФФ № 24-15-00088*

1. Zaripova K.A., Kalashnikova E.P., Belova S.P., et al. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V.22.
2. Kravtsova V.V., Matchkov V.V., Bouzinova E.V., et al // Biomed. Res. Int. 2015; 2015: 720172.
3. Ingalls C.P., Warren G.L., Armstrong R.B. // J. Appl. Physiol (1985). 1999. V.87. P.386-390.
4. Casas M., Buvinic S., Jaimovich E. // Exerc. Sport. Sci. Rev. 2014. V.42. P.110-116.
5. Jaimovich E., Reyes R., Liberona J.L., Powell J.A. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2000, 278(5): C998-C1010.

## **ВЛИЯНИЕ ДИОКСИДА ТИТАНА В СОСТАВЕ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ E171 НА РАСПОЛОЖЕНИЕ КОРКОВЫХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВ У БЕЛЫХ МЫШЕЙ**

**Непряхина Н.П.<sup>1</sup>, Худякова Н.А.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Удмуртский государственный университет, Ижевск*

Для оценки влияния диоксида титана на двигательные представительства у белых мышей вводили пищевой краситель E171 подкожно в дозе 100 мкл/кг двукратно в возрасте 2 и 5 дней после рождения. Затем мышата содержались с матерью до 21 дня, после чего их переводили в отдельные клетки на стандартном корме.

У взрослых мышей с помощью метода внутрикоровой микростимуляции (ВКМС) оценивали расположение двигательных представительств. Перед процедурой проводили наркоз препаратом Золетил 100 в дозе 70 мг/кг. Делали скальпирование и двустороннюю краниотомию под анестезией 0,5% новокаином. Череп фиксировали к кронштейнам стереотаксического аппарата, туловище подвешивали в эластическом гамачке. Для ВКМС

использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 1,5 М цитратом натрия с сопротивлением 1,0 МОм.

Применяли короткие серии прямоугольных импульсов длительностью 0,4 мс и частотой 300-400 имп/с, по 7 импульсов в пачке, интенсивностью тока не более 80 мкА. Шаг погружения микроэлектрода составлял 0,5 мм. Для каждого животного создавалась серия индивидуальных карт расположения двигательных представительств, измерялись их площади. Различия между ними оценивали при помощи критерия знаков. Построили суммационные карты для каждого типа ДО по результатам 8 острых опытов. За начало координат принимали точку пересечения сагитального шва и брегмы. Достоверность различий пороговых токов для разных типов ДО оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона.

При неонатальном подкожном введении мышатам пищевой добавки E171, содержащей диоксид титана, гибели животных не наблюдалось, физическое развитие также не нарушалось. Масса взрослых животных составляла 20-25 г.

Обнаружено расширение двигательных представительств (ДП) мышц конечностей, смещение ДП мышц вибрисс и верхней губы в каудальном направлении и инверсия межполушарной асимметрии ДП мышц нижней челюсти. Эти изменения могут быть связаны с гипоксическими изменениями ткани мозга, вызванными диоксидом титана, который также вызывает оксидативный стресс [2], истончение коры головного мозга, дисплазию отростков нервных клеток [1] и дисфункцию синапсов [3]. Однако, несмотря на это, возбудимость моторного неокортекса для двигательных ответов (ДО) мышц передней конечности оставалась практически нормальной, снижалась для ДО мышц задней конечности и была значительно снижена для ДО всех лицевых мышц.

Скорее всего, двухкратное введение диоксида титана мышатам в возрасте 1 и 5 дней после рождения сохраняет эффект воздействия на протяжении первых 10 дней раннего постнатального онтогенеза. Возбуждающее действие диоксида титана в течение 10 дней позволяет ДП мышц передних, задних конечностей и нижней челюсти расшириться и сформироваться с большим количеством элементов.

ДП мышц лицевых вибрисс и верхней губы формируются позже, после 10 дня раннего постнатального онтогенеза [2], когда активация дофаминэргической медиаторной системы диоксидом титана снижается. Это объясняет их меньшую площадь и повышенные пороговые токи для этих ДО.

Несмотря на отсутствие смертей у экспериментальных животных при использовании пищевой добавки E171, содержащей диоксид титана, её воздействие привело к значительным изменениям в возбудимости моторного неокортекса, площади и положении двигательных представительств лицевых мышц вибрисс и верхней губы. Отмечена инвертированная асимметрия расположения двигательного представительства мышц нижней челюсти. Эти изменения свидетельствуют о потенциальной опасности пищевой добавки для развивающегося мозга млекопитающих из-за устойчивых функциональных перестроек и изменений в возбудимости коры головного мозга. Так как E171 широко используется для окрашивания различных продуктов питания, необходимо ограничить её применение непищевыми целями.

1. Hong F., Zhou Y., Ji J., et al. // Journal of agricultural and food chemistry. 2018. V.66 (44). P.11767–11774.
2. Pronichev I. V., Khudiakova N.A. // Journal of agricultural and food chemistry. 1996. V. 66 (44), P. 11767–11774.
3. Song B., Liu J., Feng X., Wei, L., Shao L.// Nanoscale research letters. 2015. V.10 (1). P.1042.
4. Wang J., Chen C., Liu Y., et al. // Toxicology letters. 2008. V.183 (1-3) P.72–80.

## ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА СЕРОТОНИНА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ НА РЕГУЛЯЦИЮ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС

Нигматуллина Р.Р.<sup>1</sup>, Недорезова Р.С.<sup>2</sup>, Абзалетдинова Г.Ф.<sup>1</sup>, Безбрызгов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Казанский ГМУ» Минздрава России, Казань

<sup>2</sup>МБОУ «Старшая школа «Высотка» Ямало-Ненецкий автономный округ, Губкинский

Нейрогормон серотонин (5-НТ) синтезируется в ЦНС и на периферии с помощью ферментов триптофангидроксилазы (Thp) и декарбоксилазы ароматических L-аминокислот. Thp это скорость-лимитирующий специфический фермент синтеза 5-НТ. Thp кодируется двумя изоформами - trh1, trh2, которые экспрессируются в APUD-системе кишечника и в ЦНС соответственно [2]. Неселективным блокатором обоих видов Thp является PCPA (пара-хлор-фенил-аланин). Влияние 5-НТ на клетки и органы-мишени качественно меняется в онтогенезе. У взрослых крыс 5-НТ изменяет функции органов, являясь медиатором в мозге и гормоном на периферии [5], однако в эмбриональном периоде проявляется его необратимое морфогенетическое влияние [3]. 5-НТ влияет как на формирование сердечно-сосудистой системы в эмбриональном периоде [4], так и на функции сердца в постнатальном онтогенезе [1]. Влияние 5-НТ на сократимость миокарда реализуется через метаботропные 5-НТ<sub>2</sub> и 5-НТ<sub>4</sub> рецепторы. Их активация вызывает положительный инотропный, хронотропный, люзитропный эффекты, а также тахикардию и фибрилляцию предсердий посредством движения ионов Ca<sup>2+</sup> через кальциевые каналы. В сердце распространены Ca<sup>2+</sup> каналы L-типа, которые блокируются метоксиверапамилом. На мембране саркоплазматического ретикулума находятся внутриклеточные Ca<sup>2+</sup> каналы. К ним относятся рианодиновые рецепторы и рецепторы инозитол-1,4,5-трифосфата. Блокатором рианодиновых рецепторов является дантролен.

Несмотря на то, что 5-НТ относится к важнейшим сигнальным молекулам, участвующим в регуляции развития сердечно-сосудистой системы, мозга и ряда других органов-мишеней, до сих пор практически отсутствуют данные о влиянии снижения его концентрации в эмбриональном периоде развития на регуляцию инотропной функции сердца в раннем постнатальном онтогенезе.

**Целью** исследования стало изучение влияния блокады фермента синтеза серотонина Thp в эмбриональном периоде на регуляцию сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе крыс.

Установлено, что хроническая блокада фермента синтеза серотонина Thp PCPA в эмбриональном периоде снижает силу сокращения и реакцию миокарда левого желудочка на норадреналин и 5-НТ в раннем постнатальном онтогенезе крысят. В раннем постнатальном онтогенезе блокатор рианодиновых рецепторов дантролен влияет на силу сокращения миокарда левого желудочка крысят с дефицитом 5-НТ в эмбриональном периоде онтогенеза. Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка на блокаду L-типа Ca<sup>2+</sup> каналов существенно снижена у крысят с дефицитом 5-НТ в эмбриональном периоде. Впервые установлено существенное увеличение частоты сердечных сокращений у 14-дневных крысят с блокадой синтеза 5-НТ в эмбриональном периоде. Установлено увеличение силы сокращения миокарда левого желудочка и ударного объема крови под воздействием норадреналина, реакции на норадреналин существенно снижены у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза 5-НТ в эмбриональном периоде по сравнению с одновозрастным контролем.

Полученные результаты расширяют представления о роли 5-НТ в регуляции насосной функции сердца и сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе крыс. Результаты экспериментов на 7-, 10- и 14-дневных животных свидетельствуют о наличии особенностей в механизмах регуляции сократимости миокарда, реализуемых через различные типы Ca<sup>2+</sup> каналов, которые вовлечены в реализацию эффектов норадреналина и 5-НТ у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде развития.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00417, <https://rscf.ru/project/23-15-00417/>

1. Нигматуллина Р.Р., Матвеева В.Л., Чибирева М.Д. // Российский физиологический журнал имени Сеченова. 2014.Т.100. №. 3. С.348-359.
2. Côté F., Fligny C., Bayard E. et al. // Proc Natl Acad Sci. USA. 2007.V.104. P.329-334.
3. Lauder J.M., Tamir H., Sadler T.W. // Development. 1998. V.102. P.709-720.
4. Nebigil C.G., Choi D.S., Dierich A. et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). 2000. V.97. I.17. P. 9508-9513.
5. Ugriumov M.V. // Neurochem Res. 2010. V.35. P.837-850.

## ОСОБЕННОСТИ ЦАМФ-ОПОСРЕДОВАННОГО МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ В ЗЕЛЕНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КОЛБОЧКАХ СЕТЧАТКИ ДАНИО РЕРИО

Николаева Д.А., Астахова Л.А.

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

Адаптация зрительной системы к световым условиям внешней среды начинается в фоторецепторах – палочках и колбочках. Настройка реакций фоторецепторов на свет определяется преимущественно кальциевыми обратными связями, которые регулируют чувствительность и скорость работы каскада фототрансдукции [5]. Однако существуют и другие, пока неизученные регуляторные механизмы [1, 2]. Полагают, что один из таких механизмов в фоторецепторах опосредуется циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ). Но роль цАМФ-зависимой регуляции каскада фототрансдукции изучена недостаточно, особенно в колбочках. Удобным объектом для такого рода исследований являются рыбы данио рерио (*Danio rerio*), сетчатки которых, богатые колбочками, функционально схожи с центральной ямкой сетчатки человека. Кроме того, профиль экспрессии родопсинкиназ (GRK), предполагаемых мишеней воздействия цАМФ, в колбочках данио рерио схож с профилем экспрессии GRK в фоторецепторах человека, что выгодно отличает этих рыб от популярных модельных животных – мышей и крыс.

Мы изучали, каким образом увеличение внутриклеточного уровня цАМФ, вызванное действием форсколина (активатора аденилатциклазы), влияет на параметры ответов зеленочувствительных колбочек взрослых рыб данио рерио. Ответы колбочек регистрировали с помощью метода всасывающей пипетки. Спектральный тип колбочек определяли путем сравнения чувствительности колбочек к вспышкам разного цвета: синего ( $\lambda_{\text{макс}} = 460$  нм), зеленого ( $\lambda_{\text{макс}} = 525$  нм) и красного ( $\lambda_{\text{макс}} = 630$  нм).

Мы показали, что в зеленочувствительных колбочках данио рерио повышение внутриклеточного уровня цАМФ, вызванного действием форсколина, изменяет чувствительность, уровень темнового тока, кинетику процессов активации и инактивации каскада фототрансдукции. В целом, наши результаты согласуются с ранее полученными данными на карасях (*Carassius carassius*) [4]. Кроме того, наше исследование перекликается с работой [3], в которой была сделана попытка варьировать уровень цАМФ в целом глазу личинок данио рерио. Однако наблюдаемые нами эффекты форсколина на каскад фототрансдукции в зеленочувствительных колбочках проявляются несколько иначе.

Выявленная взаимосвязь между внутриклеточным уровнем цАМФ и изменениями параметров работы каскада фототрансдукции в колбочках позволяет предполагать, что в естественных условиях суточные колебания концентрации цАМФ в фоторецепторах могут иметь адаптивное значение и обеспечивать дополнительную настройку зрительной системы к яркости световых стимулов. Планируемые нами дальнейшие исследования на колбочках других спектральных типов (красночувствительных и синечувствительных) позволят

детально охарактеризовать эффекты цАМФ в каждом конкретном типе колбочек и дополнить имеющиеся представления о роли цАМФ в регуляции каскада фототрансдукции.

*Финансовая поддержка: грант РФФ № 24-25-00260.*

1. Astakhova L.A., Firsov M.L., Govardovskii V.I. // J. Gen. Physiol. 2008. V.132. P. 587-604.
2. Calvert P.D., Govardovskii V.I., Arshavsky V.Y., Makino C.L. // J. Gen. Physiol. 2002. V.119. P.129-145.
3. Chrispell J.D., Xiong Y, Weiss E.R. // J. Biol. Chem. 2022. V. 298. P.103636.
4. Ситникова В.С., Астахова Л.А., Фирсов М.Л. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. Т. 106. С. 448-461.
5. Фирсов М.Л., Говардовский В.И. // Сенсорные системы. 2001. Т. 15. С.101-113.

## **ИЗМЕНЕНИЯ В ПРЕДЕЛАХ РАЗЛИЧНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭЭГ ПРИ МЫСЛЕННОМ ПРОГОВАРИВАНИИ ОДНОЗНАЧНЫХ СЛОВ**

Никонова М.И.

*Удмуртский государственный университет, г. Ижевск*

Речь, как одна из важнейших когнитивных функций человека, необходима ему для поддержания полноценной коммуникации как в повседневной жизни, так и в профессиональных сферах. Нарушения речевых функций существенно снижают качество жизни людей. На сегодняшний день для решения данной проблемы активно разрабатываются алгоритмы для интерфейсов мозг-компьютер. В основу алгоритмов закладываются данные активности мозга, в том числе полученные с помощью метода ЭЭГ. Были достигнуты существенные успехи в разработке таких алгоритмов на основе ЭЭГ паттернов, соответствующих отдельным буквам и слогам. Проблемной областью остается создание таких алгоритмов на основе ЭЭГ паттернов, соответствующих отдельным словам. Сложность обусловлена многозначностью слов, индивидуальным опытом каждого человека, заключенного в них. В рамках нейрофизиологии — это, вероятно, подразумевает различия в вовлечении нейросетей и как следствие трудности в поиске универсальных ЭЭГ паттернов. Таким образом, **целью** данной работы явился поиск ЭЭГ параметров, которые могут являться универсальными маркерами, не зависящими от индивидуальных особенностей испытуемых, обнаруживающихся при мысленном произнесении ими слов разных категорий.

В настоящий момент в исследовании приняло участие 25 испытуемых, в задачи которых входило проговаривание однозначных слов, распределенных на четыре группы (“Транспорт”, “Абстрактные понятия”, “Эмоции”, “Тело”), вслух и мысленно. Во время выполнения задачи испытуемыми, шла регистрация их ЭЭГ от 21 отведения по международной системе 10x20, последующая обработка и анализ которой позволил выявить следующее.

Значимые изменения были обнаружены для показателей относительных значений мощностей (ОЗМ) и абсолютных значений амплитуды (АЗА) пределах альфа<sub>2</sub> ритма (9,5-11,0 Гц) при сравнении записей “Фон” (состояние покоя) и “Произношение вслух”, “Мысленное произношение”. Данные изменения были зарегистрированы с фронтальных электродов билатерально. Данные, полученные при регистрации ЭЭГ активности со всех электродов, были использованы для проведения анализа кросс-корреляционных связей. Здесь были выявлены различия в их распределении в пределах альфа<sub>2</sub> и бета<sub>2</sub> ритмов. В первом случае, преимущественно были задействованы межполушарные корреляционные связи (чаще в лобных областях), а во втором случае - внутрислошарные связи. Кроме этого, была обнаружена тенденция к формированию определенной структуры корреляционных связей, соотносящейся с каждой группой слов. Данные наблюдения дополняют гипотезу о том, что процессы речи связаны с формированием неких специфических паттернов активности с определенной пространственной характеристикой.

1. Гавриленко Ю.Ю., Саада Д.Ф., Шевченко А.О., Ильющин Е.А. // Современные информационные технологии и ИТ-образование, 2019, 15 (1), 164-171.
2. Кирой В., Бахтин О., Миняева Н., и др. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова, 2015, 65, 616-625.
3. Kirov V.N., Bakhtin O.M., Krivko E.M. et al. // Biomedical Signal Processing and Control, 2022, 71 (B)

## ИЗУЧЕНИЕ $Ca^{2+}$ -НЕЗАВИСИМОЙ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ НЕЙРОНОВ ПОЛЯ CA1 ГИППОКАМПА МЫШИ

Новикова М.А.<sup>1</sup>, Федоров Д.А.<sup>1</sup>, Николаев Г.М.<sup>1</sup>, Климанова Е.А.<sup>1</sup>, Лопина О.Д.<sup>1</sup>, Латанов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

В основном феномен пластичности нейронов связывают с изменением эффективности синаптической передачи. Однако существует явление несинаптической пластичности, заключающееся в изменении возбудимости нейронов, благодаря изменению свойств тела или отростков нейронов, а не их синапсов. Одним из механизмов такой пластичности является регуляция активности потенциал-зависимых каналов. Эти изменения гипотетически могут быть опосредованы механизмами, которые не зависят от входа ионов  $Ca^{2+}$  в нейрон. **Целью** данной работы было изучение  $Ca^{2+}$ -независимых механизмов кратковременной пластичности нейронов.

Работа выполнена на переживающих срезах гиппокампа половозрелых самцов мышей линии C57BL6 x CBA. Переживающие срезы были изготовлены вручную с помощью виброножа. Мы разработали методику регистрации популяционной активности нейронов в среде, не содержащей ионы  $Ca^{2+}$ . Среда была приготовлена на основе состава искусственной спинномозговой жидкости без добавления  $Ca^{2+}$  и с внесением 100  $\mu$ M EGTA. Для вызова электрической активности биполярный стимулирующий электрод помещали в *stratum radiatum* CA1, а регистрирующий электрод был помещен в *stratum pyramidale* CA1 в непосредственной близости от стимулирующего электрода. Близкое расположение электродов было обусловлено тем, что в отсутствие ионов  $Ca^{2+}$  затруднена синаптическая передача, поэтому распространение токов в такой среде обусловлено электротоническими свойствами клеток.

При использовании данной методики мы зарегистрировали вызванный популяционный потенциал. При аппликации 600  $\mu$ M лидокаина амплитуда данного потенциала снижалась до  $14 \pm 3,7$  % (среднее  $\pm$  ошибка среднего) от фонового значения. После 40 минут отмывания от лидокаина амплитуда ответа восстанавливалась до  $47,7 \pm 2,5$  % (среднее  $\pm$  ошибка среднего) от фонового значения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что зарегистрированный популяционный потенциал зависит от активации потенциал-зависимых натриевых каналов.

Для регистрации кратковременной пластичности нейронов мы использовали протокол TBS (theta-burst stimulation) – 10 пачек импульсов по 4 импульса в пачке частотой 100 Гц и интервалом между пачками 200 мс. Для оценки кратковременной пластичности мы оценивали отношение амплитуды четвертого потенциала в пачке импульсов к первому и сравнивали это отношение между первой и последней пачками импульсов. Во время использования протокола TBS наблюдалась кратковременная депрессия популяционного потенциала, которая выражалась в постепенном уменьшении отношения амплитуды четвертого популяционного потенциала к первому с каждой следующей пачкой импульсов, при этом амплитуда первого популяционного потенциала в пачке не изменялась.

Мы предполагаем, что зарегистрированная нами кратковременная депрессия может быть объяснена запуском  $Na^{+}$ -зависимых сигнальных каскадов, которые обусловлены возрастанием

локальной внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$  во время высокочастотной активности нейронов и/или запуском сигнальных каскадов, зависящих от потенциала мембраны, которые в конечном счете могут влиять на активность, проводимость и кинетику инактивации потенциал-зависимых натриевых каналов.

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ НА НЕКОТОРЫЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС ЛИНИЙ WKY И SHR

Овчинникова В.О.<sup>1,2</sup>, Мамедова Д.И.<sup>2</sup>, Недогреева О.А.<sup>2</sup>, Кострюков П.А.<sup>2</sup>,  
Степаничев М.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

Социальная изоляция и одиночество являются стрессорирующими факторами, способными негативно влиять на физическое и психическое здоровье человека. Люди, подверженные социальной изоляции, часто страдают от тревожности, депрессии, а также имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений сна и общего ухудшения качества жизни, причем отдельную группу риска составляют пожилые люди [1,4]. Социальная изоляция является одним из факторов риска развития деменции, а различные сердечно-сосудистые заболевания, в т.ч. артериальная гипертензия, являются при этом отягощающим фактором [3]. Стареющие грызуны являются удобной моделью для изучения механизмов патогенеза когнитивных и поведенческих нарушений, развивающихся в результате экспозиции длительной социальной изоляции. Спонтанно гипертензивные крысы линии SHR позволяют исследовать возможный вклад гипертензии в возрастные изменения функций мозга и механизмы, лежащие в их основе [2]. В качестве контроля использованы крысы линии Wistar Kyoto как наиболее подходящие для сравнения с линией SHR ввиду их генетического сходства [5].

**Целью** настоящей работы явилось изучение влияния длительной социальной изоляции на тревожность, депрессивно-подобное и социальное поведение стареющих крыс линий WKY и SHR, а также на некоторые биохимические показатели стресс-реактивности в крови, слюне, тимусе и надпочечниках.

Эксперименты проведены на самцах крыс линий WKY и SHR возрастом 9-10 мес. До начала изоляции у крыс измеряли массу тела и артериальное давление. На основании этих параметров проводили распределение особей по группам. Были сформированы четыре группы животных: WKYsoc (n = 14), WKYiso (n = 14), SHRsoc (n = 12), SHRiso (n = 10). Содержание животных в условиях изоляции продолжалось в течение 3-х месяцев. После этого периода исследовали поведение животных в тестах «предпочтение сахарозы», «открытое поле» (ОП), «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «социальное взаимодействие» (СВП) согласно общепринятым протоколам. Для оценки содержания кортикостерона отбирали кровь из хвостовой вены, для измерения активности альфа-амилазы - образцы слюны. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии и производили забор надпочечников и тимусов для оценки биохимических показателей. Измерение уровня кортикостерона в крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА). Измерение активности альфа-амилазы в слюне проводили кинетическим методом. Определение содержания белка проводили по методу Брэдфорда. Анализ экспрессии генов метаболизма глюкокортикоидов проводили с помощью полимеразно-цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). В тимусах определяли содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП).

По результатам поведенческих тестов выявлены отличия, связанные с генотипом крыс, но не с условиями содержания.

По содержанию в крови кортикостерона значимых различий между крысами разных генотипов не выявлено. По результатам ПЦР-РВ выявлено снижение содержания мРНК гена глюкокортикоидного рецептора у крыс линии SHR по сравнению с WKY, которое не подвергалось влиянию изоляции. Отличий в экспрессии других генов не обнаружено. Содержание ТБК-РП в тимусах у крыс линии SHR было больше по сравнению с WKY. Активность альфа-амилазы слюны между группами не отличалась.

Таким образом, длительная социальная изоляция у крыс не приводила к существенным изменениям эмоциональности и депрессивности, а также адренокортикальных и симпатических функций.

1. Freedman A., Nicolle J. // Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien. 2020. 66 (3), 176–182.
2. Leoni R.F., Paiva F.F., Henning E.C., et al. // NeuroImage 2011 58 (1), 75–81.
3. Shafiqhi K, Villeneuve S, Rosa Neto P, et al. // PLoS One. 2023 Feb 1; 18(2): e0280471.
4. Wu B. // Glob Health Res Policy. 2020 Jun 5; 5: 27.
5. Журавлев Д.А. // АГ. 2009. №6.

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ мРНК TLR4ВА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ DANIO RERIO ПРИ ПОДРОСТКОВОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Орлов Л.И.<sup>1,2</sup>, Ереско С.О.<sup>1</sup>, Айрапетов М.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

<sup>2</sup>ФБГОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ

Подростковый период характеризуется незавершенностью формирования филогенетически молодых структур головного мозга, поэтому подростковый алкоголизм (ПА) оказывает влияние на особенности психофизиологических процессов. Употребление алкоголя в подростковом возрасте вносит характерные изменения в молекулярные механизмы функционирования нервной системы. В этом исследовании мы сосредоточили внимание на изучении поведения и анализе экспрессии гена *tlr4ba* в мозге *Danio rerio* при моделировании ПА.

**Цель.** Исследовать особенности поведения и экспрессии гена *tlr4ba* в головном мозге рыб *Danio rerio* при моделировании ПА.

Моделирование ПА осуществлялось путем помещения рыб *Danio rerio* (n=40) в 1%-ый р-р этанола с 21 по 27 d.p.f., что соответствует подростковому периоду онтогенеза рыб. Концентрация этанола в воде отслеживалась ежедневно. Контрольная группа рыб (n=20) содержалась в воде. По окончании эксперимента (70 d.p.f.) образцы мозга рыб извлекались на холоде и мгновенно замораживались. Для получения кДНК выделение РНК из мозга рыб и ОТ выполнены с помощью коммерческих наборов по инструкции производителя. Реал-тайм ПЦР использовался для оценки уровня экспрессии гена *tlr4ba*, данные нормировались по гену *Gapdh*. Полученные данные были статистически обработаны.

Экспрессия гена *tlr4ba* была оценена в мозге рыб *Danio rerio* в позднем подростковом возрасте  $\approx 2$  мес. (70 d.p.f.). Уровень экспрессии гена *tlr4ba* был ниже в 4,75 раз ( $p \leq 0.05$ ) в позднем подростковом возрасте в сравнении с группой контроля после моделирования ПА. Полученные нами данные о сниженной экспрессии гена *tlr4ba* могут указывать на наличие стойких изменений в системе молекулярных механизмов врожденного иммунитета в мозге *Danio rerio* вследствие подростковой алкоголизации.

По результатам исследования выявлены стойкие нейрофизиологические изменения, вызванные ПА. Выявленные изменения в экспрессии гена *tlr4ba* подтверждают наличие изменений в головном мозге на молекулярно-генетическом уровне, что по литературным данным, может опосредовать и поведенческие дисфункции путем взаимодействия с

нейромедиаторными и нейропептидными системами. Представляется интересным в будущем проведения дополнительных молекулярно-генетических исследований, а также фармакологических исследований с помощью потенциальных средств, направленных на коррекцию наблюдаемых изменений.

1. М.И. Айрапетов, С.О. Ереско, А.Н. Галустян, А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20, № 2. С. 219-224.
2. М.И. Айрапетов, С.О. Ереско, А.Д. Пестряков, С.А. Мусатова, О.Н. Матвеева, А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов // *Наркология*. 2023. Т. 22, № 12. С. 8-14.
3. Gerlai R. // *Pharmacol Biochem Behav*. 2000. Vol. 67. P. 773–782
4. Parichy D.M. // *Dev. Dyn*. 2009. Vol. 238, №12. P. 2975–3015.
5. Stewart A.M. // *Trends Neurosci*. 2014. Vol. 37, №5. P. 264-278.

### **ВЫЗВАННАЯ СИНХРОНИЗАЦИЯ АЛЬФА 1 РИТМА ЭЭГ У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ И БОЛЬНЫХ С КЛИНИЧЕСКИ ВЫСОКИМ РИСКОМ ШИЗОФРЕНИИ В ПАРАДИГМЕ «САККАДЫ ПО ПАМЯТИ»**

Павлов А.В.<sup>1</sup>, Славущкая М.В.<sup>1,2</sup>, Лебедева И.С.<sup>2</sup>, Омельченко М.А.<sup>2</sup>, Котенев А.В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Центр психического здоровья», Москва*

**Цель** работы – анализ динамики синхронизации ЭЭГ колебаний альфа 1 диапазона (8-10 Гц) в интервале межстимульной паузы в парадигме «саккады по памяти» как возможных маркеров предиктивных процессов внимания и подготовки к ответу в норме и у больных с клинически высоким риском (КВР) шизофрении.

В исследовании участвовали 20 здоровых праворуких испытуемых ( $20 \pm 2$  лет) и 20 больных с КВР шизофрении ( $19 \pm 2$  лет). Регистрировали ЭЭГ с 25 отведений головы и ЭОГ горизонтальных движений глаз. Периферический зрительный стимул (ПС, 150мс), расположение которого надо было запомнить, предъявляли через 1000 мс после включения центрального фиксационного стимула (ЦФС, 3900-4000мс). Выключение ЦФС служило сигналом для испытуемого как можно быстрее совершить саккаду к запомненному стимулу. Оценивали уровень мощности вызванной синхронизации (ВС) альфа 1 ритма ЭЭГ [1] в 3-х последовательных интервалах delay-периода по 900 мс), которые ассоциируют с процессами анализа информации и ее записью в рабочую память (1), хранения информации и формирования установки (2) и предиктивными процессами реализации установки (3), [2].

Анализ поведенческих данных показал, что в группе больных с КВР наблюдалось снижение эффективности выполнения задания, что проявлялось в увеличении латентного периода ответов и числа ошибок по сравнению с группой нормы ( $p < 0.001$ ), что может отражать нарушение на ранних стадиях шизофрении исполнительных (регуляторных) функций [3].

В нашем исследовании были выявлены межгрупповые различия в величине пиков ВС альфа 1 ритма в зависимости от направления саккады и интервала периода задержки.

Так, в первом интервале было показано, что увеличение ВС альфа 1 ритма ЭЭГ у больных с КВР по сравнению со здоровыми наблюдалось только при саккадах вправо ( $F[2,19]=4.039$ ;  $p=0.001$ ). Саккады по памяти вправо контролируются левым полушарием, в которое проецируются зрительные стимулы из правого полушария. В литературе достаточно часто обсуждается левополушарный дефицит для ряда структурно-функциональных показателей головного мозга при шизофрении [4], а также в группе КВР шизофрении [5]. В связи с этими фактами увеличение ВС альфа ритмов у больных с КВР в первом интервале задержки при саккаде по памяти вправо можно ассоциировать с дисфункцией нейронных сетей левого полушария, которая приводит к ухудшению сенсорного восприятия, кодирования и «записи»

информации в рабочую память. Однако, конкретные механизмы взаимосвязи найденных нами особенностей с нарушениями сенсорного восприятия могут стать предметом дальнейших исследований.

Установлено увеличение уровня альфа 1 синхронизации у больных в втором интервале задержки почти в 2 раза превышало уровень ВС по сравнению с первым и третьим интервалами (при саккадах влево  $F[2,19]=1.2$ ,  $p=0.0001$  и  $F[2,19]=3.6$ ,  $p=0.005$ ; при саккадах вправо  $F[2,19]=3.5$ ,  $p=0.006$  и  $F[2,19]=6.364$ ,  $p<0.0003$ , соответственно). Этот факт может свидетельствовать о существенном дефиците функций поддерживающего внимания и хранения информации в рабочей памяти на этом этапе задержки.

Увеличение мощности вызванной синхронизации (ВС) альфа 1 ритма в третьем интервале периода задержки у пациентов с клинически высоким риском шизофрении ( $F[2,19]=3.0$ ,  $p=0.007$  при саккадах влево и  $F[2,19]=15.0$ ,  $p=0.0001$  при саккадах вправо) указывает на усиление активности, связанной с пространственным вниманием и подготовкой к двигательной реакции.

Основываясь на поведенческих и ЭЭГ данных можно предположить, что увеличение вызванной синхронизации альфа1 ритма у больных с КВР по сравнению со здоровыми испытуемыми в периоде задержки может отражать повышение активности нейронных сетей когнитивного контроля, компенсирующих снижение эффективности деятельности на ранней стадии развития заболевания. Этот феномен при дальнейшем подтверждении может представляться как нейрофизиологический маркер КВР шизофрении.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (темы № 121032500081-5 и № АААА-А19-11904049098-9).*

1. Pfurtscheller G., Lopes da Silva F.H. // Clin Neurophysiol. 1999. 110: 1842-1857
2. Brignani D., Maioli C., Maria Rossini P. // Brain Research. 2017. 1136(1):122-31.
3. Caldani S., Bucci M.P., Lamy J.C. et al. // Schizophr Res. 2017. V. 181. P. 30 - 37.
4. Chahine G, Richter A, Wolte S. et al. // Human Brain Mapping. 2017. 38:1741–1750
5. Tomyshev A.S., Lebedeva I.S., Akhadov T.A., et al // Psychiatry Res Neuroimaging. 2019. 289:26-36.

## **ВЛИЯНИЕ ПРОЛАКТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПРОЛАКТИНОВОЙ ОСИ И ИОННЫХ ТРАНСПОРТЕРОВ В ОСМОРЕГУЛЯТОРНЫХ ОРГАНАХ САМОК И САМЦОВ ТРЁХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* В УСЛОВИЯХ МОРСКОЙ ВОДЫ**

**Павлова Н.С.<sup>1</sup>, Неретина Т.В.<sup>2</sup>, Смирнова О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, Москва*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова*

Трёхиглая колюшка (*Gasterosteus aculeatus* L.) – эвригалинная рыба, обладающая высокой пластичностью осморегуляторной функции, а также сложным репродуктивным и родительским поведением. В обеих этих функциях у рыб принимает участие пептидный гормон пролактин. Однако, как правило, эти функции у разных видов рыб исследуются независимо друг от друга. Пролактин регулирует водно-солевой баланс у эвригалинных рыб, воздействуя через свои рецепторы на осморегуляторные органы, в частности, жабры и кишечник, способствуя поглощению ионов при адаптации к пресной воде. Нами было выдвинуто предположение о зависимой от пола регуляции пролактином экспрессии генов  $Na^+/K^+$ -АТФазы в ткани жабр колюшек в период нереста.

Отлов особей *Gasterosteus aculeatus* (самок,  $\alpha$ - и  $\omega$ -самцов) был произведён в прибрежной зоне Ругозёрской губы Белого моря у Беломорской биологической станции имени Н.А. Перцова в период нереста (15-17 июня 2019 года). Особи были разделены по полу, а самцы также по иерархии. До начала эксперимента все особи были адаптированы в течение 24 часов к экспериментальным условиям (N=6). Все особи содержались в условиях морской воды; контрольная группа оставалась интактной, а особям опытной группы в течение трёх суток вводили по 210 МЕ овечьего пролактина внутривнутрибрюшинно. По окончании эксперимента особи трёхиглой колюшки были декапитированы, у них были отобраны образцы жабр и кишечника. Экспрессию генов  $\alpha$ -субъединицы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*, эпителиального кальциевого канала *esac*, натрий-хлорного транспортера *ncc*, натрий-калий-хлорного транспортера *nkcc1a* и *nkcc2*, натрий-протонного обменника *nhe2* и *nhe3* оценивали с использованием метода ОТ-ПЦР в реальном времени. В качестве референсных генов были использованы гены *Rbp13a* и *ubc*. Для проведения статистической обработки использовали программу GraphPad Prism6. Для анализа использован критерий two-way ANOVA. В результате данной работы показано, что ни в кишечнике, ни в жабрах самок экспрессия исследуемых ионных транспортеров не различалась достоверно между опытной и контрольными группами. У  $\omega$ -самцов наблюдалось снижение экспрессии гена *esac* в жабрах ( $p=0.0261$ ) в результате введения пролактина. У  $\alpha$ -самцов овечьих пролактин стимулировал экспрессию генов *atp1a1* и *nkcc2* в кишечнике ( $p=0.0006$ ,  $p=0.0171$ ), а также гена *atp1a3* в жабрах ( $p=0.017$ ). Таким образом показано, что у самцов (но не у самок) пролактин даже вне условий гипоосмолярности условий среды регулирует экспрессию ряда ионных транспортеров в кишечнике и жабрах в зависимости от положения самца в иерархии.

## АКТИВНОСТЬ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА У ПАЦИЕНТОВ С PARK2-ФОРМОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Павловский Ф.Н.<sup>1,2</sup>, Седов А.С.<sup>2</sup>, Томский А.А.<sup>3</sup>, Сломинский П.А.<sup>4</sup>, Напалков Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н.Семёнова, Москва

<sup>3</sup>Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени Н.Н.Бурденко, Москва

<sup>4</sup>Институт молекулярной генетики РАН, Москва

Одной из важнейших задач в изучении болезни Паркинсона (БП) остаётся поиск электрофизиологических маркёров, характеризующих работу различных мозговых структур, в первую очередь базальных ганглиев (БГ), при разных формах заболевания для оптимизации протоколов терапии. Отдельный интерес представляют формы БП с ранним началом, дебют которых происходит до 40 лет и в некоторых случаях характеризуется сравнительно быстрым прогрессированием симптомов.

Мутация в гене *PARK2* связана с развитием одной из самых распространённых форм ранней БП [1]. Белок паркин, кодируемый данным геном, является цитозольной убиквитин-Е3-лигазой, регулирующей митофагию и играющей важную роль в выживании нейронов. Тем не менее, на данный момент очень мало известно о том, как структуры БГ функционируют при форме болезни Паркинсона, связанной с мутацией в гене *PARK2*.

В данной работе мы анализировали одиночную активность нейронов и локальный потенциал поля (LFP) субталамического ядра (СТЯ), зарегистрированные при помощи микроэлектрода во время операций по вживлению электродов для глубокой стимуляции мозговых структур (DBS). В исследование были включены 9 пациентов с ранним началом БП, разделённых на две группы. В первую были отобраны пациенты (2 мужчины, 3 женщины) с подтверждённой гомозиготной делецией гена *PARK2(ex.8)*, во вторую - пациенты (3 мужчины, 1 женщина), у которых методом мультиплексной лигазной цепной реакции (MLPA) не было

выявлено ни одной стандартной ассоциированной с БП мутации, т.е. пациенты со спорадическим заболеванием. Медианный возраст дебюта болезни Паркинсона в группах составил 34 и 34.5 года, соответственно.

Для анализа все зарегистрированные нейроны (n=139) были поделены на три группы в соответствии с типом их активности - на тонические, пачечные и паузные - с помощью метода иерархической кластеризации на основе алгоритма Уорда [2]. Мы не обнаружили повышения частоты импульсации нейронов СТЯ у пациентов с мутацией, которое предсказывал Штерн с соавторами [3], однако, поскольку их исследование было проведено на нейронах чёрной субстанции и лишь теоретически касалось СТЯ, нельзя сказать, что наш результат прямо противоречит их выводам. Было также обнаружено, что у пациентов обеих групп пропорции нейронов трёх типов активности одинаковы. При этом пачечные и паузные нейроны, локализованные в основном в моторной зоне СТЯ, у пациентов с мутацией обладают более нерегулярным типом активности и менее выраженными осцилляциями в альфа (8-12 Гц) и низком бета (13-20 Гц) диапазонах. Нейронные осцилляции в данных диапазонах связаны с клиническими проявлениями болезни Паркинсона [4], в частности, с гипокинетическими симптомами.

Для анализа записей локальных потенциалов (n=62) мы строили спектры в диапазоне 0-50 Гц, вычитали аperiодическую компоненту (1/f) спектра, после чего сравнивали мощность в каждом бине шириной 1 Гц. Мы обнаружили, что в СТЯ пациентов с мутацией *PARK2* значительно менее выражены осцилляции на границе альфа и бета диапазонов, а именно в интервале 8-15 Гц. Помимо связи с моторными симптомами болезни Паркинсона, осцилляции на данных частотах, согласно недавним исследованиям, могут отражать (и, возможно, предсказывать) продолжительность заболевания [5], что является особенно актуальным в контексте изучения форм ранней БП.

Наши результаты позволяют предположить, что *PARK2*-форма физиологически отличается от спорадических случаев ранней болезни Паркинсона. Эти различия проявляются в виде более нерегулярной, но при этом и менее синхронизированной активности нейронов СТЯ, что требует дальнейшего изучения.

*Работа поддержана грантом РФФ №22-15-00344.*

1. Konovalova E.V., Lopacheva O.M., Grivennikov I.A. et al. // Acta Naturae. 2015. V.7. P.146-149
2. Myrov V, Sedov A, Belova E. // J Neurosci Methods. 2019. V. 311 P. 164-169.
3. Stern S, Lau S, Manole A et al. // NPJ Parkinsons Dis. 2022 V.10 P.103.
4. Neumann W., Gilron R., Little S., Tinkhauser G. // Mov. Disord. 2023 V.38 P.937–948.
5. Belova E, Semenova U, Gamaleyeva A et al. // Mov Disord. 2023 V.38 P.1027-1035.

### **ЛИПИДНЫЕ РАФТЫ В РЕГУЛЯЦИИ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ**

Петров А.М.<sup>1,2</sup>, Ценцевицкий А.Н.<sup>1</sup>, Гафурова Ч.Р.<sup>2</sup>, Гиниатуллин А.Р.<sup>2</sup>, Одношивкина Ю.Г.<sup>1,2</sup>, Федоров Н.С.<sup>1</sup>, Закирьянова Г.Ф.<sup>1</sup>, Хазиев А.Н.<sup>1</sup>, Мухутдинова К.А.<sup>2</sup>, Маломуж А.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

<sup>2</sup> Казанский государственный медицинский университет, Казань

Липидные рафты – динамичные нанометровые мембранные микродомены, обогащенные холестерином и сфинголипидами, а также специфическими белками и липидами, вовлеченными в сигнальные процессы. Предполагается, что особенно высоко содержание липидных рафтов в синаптических мембранах, в том числе мембранах синаптических везикул.

В нашей работе используя ферменты, нацеленные на ключевые компоненты липидных рафтов, холестерин и сфингомиелин, предпринята попытка оценить функциональную

значимость мембранных микродоменов в регуляции нервно-мышечной передачи в диафрагмальной мышце мыши.

Предварительные аппликации холестерина оксидазы и нейтральной сфингомиелиназы нарушали маркирование мембран метками на липидные рафты и усиливали нейротрансдукцию за счет пресинаптического механизма. В частности, происходило усиление доставки синаптических везикул в сайты экзоцитоза при интенсивности синаптической активности (т.е. мобилизации). Это сопровождалось направлением секреции нейромедиатора по пути экзоцитоза с полным слиянием везикулы с пресинаптической мембраной, и снижением доли kiss-and-run (через пору слияния) экзоцитоза. Если разрушающие липидные рафты ферменты получали доступ к мембранам синаптических везикул, то проявлялся угнетающий нейротрансдукцию эффект за счет снижения мобилизации синаптических везикул [1, 2]. Подобные же данные были получены при оценке экзоцитоза в вегетативных нервных окончаниях, в частности симпатических варикозах предсердий мыши [3].

Нарушение целостности липидных рафтов также вмешивалось в бета2-адренергическую и зависимую от P2Y13 рецепторов регуляцию нервно-мышечной передачи [4, 5]. В частности, если в контроле активация бета2-адренорецепторов вызывала усиление мобилизации синаптических везикул, то после воздействия сфингомиелиназы или холестерина оксидазы стимуляция бета2-адренорецепторов, наоборот, угнетала вовлечение синаптических везикул в экзоцитоз. Этот эффект зависел от переключения бета2-адренергической сигнализации с Gs на Gi белок-сопряженный путь. Активация АДФ-чувствительных P2Y13 рецепторов угнетала секрецию нейромедиатора через активацию пути Gi белок / цитозольный Ca<sup>2+</sup> / протеинкиназа C / НАДФН оксидаза 2 / активные формы кислорода. После разрушения липидных рафтов эта зависимая P2Y13 рецепторов и активных форм кислорода сигнализация отключалась.

Мы предполагаем, что липидные рафты плазматических мембран, с одной стороны, сдерживают избыточное выделение ацетилхолина при интенсивной активности, а с другой – обеспечивают корректную регуляцию нейротрансдукции эндокринными и паракринными факторами. При этом липидные рафты мембран синаптических везикул необходимы для поддержания везикулами способности к эффективной мобилизации и экзоцитозу.

1. Zakirjanova G.F., Giniatullin A.R., Gafurova C.R. et al. // Arch Biochem Biophys. 2023. V. 749. 109803.
2. Tsentsevitsky A.N., Gafurova C.R., Mukhutdinova K.A. et al. // Life Sci. 2023. Vol. 318. 121507.
3. Odnoshivkina JG, Sibgatullina GV, Petrov AM. // Biochim Biophys Acta Biomembr. 2023. V. 1865. 184197.
4. Gafurova C.R., Tsentsevitsky A.N., Fedorov N.S. et al. // Mol Neurobiol. 2024. V. 61. P.6805-6821.
5. Giniatullin A.R., Mukhutdinova K.A., Petrov A.M. // Neurochem Res. 2024. V. 49. P: 2021-2037.

## **ГАМКЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ**

Петров К.А.<sup>1</sup>, Krejci E.<sup>2</sup>, Ленина О.А.<sup>1</sup>, Федоров Н.С.<sup>3</sup>, Сибгатуллина Г.В.<sup>3</sup>, Нуруллин Л.Ф.<sup>3</sup>, Самигуллин Д.В.<sup>3</sup>, Маломуж А.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Россия

<sup>2</sup>Université de Paris, Centre Borelli, Cognac G, UMR9010, France

<sup>3</sup>КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Россия

Нервно-мышечный синапс (НМС) представляет собой классический трехчастный синапс («tripartite synapse»), поскольку известно, что участие в передаче возбуждения принимают не

только окончание двигательного нерва и постсинаптическая мембрана мышечного волокна, но и перисинаптические Шванновские клетки (ПШК).

Известно, что ПШК способны модулировать уровень секреции ацетилхолина из нервного окончания. Так, ранее было показано, что ПШК способны секретировать АТФ в качестве глиотрансммитера. Секретируемый ПШК АТФ, деградируя до аденозина активирует А1 или А2 подтипы аденозиновых рецепторов, соответственно снижая или увеличивая уровень секреции ацетилхолина [2].

Некоторое время назад, нами был описан новый путь ауторегуляции секреции ацетилхолина в НМС, который включает в себя  $\alpha 7$  ацетилхолиновые рецепторы (АХР), расположенные на ПШК [1]. Было показано, что в условиях ингибирования холинэстераз, активация  $\alpha 7$  АХР на ПШК спилловером ацетилхолина приводит к снижению уровня его секреции из нервного окончания. Однако, последующие этапы, которые задействуются после активации  $\alpha 7$  АХР были не известны.

В продолжение изучения данного пути ауторегуляции секреции ацетилхолина, нами было обнаружено, что в условиях ингибирования холинэстераз, активация  $\alpha 7$  АХР ПШК в НМС мышцы вызывает секрецию гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). Таким образом, в НМС ГАМК может выступать в качестве глиотрансммитера. ГАМК, активируя метаботропные ГАМК-Б рецепторы, запускает снижение секреции ацетилхолина. Как нами было показано, вклад данного каскада регуляции секреции ацетилхолина в НМС может быть выявлен и без применения фармакологической блокады холинэстераз. Так, длительная (20 Гц, 120 секунд) стимуляция двигательного нерва приводит к посттетанической депрессии, которая не возникает на фоне блокады ГАМК-Б рецепторов. При оценке сократительной активности диафрагмы мышцы были получены экспериментальные доказательства выделения ГАМК в двигательных синапсах и его влияние на процесс сокращения. Было обнаружено, что блокада ГАМК-Б рецепторов приводит к повышению силы сокращения мышцы, тогда как фармакологическая инактивация ГАМК транспортеров, наоборот, к падению силы сокращений. Кроме того, данный путь регуляции секреции ацетилхолина, по всей видимости, так же может быть активен на крайне ранних этапах постэмбрионального развития. У новорожденных животных возраста P1 было показано, что блокада ГАМК-Б рецепторов увеличивает утомляемость диафрагмы мышцы, регистрируемую по скорости падения силы мышечных сокращений *ex vivo*.

*Финансовая поддержка: грант 24-15-00249.*

1. Petrov K.A., Girard E., Nikitashina A.D., et al. // J. Neurosci. 2014. V.34, P.11870–11883.
2. Todd K.J., Darabid H., Robitaille R. // J. Neurosci. 2010. V.30, P.11870–11882.

## **РОЛЬ ПАННЕКСИНА 1 В ИЗМЕНЕНИЯХ ПОРТАЛЬНОЙ ВЕНЫ И ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ ПРИ ФИБРОЗЕ ПЕЧЕНИ У МЫШИ**

**Печкова М.Г.<sup>1,2</sup>, Кирюхина О.О.<sup>2</sup>, Тарасова О.С.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва

<sup>3</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Печень получает двойное кровоснабжение: по портальной вене и по печеночной артерии. При различных заболеваниях печени, сопряженных с фиброзом, потоки венозной и артериальной крови к печени могут изменяться противоположным образом. Соппротивление русла портальной вены повышается, что ведет к развитию портальной гипертензии, а сопротивление русла печеночной артерии – напротив снижается, что является компенсаторной реакцией в ответ на гипоксию в ткани печени. Паннексин 1 (Panx1) формирует в наружной мембране клеток каналы для транспорта АТФ и таким образом принимает участие в пуринергической регуляции кровеносных сосудов, а также в

ремоделировании сосудов при различных патологических состояниях. Таким образом, **целью** нашей работы стало исследование участия *Panx1* в развитии изменений в портальной вене и печеночной артерии при фиброзе печени, вызванном перевязкой общего желчного протока (ПОЖП).

В экспериментах использовали половозрелых самцов мышей линии C57Bl/6J (WT) и линии с глобальным нокаутом гена *Panx1* (*Panx1*-КО). Фиброз печени моделировали путем ПОЖП, у мышей контрольной группы проводили ложную операцию. Спустя три недели животных подвергали эвтаназии, после чего взвешивали органы (печень и селезенку), собирали кровь для биохимических анализов и отбирали образцы печени для анализа методом количественной ПЦР. Кроме того, выделяли кольцевые препараты портальной вены и печеночной артерии для количественного ПЦР-анализа и исследования сосудистых реакций в изометрическом миографе.

У обеих линий мышей развитие патологии в печени было подтверждено по показателям биохимии крови и повышению экспрессии генов, отражающих развитие фиброза, различий между WT и *Panx1*-КО не было выявлено. При ПОЖП масса тела была одинаково снижена, а масса печени (относительно массы тела) – одинаково повышена у мышей двух линий. Экспрессия *Panx1* в печени у мышей WT при ПОЖП была значительно повышенной, что указывает на участие *Panx1* в развитии данной патологии. Масса селезенки, которая, как известно, коррелирует с давлением в портальной вене, была значительно увеличена у мышей WT, тогда как у *Panx1*-КО наблюдалась лишь тенденция к увеличению. Это предполагает, что влияние *Panx1* способствует развитию портальной гипертензии при фиброзе печени.

В портальной вене мышей WT экспрессия *Panx1* была значительно повышенной. Внутренний диаметр вены не изменялся при ПОЖП ни у мышей WT, ни у *Panx1*-КО. У мышей обеих линий при патологии наблюдалось одинаковое увеличение максимальных сократительных ответов вены на агонист рецепторов тромбоксана A2 U46619 (свидетельство гипертрофии меди), чувствительность вены к U46619 и фенилэфрину (агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов) в обоих случаях компенсаторно снижалась. Сократительные ответы вены на АТФ снижались у обеих групп мышей с ПОЖП, но у WT снижение было более выраженным по сравнению с *Panx1*-КО, что может свидетельствовать о более сильной десенситизации пуриновых рецепторов у WT вследствие активации *Panx1*-зависимого пути секреции АТФ из клеток.

В отличие от портальной вены, в печеночной артерии экспрессия *Panx1* у мышей WT при ПОЖП не повышалась, сократительные ответы артерии также не изменялись вследствие ПОЖП. Вероятно, это связано с более медленным развитием патологических изменений в артерии по сравнению с веной. Однако в печеночной артерии мышей *Panx1*-КО, но не WT, наблюдались структурные изменения, что проявлялось в увеличении ее внутреннего диаметра и максимальных ответов на фенилэфрин. Увеличение диаметра печеночной артерии при ПОЖП может происходить вследствие компенсаторного повышения кровотока, поскольку приток крови в печень по портальной вене в этих условиях затруднен. Следует отметить, что такое увеличение диаметра артерии должно способствовать увеличению притока оксигенированной крови в печень и поэтому может рассматриваться как положительное изменение. Повышение сократимости артерии на фенилэфрин может быть связано с изменением адренореактивности гладкомышечных клеток в стенке сосуда при поток-вызванном ремоделировании.

Таким образом, при ПОЖП *Panx1* не влияет на развитие патологических изменений ткани печени, но присутствует его влияние на сосуды печени, которое различается в портальной вене и печеночной артерии. В портальной вене *Panx1* снижает чувствительность к АТФ, а в печеночной артерии - замедляет структурное ремоделирование, необходимое для поддержания кровоснабжения печени при патологии.

*Исследования выполнены при поддержке РНФ (грант №23-75-01111).*

## **ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД К СНИЖЕНИЮ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ УТОМЛЯЕМОСТИ В МЫШЦАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КИНЕЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ**

Пискаев А.А., Ненашева А.В.

*ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)» Южно-Уральский государственный университет,  
Челябинск*

Способность человеческого организма адаптироваться к экстремальным факторам – это сложный, многоуровневый процесс, который может быть нарушен сильным стрессом, приводящим к развитию заболеваний. Механизм адаптации – это динамическая система, которая позволяет организму реагировать на раздражители окружающей среды, но она может быть перегружена сильным стрессом, что приводит к нарушению гомеостаза.

Первый уровень двигательного контроля регулируется на подсознательном уровне и зависит от информации, поступающей от внешних и внутренних рецепторов. Нарушение этой регуляции может привести к тремору – распространенному явлению, наблюдаемому у людей с нарушениями двигательного контроля [1]. У спортсменов интенсивные физические нагрузки могут вызывать мышечное переутомление, приводящее к снижению физических возможностей. Это часто сопровождается развитием мышечного болевого синдрома, который еще больше ограничивает физическую работоспособность.

Согласно Gandevia (1998), наиболее распространенным методом измерения утомления является сравнение силы мышечной реакции на электрическую стимуляцию до и после выполнения утомительной задачи [2]. Снижение мышечной реакции и замедление фазы расслабления указывают на развитие периферической усталости. Электромиография (ЭМГ) – это еще один метод, используемый для изучения изменений в мышечных волокнах, который позволяет выявить периферическую усталость. Во время субмаксимального сокращения мышц амплитуда ЭМГ обычно увеличивается за счет привлечения новых двигательных единиц и увеличения частоты активации, что компенсирует снижение мышечной реакции при длительном сокращении. Напротив, во время максимального сокращения мышц амплитуда ЭМГ уменьшается, что указывает на снижение частоты активации двигательных единиц из-за периферической усталости.

Изменения в центральной нервной системе (ЦНС), особенно на спинномозговом и супраспинальном уровнях, называются центральной усталостью. ЦНС играет решающую роль в регулировании мышечной силы, и снижение центральной активации может привести к центральной усталости. Это часто наблюдается у людей, которые испытывают мышечную слабость и переутомление, несмотря на нормальную работу периферических мышц.

Прикладная кинезиология – это междисциплинарная область, которая изучает управление двигательными действиями в различных видах деятельности с целью понимания функциональных возможностей человеческого организма. Фокусируясь на рефлексогенных и акупунктурных точках, а также используя специальные движения и правильное питание, прикладная кинезиология может активизировать оздоровительные реакции организма, что приводит к улучшению физического, психического, эмоционального и духовного состояния [3].

Коррекция уровня утомления может быть достигнута путем оптимизации локомоторных движений за счет формирования новых двигательных навыков и стереотипов под воздействием специальных физических упражнений, что является основой прикладной кинезиологии [4]. Такой подход может привести к улучшению контроля над движениями, снижению утомляемости и повышению общей физической работоспособности.

1. М. С. Берминова, О. В. Евдокимова // Юный ученый. – 2016. – № 3 (6). – С. 191-195.
2. А. А. Пискаев, А. В. Ненашева // В книге: Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. СПб., 2023. – С. 270–271.

3. Сазонов, В. Ф. // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2012. Т. 14. № 1. С. 166-170.
4. Юльцова М.М. // Вестник науки. 2019., Т. 4.– № 12 (21). – С. 215-220.

## **ВОЗБУДИМОСТЬ МОЗГА И ПОВЕДЕНИЕ ЖИВОТНЫХ: ВРОЖДЕННОЕ ПОВЕДЕНИЕ И КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ ЖИВОТНЫХ.**

Перепелкина О.В., Зорина З.А., Полетаева И.И.

*Кафедра высшей нервной деятельности биологического ф-та МГУ имени  
М.В. Ломоносова*

«Исторические корни». Влияние уровня возбуждения ЦНС животных на поведение – проблема, которая появилась еще при создании И.П. Павловым концепции типов нервной системы. Для исследования влияния возбудимости, как одного из свойств ЦНС, были нужны генетические эксперименты, которые не дали четких результатов. Л.В. Крушинский продемонстрировал влияние общей возбудимости ЦНС на проявление пассивно-оборонительной реакции собак [1]. В дальнейшем этот подход нашел отражение в концепции А. Меннинга о существовании генетических влияний на пороги экспрессии врожденных реакций поведения (дрозофилв). В то же время влияние общей активации мозга на сложные формы поведения исследованы мало, хотя есть данные о дифференциальной активации «голубого пятна» в разных условиях (*locus coeruleus*, LC) (напр., [2]).

Результаты. Оценивали влияние инъекций атомоксетина (блокада обратного захвата норадреналина) на показатели решения «трудного» этапа когнитивного теста на поиск входа в укрытие у мышей линий, селективированных на его быстрое успешное решение (линия «+») и на отсутствие такого решения (линия «-») [5]. Тест заключается в оценке способности мыши преодолеть препятствие, закрывающее вход в комфортное темное отделение экспериментальной камеры из ярко освещенной ее части. Препятствием была пластиковая «пробка», закрывавшая ранее открытый углубленный в пол лаз, ведущий в темную часть камеры. Успешность решения оценивали и по времени перехода (или не-перехода) мыши в темное отделение камеры, и по доле животных, которые смогли выполнить решение теста (вынуть или отодвинуть «пробку»). Данное воздействие (введение атомоксетина) достоверно улучшило показатели решения теста у мышей линии «-» и несколько ухудшило их у линии «+». Полученные данные свидетельствуют, по всей видимости, о разном уровне функциональной активности нейронов LC, посылающих восходящие проекции в передний мозг (префронтальную кору и др. структуры) у мышей этих линий и требуют дальнейшего анализа. Отметим, что сходный «рисунок» реакций мышей линий «+» и «-» был отмечен и в реакции на введение афобазола (селективного не-бензодиазепинового анксиолитика, действующего на  $\sigma_1$ -рецепторы) причем значимых различий в уровне тревожности (по данным теста приподнятого крестообразного лабиринта) в ходе селекции (F2 - F10) отмечено не было.

Обсуждение. Ранее сходный эффект изменений поведения после введения атомоксетина был описан у мышей линии с разным весом мозга – повышение доли решений теста у слабо решающей линии и обратный эффект у мышей линии, успешно решающей данный тест [4].

Исследования реакции активации ЦНС (*arousal reaction*), как проявления активирующей функции ретикулярной формации мозга, в настоящее время концентрируются на участии LC в реализации исполнительных функций – комплекса признаков, включающих как когнитивные способности *per se* так и внимание, память и др. Отметим, что восходящие норадренергические проекции берут начало не только в LC, но и в стволовом ядре A2, проекции которого отличаются от таковых LC.

Заключение. В отличие от прямого активирующего влияния возбудимости мозга на врожденные элементы поведения, возбудимость ЦНС влияет на выполнение когнитивных тестов более сложным образом.

*Поддержано грантом РФФ 23-25-00042.*

1. Полетаева И.И. Собаки Л. В. Крушинского. // Природа. 1999. № 8. С. 150-155.
2. De Cicco V et al. // Front. Neuroanat, 2018, v. 11, 2017. doi: 10.3389/fnana.2017.00130
3. Perepelkina O.V., Poletaeva I.I. // Neurol Int. 2022;14(3):696-706. doi: 10.3390/neurolint14030058.
4. Perepelkina O.V., Poletaeva I.I. // Neurol Int. 2023, 15 (2):649-660. doi: 10.3390/neurolint15020041.
5. Perepelkina O.V., Poletaeva I. I. // Dokl. Bioch. Bioph., 2024.

## **ВЛИЯНИЕ ВЗРЫВНОЙ ТРАВМЫ НА ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ЛИНИИ WISTAR В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»**

Полоусов В.Д.<sup>1,2</sup>, Орловская А.А.<sup>2,3</sup>, Ереско С.О.<sup>2,3</sup>, Айрапетов М.И.<sup>2,3</sup>,

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

<sup>2</sup>*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*

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

Взрывная травма является одним из наиболее перспективных направлений исследований в связи с участвовавшими случаями заболеваний среди военнослужащих, увеличения числа бытовых, а также производственных травм. Поэтому доклиническое моделирование нейробиологических и патофизиологических процессов, связанных со взрывной травмой, стало приоритетным направлением в разработке новых терапевтических вмешательств.

**Цель исследования.** Моделирование взрывной травмы, оценка поведенческих изменений у крыс после взрывной травмы и сравнение их с контрольной группой.

В ходе эксперимента были использованы 43 крысы линии Вистар. Животных поделили на 3 группы: 7 особей – интактная группа (крысы, которые не подвергались каким-либо внешним воздействиям), контрольная группа (крысы, которые подвергались воздействию анестезии), в составе которой насчитывалось 16 особей, а также контрольная группа, которая состояла из 20 особей, подверженных воздействию анестезии и ударной волны. Для проведения эксперимента была собрана установка, состоящая из пневматического монтажного пистолета по бетону, расширительной камеры, отсека с металлической крышкой, в который помещалась подставка для крысы с фиксирующим ремешком. Для проведения опыта крыс подвергали воздействию анестезии. В качестве наркоза применялся пропофол. Далее проводили тест «Открытое поле» на 2 и 7 день после моделирования взрывной травмы.

Результаты теста «Открытое поле» позволили выявить повышение уровня груминговых реакций у опытных крыс относительно интактной и контрольной групп. Традиционно груминг рассматривают, как показатель уровня тревожности и стресса. Также сильно выделяется увеличение времени замирания (ступора) у опытных крыс в сравнении с контрольными и интактными, что является показателем сильного стресса у особей из опытной группы. Снижение двигательной активности, а также усиление исследовательского поведения, о котором сигнализирует увеличение времени исследования отверстий и выхода в центр арены, связывают с усилением фактора страха в ответ на «новые потенциально опасные стимулы». Было выявлено уменьшение актов дефекации у опытной группы относительно остальных групп. Количество актов дефекации является показателем «эмоциональности» крыс, соответственно, у крыс, перенесших черепно-мозговую травму, наблюдается притупление эмоционального поведения.

Проанализировав полученные результаты, можно сделать вывод о том, что моделирование черепно-мозговой травмы на крысах с помощью ударной волны прошло успешно, следовательно, предложенная модель является работоспособной.

1. A. Hernandez, C. Tan, F. Paltnner, et al. //Mol. Brain – 2018. – Vol.11.
2. A.F. Logsdon, B.P. Luke-Wold, R.C. Turner, et al. //J. Vis. Exp. – 2020. – Vol.165.
3. A.M. Yarnell, M.C. Shaughness, E.S. Barry, et al. //Curr. Protoc. Neurosci. – 2013. – Vol.9.

## **ГИПЕРСЕТЕВАЯ ТЕОРИЯ МОЗГА КАК ОСНОВА БУДУЩЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ**

**Поляков Ю.И.<sup>1,2,3</sup>, Лопатина Е.В.<sup>1,2</sup>, Любашина О.А.<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Санкт-Петербург*

<sup>3</sup>*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Санкт-Петербург*

<sup>4</sup>*Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург*

В настоящее время активно разрабатывается проблема представления о психической деятельности, о разуме и о сознании, как о процессах тождественных реализации так называемой нейронной гиперсети мозга, несущей суть нашего «я», определенного не только генетическим базисом конкретного человека, но и его индивидуальным опытом. Именно эти два фактора определяют текущее поведение человека, его психическую жизнь.

В нашей стране эта теория разрабатывается в Институте перспективных исследований мозга МГУ имени М.В. Ломоносова под руководством академика РАН К.В. Анохина (1,2,3).

Эта теория, конечно, не может пока считаться разработанной полностью. Остается много теоретических вопросов, связанных с проблемой, является ли сознание производной нейрофизических процессов или существует параллельно с этими процессами, и мы погружены в сознание как в отдельный субстрат?..

Не останавливаясь в тезисах на деталях тем не менее очень хорошо разработанной гипотезы о когнитивных группах и гиперсетях, которые определяют разум и сознание в современном нейробиологическом понимании, необходимо заметить, что уже пора задуматься, что даст эта теория для понимания, диагностики и лечения заболеваний, суть которых сводится к разным видам психических расстройств, в том числе разума и сознания.

Несмотря на значительное продвижение психиатрии на путях совершенствования верификации, диагностики и терапии психических расстройств, успехи эти представляются только фрагментарными, так как не основываются на едином принимаемом большинством психиатрического, психологического, физиологического и философского сообществ (4) понимании природы психических процессов, сознания. Надо иметь как минимум непротиворечивую рабочую гипотезу (модель) представления о психической активности, сознании которая позволит, при ее рассмотрении, понять глубинные механизмы расстройств в этой сфере.

В теории психиатрии принято выделять ранги психических расстройств, которые помогают определиться со специфичностью синдромов разных уровней и с тяжестью психического заболевания в целом (5).

Кроме того, важно отметить, что при некоторых психических заболеваниях суть патологии сводится к тому, что у пациента нарушается способность в нужное время актуализировать собственный прошлый опыт, что не дает ему возможность правильно рассуждать и действовать в конкретной новой ситуации.

Описанные клинические феномены вполне могут быть поняты с позиций гиперсетевой теории мозга. Так, определенные изменения в гиперсетевом взаимодействии могут маркировать тот или иной психопатологический синдром или даже нозологическую форму, а

нарушения в конкретных КОГ-ах (КОГ - когнитивная группа нейронов), которые в соответствии с теорией когнитивного, являются структурными носителями индивидуального опыта, могут, в случае, напр., заболевания, кодировать функцию по дезактуализации собственного прошлого опыта.

Наконец, если говорить о психиатрии как медицинской дисциплине, то нельзя забывать о проблеме лечения... Здесь сразу возникает мысль о взаимодействии во время даже немедикаментозной терапии (психотерапии) гиперсетей не только между собой у пациента, но и гиперсетей пациента и психотерапевта, ибо в понятия когнитивного и гиперсети включаются возможности высокорангового взаимодействия с окружающим миром, в том числе на уровне психической активности.

Исследование распределенных гиперсетей (когнитивных) с точки зрения их нейробиологической базы возможно позволит (конечно, при использовании разработанного программного обеспечения, искусственного интеллекта) определить новые методы прогнозирования тенденций развития различных типов психических расстройств, диагностики, а также обоснованного, истинно патогенетического лечения психических заболеваний.

1. Анохин К.В. Сборник "О мозге", издательство Новые технологии (Москва), с.3
2. Анохин К.В. Когнитом: алгоритмическая теория высших функций мозга". Сборник тезисов XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова 11-15 сентября 2023, издательство ООО "Издательство ВВМ" (Санкт-Петербург), тезисы, с.12.
3. Анохин К. В., Новоселов К.С., Смирнов С.К., Ефимов А.Р., Матвеев Ф.М."Искусственный интеллект для науки и наука для искусственного интеллекта" Ж. Вопросы философии, издательство ФГБУ "Издательство "Наука" (Москва), №3, с.93-106
4. Власова О.А. Феноменологическая психиатрия и экзистенциальный анализ: история, мыслители, проблемы. М.2010 638 с. 5. Психиатрия: национальное руководство. - М.: Издательство ГЭОТАР-Медиа, 2018 –976 с

### **ЭЭГ КОРРЕЛЯТЫ СОГЛАСИЯ И НЕСОГЛАСИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ОТВЕТЕ НА ОДНОЗНАЧНЫЕ ВОПРОСЫ С БИНАРНЫМ ВЫБОРОМ**

Пономарев Т.Д.<sup>1</sup>, Васильев А.Н.<sup>1</sup>, Новикова Е.А.<sup>1</sup>, Покидько А.Б.<sup>3</sup>, Зайцева Н.В.<sup>2</sup>,  
Зайцев Д.В.<sup>2</sup>, Каплан А.Я.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
философский факультет, Москва*

<sup>3</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
психологический факультет, Москва*

Ответы «Да» и «Нет» являются базовыми единицами простой коммуникации (1). Тем не менее, в данный момент в литературе отсутствует оформленное нейрофизиологическое описание мозговых реакций, соответствующих внутреннему переживанию согласия и несогласия (далее – С и Н соответственно). В то же время, описание ЭЭГ предикторов подобных состояний может быть полезно для разработки новых типов систем интерфейс «мозг-компьютер» (ИМК), выстроенных по типу взаимодействия «мозг-искусственный интеллект». **Целью** исследования является выявление и оценка характеристик нейрофизиологических коррелятов состояний мозга, соответствующих С и Н.

К участию в исследовании были привлечены 25 здоровых добровольцев (7 юношей), в возрасте от 18 до 24 лет (медиана 19). Задача испытуемых состояла в том, чтобы давать мысленные ответы («Да» или «Нет») на короткие однозначные вопросы. Участники были проинформированы, что система будет пытаться угадать их ответ. Вопросы (2-4 слова)

предъявлялись на мониторе компьютера по одному слову. Команда «Ответ» появлялась через 1.3 с после вопроса. Затем демонстрировалась заранее определенная гипотеза системы («Да» или «Нет»). Нажимая на клавишу, испытуемые оценивали «догадку».

ЭЭГ регистрировалась с 48 электродов (усилитель NVX-52) с частотой дискретизации 1000 Гц, усредненное отведение A1A2 в качестве референта. Сигнал был отфильтрован в диапазоне 0.5-30 Гц, применялся фильтр 50 Гц. Окуломоторные артефакты были скорректированы с применением ИСА. Данные ЭЭГ были фрагментированы на эпохи во временном окне -0.2 – 1.3 с от момента предъявления стимула. В эксперименте были присутствовало 2 области интереса – заключительное слово вопроса (I) и демонстрация гипотезы системы (II). В I предполагалось определить внутренние паттерны С и Н относительно содержания вопроса, а в II – касаясь корректности «догадки» системы. В каждой области определялись эпохи для состояний С и Н. К эпохам применялись пространственные фильтры, полученные с применением с критерием Фишера для вычисления оптимальных пространственных проекций (4). Посредством усреднения эпох были получены потенциалы, связанные с событием (ПСС). Для выделенных таким образом компонентов анализировалась амплитуда и латентность пика. Статистическая обработка данных амплитуды производилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (ANOVA-RM), для апостериорного анализа использовался парный t-тест. Для данных латентности использовался тест Фридмана и критерий Уилкоксона соответственно. Вводилась поправка Бонферрони.

Для области I были обнаружены компоненты ПСС N400 и P600; для области II – FRN/RewP и FB-P3. В случае Н наблюдалась большая амплитуда N400 ( $p < 0.0001$ ) и более выраженный паттерн FRN/RewP ( $p < 0.0001$ ), а также увеличенная амплитуда ( $p < 0.0001$ ) и латентность ( $p = 0.0032$ ) FB-P3. Известно, что N400 связан с семантической обработкой информации (3), а FRN/RewP и FB-P3 – с получением и оценкой обратной связи (2). Полученные данные могут указывать на то, что формирование С и Н в мозге является частным случаем более общих процессов сопоставления репрезентаций ментальной модели человека и новой информации, поступающей из окружающей среды. Определяемое по ЭЭГ состояние С или Н, как индикатор смысловой рассогласованности и несовпадения ожиданий и обратной связи, может быть использовано для автоматической калибровки и функционирования продвинутых систем ИМК вида «мозг-искусственный интеллект». Будущие исследования будут нацелены на расширение и детализацию нейрофизиологического описания мозговых процессов, соответствующих С и Н.

1. Choi JW, Kim KH, Baek HJ. // *Computational Intelligence and Neuroscience*. 2019.
2. Glazer JE, Kelley NJ, // *International Journal of Psychophysiology*. 2018 Oct 1;132:184–202.
3. Kutas M, Federmeier KD. // *Annual Review of Psychology*. 2011 Jan 10;62:621–47.
4. Pires G, Nunes U, Castelo-Branco M. // *Journal of Neuroscience Methods*. 2011 Feb;195(2):270–81.

## **РАННИЙ ФОСФОПРОТЕОМНЫЙ И ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ОТВЕТ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ НА ПРИЕМ ПИЩИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Попов Д.В.<sup>1</sup>, Якупова Э.И.<sup>1</sup>, Смирнов И.П.<sup>2</sup>, Махновский П.А.<sup>1</sup>, Томилова А.О.<sup>3</sup>,

Леднев Е.М.<sup>1,3</sup>, Вепхвадзе Т.Ф.<sup>1</sup>, Курочкина Н.С.<sup>1</sup>, Шестакова М.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

<sup>2</sup>*ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина, Москва*

<sup>3</sup>*НМИЦ эндокринологии Минздрава России, Москва*

Скелетная мускулатура составляет треть массы тела человека, на нее приходится 80% инсулинозависимого поглощения глюкозы из крови. Поэтому снижение инсулиновой

чувствительности скелетных мышц играет ключевую роль в патогенезе сахарного диабета 2 типа (СД2Т). Согласно наиболее популярной гипотезе, инсулинорезистентность скелетных мышц вызвана дефектами канонического инсулинового каскада INSR-PI3K-AKT, индуцирующего GLUT4-зависимый захват глюкозы; однако механизмы этого нарушения до сих пор остаются предметом дискуссий [1]. Более того, большинство сигнальных молекул, индуцируемых инсулином в скелетной мышце, не относятся к каноническому инсулиновому каскаду [2]; их роль в развитии инсулинорезистентности скелетных мышц остается плохо изученной.

**Цель работы** – исследовать ранние изменения сигнализации (фосфопротеомный и транскриптомный ответ) скелетной мышцы человека после приема смешанной пищи у пациентов с ожирением и СД2Т.

Пробы *m. vastus lateralis* брали у 8 здоровых добровольцев (индекс массы тела (ИМТ) ~23 кг/м<sup>2</sup>) и 8 пациентов с ожирением и СД2Т (ИМТ ~40 кг/м<sup>2</sup>) натощак и через 1 ч после приема смешанной пищи (6 ккал/кг массы тела) для оценки фосфопротеомного (количественный масс-спектрометрический анализ) и транскриптомного (РНК секвенирование) профилей.

У пациентов, прием пищи, несмотря на высокий уровень инсулина в крови (~100 мМЕ/л в течение 2,5 ч), значительно увеличил содержание глюкозы (до 10 мМ), что свидетельствует о выраженных нарушениях инсулинозависимого захвата глюкозы. Через час после приема пищи у пациентов увеличило фосфорилирование более 950 сайтов; из них более 90% не относились к каноническому инсулиновому каскаду, а были связаны с саркомерными белками, кальциевой сигнализацией и другими путями. Прием пищи активировал проксимальную (киназа AKT) и в дистальную (мишени комплекса mTORC1/2, регуляторы метаболизма гликогена, а также TBCD1/4 – регулятор транслокации глюкозного транспортера GLUT4) части канонического инсулинового каскада. Это косвенно свидетельствует о том, что в скелетной мышце пациентов нарушение захвата глюкозы связано не с дефектами каскада INSR-PI3K-AKT-TBCD1/4, а с нарушением транслокации GLUT4 и/или его слияния с клеточной мембраной.

У здоровых людей пик содержания инсулина в крови был на 30 мин, а через час после приема пищи уровень инсулина был в 3 раза ниже (30 мМЕ/л), чем у пациентов. По-видимому, из-за этого не было обнаружено изменений фосфопротеомного профиля в скелетной мышце здоровых людей через час после приема пищи. Это объясняется кратковременным ответом инсулиновой сигнализации на прием пищи в норме, что косвенно подтверждается наличием изменений транскриптомного профиля скелетной мышцы (120 мРНК). Любопытно, транскриптомный ответ на прием пищи у пациентов с СД2Т был в 2 раза меньше, в частности, за счет подавления ответа генов-регуляторов транскрипции, что говорит о подавлении инсулинозависимой активации сигнальных каскадов/транскрипционных регуляторов, ассоциированных с этими генами [3].

В заключение, было показано, что прием смешанной пищи, нормированной на массу тела, приводит к активации каскада INSR-PI3K-AKT-TBCD1/4 в скелетной мышце пациентов с СД2Т. Это указывает на то, что нарушение инсулинозависимого захвата глюкозы связано с нарушением транслокации глюкозного транспортера GLUT4 и/или его слияния с клеточной мембраной. В скелетных мышцах пациентов, несмотря на активацию каскада INSR-PI3K-AKT, ответ генов на прием пищи нарушен (подавлен и изменен), что говорит о наличии инсулинорезистентности в регуляции экспрессии генов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-75-10146).*

1. James D.E., Stockli J., Birnbaum M.J. // Nat Rev Mol Cell Biol. 2021. V. 22. №11. P.751.
2. Needham E.J., Hingst J.R., Parker B.L., et al. // Nat Biotechnol. 2022. V. 40. №4. P.576.
3. Makhnovskii P.A., Lednev E.M., GavriloVA A.O., et al. // Physiol Genomics. 2023. V. 55. №10. P.468.

## НЕЙРОТРОФИН МОЗГА И ЕГО ПРОДОМЕН: СХОДНЫЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ В НОВООБРАЗОВАННЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Потапова Д.А., Богачева П.О.

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

Нейротрофин мозга (BDNF) и его продомен образуются в синаптической щели, в нервных и мышечных клетках в результате протеолиза белка-предшественника, пронеуротрофина BDNF [3]. Несмотря на эквимолярное образование этих молекул, в контексте острого влияния на синаптическую передачу до сих пор активно изучалось лишь действие зрелого нейротрофина мозга [1], а эффекты и функциональная роль продомена BDNF долгое время оставались без внимания. В синапсах, находящихся на ранних стадиях формирования в ходе онтогенеза или при регенерации, баланс сигналинга с участием зрелого BDNF и продуктов его созревания играет важную роль, регулируя процессы элиминации избыточных контактов [2]. **Целью** нашей работы стало изучение и сравнение эффектов BDNF и продомена BDNF в новообразованных нервно-мышечных синапсах мышцы и механизмов реализации этих эффектов.

Эксперименты выполняли на новообразованных нервно-мышечных синапсах длинного разгибателя пальцев мышцы при помощи стандартной микроэлектродной методики. За 11 дней до электрофизиологического исследования проводили операцию по пережатию малоберцового нерва для запуска процессов дегенерации и последующей регенерации. В ходе экспериментов регистрировали одноквантовые миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП). Для статистической обработки использовали критерии Стьюдента и Манна-Уитни.

Нейротрофин мозга и продомен BDNF оказывали схожее влияние на параметры спонтанной секреции медиатора, вызывая увеличение амплитуды МПКП и не влияя на частоту, время нарастания и время полуспада МПКП. Везамикол, блокатор везикулярного транспортера ацетилхолина, предотвращал действие обеих молекул, таким образом мы выяснили, что причина возрастания амплитуды МПКП заключалась в увеличении размера кванта медиатора. Следующей задачей нашей работы стало выяснение рецепторной специфичности исследуемых веществ. Известно 3 типа рецепторов, опосредующих действие нейротрофина мозга и продуктов его процессинга: рецепторные тирозинкиназы класса TrkB, сортилин и p75NTR из семейства рецепторов фактора некроза опухоли. Используя циклотраксин В, блокатор TrkB, показали, что возрастание амплитуды МПКП было опосредовано активацией именно этого типа рецепторов, как в случае зрелого BDNF, так и в случае продомена BDNF. Однако в присутствии циклотраксина В продомен BDNF начал оказывать негативное действие - снижение частоты спонтанной секреции медиатора. Данный эффект не наблюдался при действии зрелого нейротрофина мозга в условиях блокады TrkB рецепторов.

Известно, что при активации рецепторов TrkB возможен запуск сразу нескольких сигнальных каскадов: с участием MAPK, фосфолипазы С и PI3K. Инкубация нервно-мышечного препарата с U0126, ингибитором MAPK, предотвратила развитие эффектов обеих молекул - и BDNF, и продомена BDNF, что демонстрирует центральную роль MAPK/ERK каскада в реализации их влияния на амплитуду МПКП. Также удалось выяснить, что наряду с TrkB для развития эффектов нейротрофина мозга и его продомена необходимо участие сортилина. Инкубация нервно-мышечного препарата в растворе с блокатором сортилина AF38469 предотвратила увеличение амплитуды МПКП как в присутствии зрелого BDNF, так и в присутствии его продомена.

Таким образом, удалось установить, что в новообразованных моторных синапсах мышцы и зрелый BDNF, и его продомен оказывают свои эффекты путем активации рецепторов TrkB и сортилина, а также требуют запуска каскада MAPK/ERK. Однако в отсутствие возможности связывания с рецепторами TrkB продомен теряет способность увеличивать амплитуду МПКП и начинает проявлять негативное влияние в виде снижения частоты МПКП, что может

приводить в итоге к разобщению связи моторного аксона с мышечной клеткой и элиминации такого синапса.

*Работа поддержана грантом РФФИ 24-25-00073.*

1. Gaydukov A. et al. //Cells. – 2019. – Т. 8. – №. 7. – С. 762.
2. Je H. S. et al. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2012. – Т. 109. – №. 39. – С. 15924-15929.
3. Leßmann V., Brigadski T. //Neuroscience research. – 2009. – Т. 65. – №. 1. – С. 11-22.

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ И РАСТВОРИМЫХ ФОРМ КАДМИЯ НА АКТИН-МИОЗИНОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В МИОКАРДЕ КРЫС**

**Потоскуева Ю.К.<sup>1</sup>, Герцен О.П.<sup>1</sup>, Цыбина А.Е.<sup>1</sup>, Клинова С.В.<sup>2</sup>, Вотина В.О.<sup>1</sup>,**

**Спиридонова Н.А.<sup>3</sup>, Набиев С.Р.<sup>1</sup>, Минигалиева И.А.<sup>2</sup>, Никитина Л.В.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

*<sup>2</sup>Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий, Екатеринбург*

*<sup>3</sup>Уральский федеральный университет им.Б.Н. Ельцина, Екатеринбург*

Кадмий является токсичным металлом, способным вызывать патологические состояния. Его связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями была известна, однако масштабные исследования связи интоксикации кадмием и сердечно-сосудистыми заболеваниями начались сравнительно недавно [2, 3]. Кадмий способен накапливаться в почве, воде, морепродуктах и растениях, а период его полувыведения из организма человека составляет более 10 лет [4]. Помимо опосредованного влияния, снижающего функцию выводящей системы и повышающего показатели атерогенности, кадмий также способен оказывать прямое воздействие на функцию миозина [1].

**Целью** настоящего исследования являлось определение влияния кадмия в различных его формах на миокард крыс на молекулярном уровне. Трём группам крыс самцов внутрибрюшинно в течение 6 недель 3 раза в неделю вводили растворимую форму кадмия (Cd), суспензию наночастиц кадмия (Cd-НЧ) или физиологический раствор (К). Используя метод искусственной подвижной системы (ИПС), мы исследовали функциональные характеристики миозина, выделенного из предсердий (П), правого (ПЖ) и левого (ЛЖ) желудочков сердец крыс из всех исследуемых групп в эксперименте с актином. Прямое влияние кадмия на актин-миозиновое взаимодействие исследовалось также методом ИПС, путем добавления раствора соли хлорида кадмия (CdCl<sub>2</sub>) непосредственно в проточную камеру в концентрациях 0,1 и 0,5 мМ. Соотношение изоформ тяжелых (ТЦМ) и легких цепей (ЛЦМ) миозина, а также фосфорилирование регуляторных ЛЦМ (рЛЦМ) исследовалось методом электрофореза в ПААГ.

Воздействие Cd снижало скорость скольжения актина по миозину предсердий на 19% и увеличивало скорость скольжения актина по миозину правого желудочка на 9%. Эти изменения сопровождались сдвигом соотношения ТЦМ в сторону α-ТЦМ в ПЖ и снижением фосфорилирования рЛЦМ в предсердиях. Воздействие Cd-НЧ снижало скорость скольжения актина по миозину предсердий и правого желудочка на 18% и 5% соответственно. Эти изменения сопровождались смещением соотношения ТЦМ в сторону β-ТЦМ в ПЖ и снижением фосфорилирования рЛЦМ в предсердиях. Прямое добавление 0,1 мМ CdCl<sub>2</sub> в проточную камеру снижало скорость скольжения актина по миозину предсердий правого и левого желудочка на 16%, 32% и 24% соответственно, а 0,5 мМ CdCl<sub>2</sub> – на 35%, 45% и 53% соответственно.

Мы впервые исследовали механизмы воздействия кадмия на функцию сердечного миозина и показали, что кадмий в любой из форм оказался способен ухудшать функцию

сердца на молекулярном уровне. А понимание конкретных механизмов его токсичности в будущем позволят разрабатывать меры профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, вызванных загрязнением среды тяжелыми металлами.

*Финансовая поддержка: грант Российского научного фонда № 22-74-00128.*

1. Gerzen O.P. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V.24, № 13. P.10579.
2. Ma S. et al. // Environ. Sci. Pollut. Res. 2022. V.29, № 2. P.1836–1844.
3. Peters J.L. et al. // Environ. Res. 2010. V.110, № 2. P.199–206.
4. Suwazono Y. et al. // Biomarkers. 2009. V.14, № 2. P.77–81.

## **НЕЙРОГИПОФИЗАРНЫЙ ГОРМОН ВАЗОПРЕССИН В МЕХАНИЗМАХ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ АГРЕССИИ**

Правицова П.Д.<sup>1</sup>, Кожемякина Р. В.<sup>1</sup>, Науменко В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Агрессия, как поведенческий паттерн, является по сути адаптивным звеном, способствуя как внутривидовой, так и межвидовой конкуренции в контексте борьбы за существование, исследования механизмов регуляции которой может внести ясность в понимание ее природы, а также помочь в поиске методов коррекции, связанных с ней аномалий поведения. Генотип играет значительную роль в формировании агрессивности, неосознанный отбор на низкий уровень которой по отношению к человеку в первобытные времена, как предположил Д.К. Беляев, является существенным при доместикации [1]. В продолжении эксперимента по доместикации лисиц в г.Новосибирске было предпринято исследование по целенаправленному «одомашниванию» серых крыс (*Rattus Norvegicus*), результатом которого стало выведение ручной линии и крыс с высоким уровнем генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией. Полученные две линии крыс с различной степенью агрессивности – экспериментальная модель данной работы в контексте изучения нейрональных механизмов агрессивного поведения.

Большое количество данных указывает на значимость специфических гормональных и нейротрансмиттерных систем, участвующих в регуляции агрессивного поведения. Нейрогипофизарный гормон аргинин-вазопрессин (ВП) изначально определялся как основной фактор регуляции водно-электролитного гомеостаза, при этом позднее было установлено его участие в качестве нейромодулятора ЦНС в регуляции различных форм социального поведения, в том числе агрессии. Поскольку высвобождение ВП в пределах латеральной перегородки фиксируется после акта межсамцовой агрессии у крыс [3], не вызывает сомнений участие данного гормона в механизмах регуляции агрессивных паттернов поведения, при этом остается открытым вопрос о его роли в формировании и контроле защитно-оборонительного варианта агрессии. Основная цель работы – исследование уровня секреции гормона ВП и его гидроосмотического эффекта у крыс с различным уровнем генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией.

У высокоагрессивных крыс методом ИФА установлено существенное повышение уровня ВП в сыворотке крови на фоне значительного увеличения показателя ее осмоляльности ( $289 \pm 1$  мОсм/ кг H<sub>2</sub>O – ручная,  $309 \pm 2$  мОсм/ кг H<sub>2</sub>O – агрессивная линия,  $F_{1,14} = 49.2$ ,  $p < 0.000006$ ), уровень которой, как известно, является индикатором секреции гормона ВП. При этом несмотря на увеличенный уровень секреции ВП у высокоагрессивных крыс зафиксирована диуретическая реакция: увеличение скорости мочеотделения при снижении реабсорбции осмотически свободной воды. По-видимому, снижение эффективности осмотического концентрирования приводит к повышению осмоляльности внеклеточной жидкости и стимуляции секреции ВП. Вместе с тем мы предполагаем, что повышенный базальный уровень секреции ВП обусловлен нарушениями механизмов обратной связи на уровне эффектора, почки. ВП реализует свой антидиуретический эффект не только посредством

регуляции реабсорбции воды, но также путем контроля проницаемости внеклеточного матрикса, влияя на гиалуронидазную активность [2]. У агрессивных крыс методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени установлено существенное снижение в почечной медулле экспрессии гена *Hyal2*, кодирующего фермент метаболизма основного компонента почечного интерстиция, гиалуронана. Вместе с тем уровень экспрессии гена *Aqp2*, кодирующего ВП-регулируемый тканеспецифичный водный канал AQP2, не имел межлинейных различий как в корковом, так и мозговом веществе почки. Исходя из этого, можно предположить о нарушении ВП-зависимой регуляции внеклеточной проницаемости почечной медуллы для диффузии воды и ионов, что приводит к снижению проявления гидроосмотического эффекта ВП.

Таким образом, у крыс с генетически детерминированной агрессией впервые установлено повышение базального уровня секреции ВП, что, как полагаем, является следствием снижения эффективности осмотического концентрирования при нарушении проницаемости внеклеточного матрикса почечной медуллы. В перспективе мы предполагаем, что подавление секреции ВП может привести к снижению уровня агрессивности.

1. Belyaev D.K. 1979. // J Hered. V.70. P.301-308.
2. Ivanova L.N., Babina A.V., Baturina G.S., et al. 2013. // J. Exp Physiol. V. 98. P.1608-1619.
3. Lukas M., de Jong, T.R. 2017. // Current topics in behavioral neurosciences.V.30. P. 3-24.

## АДАПТАЦИЯ МЕТОДА ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТРУКТУР МОЗГА У БЕЛОЙ МЫШИ

Проничев И.В.<sup>1</sup>, Марыльцева Ю.Н.<sup>1</sup>, Калмыкова П.А.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Удмуртский государственный университет, Ижевск

Одной из приоритетных задач при исследовании функционирования нервных сетей и отдельных клеток выступает визуализация тканевых структур. В данном случае определяющим фактором результативности исследований является получение изображений высокого качества. Непрозрачность ткани ограничивает глубину визуализации и затрудняет достижение высокого разрешения изображений в микроскопии. За последнее десятилетие было предложено множество методов оптического просветления ткани, предоставляющих мощные инструменты для визуализации тканей большого объема. Стоит отметить, что используемые методы обладают рядом недостатков, одним из которых является низкая скорость просветления ткани [1, 3].

На данный момент один из самых перспективных способов очистки тканей – это метод сверхбыстрого оптического просветления с применением формамида, известный как Clear T, и Clear T<sup>2</sup>, в составе которого формамид и полиэтиленгликоль (ПЭГ) [2]. Однако, на сегодняшний день в доступной литературе недостаточно информации о совместимости данного метода с импрегнацией серебром, а также с другими широко распространенными рутинными методами окраски нервной ткани.

В связи с этим, было проведено исследование, **целью** которого стало адаптация метода сверхбыстрой очистки нервной ткани для совместного использования с рутинными методами окраски. В качестве метода окрашивания нервной ткани была выбрана импрегнация нитратом серебра по Гольджи. Совмещение данного метода окрашивания с оптическим просветлением было применено для визуализации нервной ткани на примере неокортекса белой мыши.

Исследования были проведены на 15 половозрелых мышах разного пола весом 25-30 г. Животные содержались в стандартных условиях с обеспечением свободного доступа к пище и воде и поддержанием комнатной температуры. Животным вводили летальную дозу Золетила 100, после чего проводили транскардиальную перфузию с помощью 20 мл физиологического раствора и 40 мл фиксирующего раствора, в качестве которого использовался 10%-ный нейтральный формальдегид. Осуществлялась декапитация и извлечение мозга. Образцы,

предназначенные для оптического просветления, помещались в раствор 10-% нейтрального формальдегида на сутки для дальнейшей фиксации. Далее были изготовлены серийные срезы головного мозга толщиной 40 мкм на замораживающем санном микротоме. После извлечения часть образцов мозга была импрегнирована серебром по методу Гольджи. Полученные препараты исследовали с помощью микроскопа МикМед 6 Ломо в программе TopView. При погружении импрегнированных срезов в 100% формамид наблюдалось визуальное просветление ткани среза через 10 минут. Более того, после просветления наблюдалось повышение качества изображения, на срезах отмечается более однородная оптическая среда, очертания тел и отростков нейронов выявляются более четко. Оптическое просветление в 100% формамиде срезов после импрегнации увеличивало глубину визуализации и позволяло наблюдать картину хода отростков на большей глубине среза.

Таким образом, метод сверхбыстрой очистки при совместном использовании с импрегнацией по Гольджи может позволить добиться более качественных изображений с увеличением глубины визуализации.

1. E. C. Costa et al. // Optics and Laser Technology. – 2018. – Vol.106. – P.94–99.
2. T.Kuwajima et al. // Techniques and resources. – 2013. –Vol. 140. – P. 1364–1368.
3. Tomer, R., Ye, L., Hsueh, B. & Deisseroth, K. // Nature Protocols. – 2014. –Vol. 9. – P. 1682–1697.

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ КИСЛОЙ СФИНГОМИЕЛИНАЗЫ С ИЗМЕНЕНИЯМИ ФЕНОТИПА И КПП-СИГНАЛЛИНГА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ**

Протопопов В.А.<sup>1</sup>, Секунов А.В.<sup>1</sup>, Омелюхина Д.В.<sup>1</sup>, Брындина И.Г.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, Ижевск*

Известно, что функциональная разгрузка постуральных мышц сопровождается трансформацией фенотипа, увеличением церамида, конечных продуктов гликации (КПП) и их сигналинга. Однако взаимосвязь сфинголипидных механизмов с регуляцией КПП-ассоциированных процессов и мышечной пластичности к настоящему моменту не изучена.

**Цель исследования.** Изучить зависимость механизмов трансформации мышечного фенотипа, активных форм кислорода (АФК) и сигналинга КПП от церамид-ассоциированных механизмов на фоне функциональной разгрузки в течение 7 дней.

Крыс-самцов подвергали антиортостатическому вывешиванию (АОВ) в течение 7 дней, часть животных на фоне АОВ получали блокатор кислой сфингомиелиназы (ASM) амитриптилин, третья группа крыс служила контролем. Для оценки степени атрофии изучали относительную массу мышц и диаметр мышечных волокон. На гистологических срезах камбаловидной мышцы были исследованы уровни ASM, церамида, быстрые и медленные формы миозинов, АФК, НАДФН-оксидазу 2 (NOX2), MyoD1, КПП и их рецепторы (RAGE) (флуоресцентная микроскопия). Методом вестерн-блоттинга определяли NOX2, RAGE и КПП-модифицированные протеины. На модели *ex vivo* исследовали влияние КПП на уровень MyoD1 в миоцитах путем инкубации мышцы с экзогенными КПП.

Функциональная разгрузка сопровождалась уменьшением относительной массы *m.soleus*, диаметром мышечных волокон, а также трансформацией фенотипа от «медленного» к «быстрому». В тоже время на фоне разгрузки в мышечных волокнах достоверно были увеличены уровни ASM, церамида, АФК, NOX2, КПП и RAGE, а также MyoD в области миоцита (флуоресцентная микроскопия). Общее содержание RAGE в гомогенатах также значительно увеличивалось на фоне разгрузки, а NOX2 и КПП-модифицированные белки оставались без значимых изменений. Амитриптилин на фоне разгрузки частично нивелировал потерю относительной массы мышц и уменьшение диаметра мышечных волокон, достоверно

уменьшая соотношение быстрых волокон к медленным по сравнению с группой разгрузки без препарата. В то же время на фоне амитриптилина наблюдалось достоверное снижение уровней ASM, церамида, АФК и RAGE, а также тенденция к снижению MyoD1. Инкубация мышц с экзогенным КПП в модели *ex vivo* приводит к достоверному увеличению MyoD1 в области миоядер.

Согласно результатам исследования, мы предполагаем, что активация кислой сфингомиелиназы на фоне разгрузки может способствовать MyoD1-ассоциированной трансформации «медленного» фенотипа волокон камбаловидной мышцы в «быстрый» посредством увеличения продукции АФК, способствующих стимуляции сигнальных путей RAGE.

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (проект № 23-25-00420).*

1. Protopopov V.A., Sekunov A.V., Panov A.V., Bryndina I.G. // Acta Biomedica Scientifica. 2024. V.9(2). P.228-242.
2. Egawa T, Kido K, Yokokawa T, et al. // Acta Astronaut. V.20 (21). P.5462.

### **ПОТЕНЦИАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕПРЕССОРА ТРАНСКРИПЦИИ ТВХ3 В НЕОНАТАЛЬНЫХ КАРДИОМИОЦИТАХ КРЫСЫ НАПРАВЛЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ И УСИЛИВАЕТ ПРОПЕЙСМЕКЕРНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК**

Пустовит О.Б.<sup>1</sup>, Кархов А.М.<sup>1,3</sup>, Анисенко А.Н.<sup>2</sup>, Поташникова Д.М.<sup>1</sup>, Кузьмин В.С.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

<sup>3</sup> *ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России,*

Сердечно-сосудистые заболевания являются лидирующей причиной смертности в мире. Как известно [1], в основе генерации электрического возбуждения в сердце лежит правильное функционирование и регуляция пейсмекерных клеток – водителей ритма. Дисфункция пейсмекеров ведет к одной из ведущих причин сердечной недостаточности – аритмиям. Поиск терапевтических подходов, направленных на исследование и разработку пейсмекерподобных клеточных структур, представляется актуальным в фундаментальной и прикладной науке [2]. В работе использованы энзиматически изолированные неонатальные кардиомиоциты крыс, полученные из желудочков сердец однодневных крысят. Первичные митотически-активные клеточные клоны подвергались селекции при помощи проточного сортирования с использованием митохондриальных красителей. Качество отделения жизнеспособных кардиомиоцитов определяли по включению в первичную культуру клеток с высоким и низким содержанием митохондрий. Трансдукции кардиомиоцитов производили при помощи вектора на основе лентивирусных инактивированных частиц, содержавших генетическую конструкцию для экспрессии ТВХ3 в эукариотических клетках. Эффективность трансдукции верифицировали по флуоресценции GFP, регистрируемой в клетках, обработанных векторной лентивирусной конструкцией. В работе оценивали уровень экспрессии транскрипционного фактора ТВХ3 в клетках дикого типа, а также в клетках после трансдукции, используя специфические АТ методом вестерн-блоттинга. Определяли локализацию ТВХ3 в клетках дикого типа и трансдуцированных клетках методом конфокальной микроскопии.

Для оценки сдвигов электрофизиологического фенотипа в культурах кардиомиоцитов проводили мРНК секвенирование ТВХ3-трансдуцированных образцов и образцов дикого типа. На основе результатов секвенирования определяли уровень экспрессии генов мембранных ионных каналов, обуславливающих автоматизацию, трансмембранный перенос ионов кальция и хлора, внутриклеточный круговорот ионов кальция, генов, определяющих внутриклеточный уровень цАМФ, генов белков щелевых контактов, а также экспрессию генов

миокардиальных транскрипционных факторов, генов основных мембранных G-белковых рецепторов. Сопоставляли экспрессию вышеуказанных генов в клетках дикого типа (5 сут/культивации), трансдуцированных клетках (5 сут культивации, 72 ч после трансдукции), а также в кардиомиоцитах нативного пейсмекера (сино-атриального узла - САУ) взрослых крыс.

Для выявления пропейсмерного сдвига при дифференцировке кардиомиоцитов проводили функциональные эксперименты с культивируемыми клеточными слоями, включающими псевдомиокардиальные кластеры. В частности, определяли долю кластеров клеток, демонстрирующих сократительную активность; определяли продолжительность периода сохранения автоматической механической (сократительной) активности кластерами культивируемых трансформированных кардиомиоцитов и кардиомиоцитов дикого типа. С помощью кальциевого зонда Fluo-4AM определяли долю клеток в кластерах диких и трансформированных кардиомиоцитов, демонстрирующих спонтанные высокоамплитудные и низкоамплитудные колебания цитоплазматической концентрации кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ).

Установлено, что культивируемые неонатальные кардиомиоциты дикого типа существенно отличаются по профилю экспрессии ключевых генов, вовлеченных в формирование пейсмерного электрофизиологического фенотипа (*Nppa*, *Gja1*, *Gja5*, *Scna5*, *Kcnj2*, *Kcnj12*, *Hcn4*, *Gjc3*, *Cacna1g*, *Cacna2d2*), а также по профилю транскрипционных факторов (*ТВХ3*, *ТВХ5*, *ТВХ18*, *ТВХ20*, *Shox*) от клеток нативного, доминантного ритмоводителя сердца. Культивируемые кардиомиоциты дикого типа демонстрируют существенно сниженный уровень экспрессии (нормированное количество прочтений мРНК) генов *HCN4*, *CaV1.3*, *CaV3.1*, *Sч 45*) по сравнению с кардиомиоцитами САУ. Потенциация экспрессии ТФ *ТВХ3* в культивируемых неонатальных кардиомиоцитах существенно смещает профиль ключевых генов, способствуя проявлению и поддержанию пропейсмерного фенотипа. В частности, трансдукция *ТВХ3* приводит к увеличению доли активных кластеров кардиомиоцитов, увеличению продолжительности периода сохранения автоматической активности в культивируемых клеточных конгломератах. Кроме того, трансдукция *ТВХ3* способствует увеличению доли клеток, демонстрирующих спонтанные колебания  $[Ca^{2+}]_i$ .

Таким образом, искусственная, направленная потенциация экспрессии репрессора *ТВХ3* приближает электрофизиологический фенотип культивируемых неонатальных кардиомиоцитов к фенотипу клеток, способных к спонтанной, автоматической активности и являющихся структурной основой ритмоводителя и проводящей системы сердца.

*Работа поддержана грантом РФФИ №24-75-00023.*

1. Lakatta EG. // Heart Rhythm. 2010. V. 7(4). P. 559-564.
2. Reinlib L, Field L. // Circulation. 2000. V. 101(18). P.182-187.

## **СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ**

**Пшемьский М.А., Лебедева Е.А, Гусакова В.С., Гущин Е., Гусакова С.В.**

*Сибирский государственный медицинский университет, Томск*

Стрессовые воздействия, особенно связанные с длительным иммобилизационным стрессом, могут существенно изменить сосудистую реактивность и привести к развитию различных патологических состояний [2]. Сосуды являются первым звеном, принимающим на себя негативные стрессорные воздействия. Легочная артерия, как один из ключевых элементов сосудистой системы, подвергается значительным изменениям в ответ на стрессовые факторы, что делает необходимым глубокое изучение данного процесса. В данной работе рассматривалось влияние 12- и 24-часового стресса на сократительную активность гладкомышечных клеток легочной артерии крыс [1].

В качестве объекта исследования были использованы изолированные гладкомышечные сегменты легочной артерии аутбредных самок крыс Вистар. Стресс моделировали с помощью

12- и 24-часовой иммобилизации в положении на спине. После стрессового воздействия сосудистые сегменты изолировали и исследовали сократительную активность на фоне действия фенилэфрина (0,01-100 мкМ) и ацетилхолина (0,01-100 мкМ).

Результаты показали, что 12-часовой стресс приводит к снижению сократительной активности легочной артерии, вызванной фенилэфрином в концентрации 0,1 и 1 мкМ, тогда как 100 мкМ фенилэфрина в этих условиях вызывают достоверное увеличение амплитуды сокращения, по сравнению с контролем. В группе 24-х часового стресса не происходило изменения фенилэфрин-индуцированного сокращения до 10 мкМ фенилэфрина и наблюдалось достоверное снижение амплитуды сокращения на 100 мкМ фенилэфрина. Отличия в группах 12- и 24-часового стресса обнаружены только при действии фенилэфрина в концентрациях 0,1 и 100 мкМ, причем для 0,1 мкМ фенилэфрина наблюдается однонаправленный эффект, с более выраженным снижением амплитуды сокращения после 12-часового стресса, тогда как для 100 мкМ фенилэфрина 12- и 24-часовой стресс оказывает разнонаправленный эффект. Аналогичное исследование было проведено на сосудистых сегментах легочной артерии крысы. Было выявлено, что 12-часовое воздействие стресса приводит к усилению вазорелаксации сегментов легочной артерии крысы под действием 0,1, 10 и 100 мкМ ацетилхолина. Однако в группе животных, подвергшихся воздействию 24-часового стресса, наблюдалось снижение вазорелаксирующего эффекта 10 мкМ ацетилхолина на сегменты легочной артерии крысы. Полученные результаты подтверждают важность продолжительности стрессового воздействия как ключевого фактора в изменении реактивности сосудов легочной артерии, что подчеркивают необходимость разработки стратегий для предотвращения неблагоприятных последствий хронического стресса для здоровья сердечно-сосудистой системы.

1. Гуцол Л.О., Гузовская Е.В., Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. // Байкальский медицинский журнал. 2022; 1(1): 70-80.
2. Эбзеева Е.Ю., Остроумова О.Д., Миронова Е.В., // МС. 2022. №23.

## **ТИОКТОВАЯ КИСЛОТА УВЕЛИЧИВАЕТ БАРЬЕРНЫЕ СВОЙСТВА ТОЩЕЙ КИШКИ МЫШЕЙ MDX**

Разговорова И.А.<sup>1</sup>, Федорова А.А.<sup>1</sup>, Марков А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

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

Миодистрофия Дюшенна (МДД) – это генетическое заболевание, связанное с потерей дистрофина, который связывает сократительные белки мышечного волокна через трансмембранный дистрофин-ассоциированный белковый комплекс с внеклеточным матриксом. Полное или частичное отсутствие этого важного белка приводит к изменению сарколеммы, некрозу мышечной ткани, и, как следствие, развитие миодистрофии. Одновременно с этим отмечается развитие хронического воспаления, сопровождающееся инфильтрацией клеток врожденной иммунной системы ткани скелетных и гладких мышц. Это в частности выражается в снижении перистальтики желудочно-кишечного тракта, а также появлению отека. Развитие отека может быть связано с дисфункцией тканевого барьера. Увеличение числа и активности иммунных клеток приводит к повышению уровня цитокинов и может влиять на барьерную функцию кишечника (1). В основе барьерных свойств эпителия тощей и толстой кишки лежит комплекс белков плотных контактов, молекулярное разнообразие которых определяет специфичность межклеточного транспорта (2). Таким образом, необходимо изучение молекулярных компонентов тканевого барьера кишки при МДД.

Тиоктовая кислота является эндогенным органическим высокоактивным соединением, которое выступает как жизненно важный кофактор нескольких ферментов. Известно, что

тиоктовая кислота обладает антиоксидантным и противовоспалительным действием. Основываясь на ее свойствах, препараты тиоктовой кислоты используются для восстановления повреждений эпителия кишечника (3). Однако молекулярные механизмы возможного действия тиоктовой кислоты на восстановление функций эпителия остаются не исследованы.

**Целью** данного исследования являлась оценка барьерных свойств тощей и толстой кишки у животных с потерей дистрофина при действии тиоктовой кислоты.

В работе были исследованы мыши mdx (животная модель миодистрофии Дюшенна с полной потерей длинной цепи дистрофина, n=10) и C57Bl/6 (n=10) в качестве контроля. В опытной группе обеих линий животных проводили внутривенные инъекции раствора тиоктовой кислоты 100 мг/кг ежедневно на протяжении 14-ти дней. В контрольной группе животных вводили 0,9% NaCl в эквивалентном объеме. На 15-й день ткань тощей и толстой кишки извлекали и монтировали в камеру Уссинга, в которой проводили оценку следующих электрофизиологических параметров: трансэпителиальное сопротивление (ТЭС) и ток «короткого замыкания».

ТЭС — это параметр, который отражает процессы как парацеллюлярного, так и трансцеллюлярного транспорта в эпителии. ТЭС эпителия тощей кишки не изменялось по сравнению с контролем. Однако предварительное введение тиоктовой кислоты приводило к достоверному увеличению в два раза ТЭС этого сегмента кишки в группе mdx по сравнению с контролем ( $p < 0.001$ , однофакторный дисперсионный анализ). Ток «короткого замыкания», отражающий процессы активного транспорта через эпителий, достоверно увеличивался в эпителии тощей кишки при предварительном введении тиоктовой кислоты как у C57Bl/6, так и у mdx ( $p < 0.05$ , однофакторный дисперсионный анализ). Изменения данных параметров в толстой кишке обнаружено не было.

Таким образом, впервые было показано, что барьерные свойства тощей и толстой кишки мышей mdx не отличаются от C57bl/6. Введение тиоктовой кислоты приводит к усилению барьерных свойств тощей кишки мышей, которые характеризуются потерей полноразмерного дистрофина (модель МДД).

1. Farini A., Tripodi L., Villa C. et al. // *EMBO Mol Med*. 2023. V.15. P.16244
2. Markov A.G., Aschenbach J.R., Amasheh S. // *IUBMB Life*. 2017. V.69. P.290-296
3. Yang Y., Xiao Y., Jiang Y. et al. // *Mediators Inflamm*. 2022. V.2022. P.1894379

## **РАБОТА ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ДОФАМИНА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**Ратманова П.О.<sup>1</sup>, Литвинова А.С.<sup>1</sup>, Павловский Ф.Н.<sup>1</sup>, Напалков Д.А.<sup>1</sup>, Богданов Р.Р.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>*Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт усовершенствования врачей, Москва*

Система управления движениями глаз имеет сложное, многоуровневое строение и объединяет стволовые структуры, верхнее двухолмие, базальные ганглии, фронтальное и дополнительное глазодвигательные поля, теменную кору и др. [3]. Естественными моделями изучения данной системы являются заболевания, затрагивающие различные уровни управления [5]. Например, болезнь Паркинсона (БП) – заболевание, связанное с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции, – приводит к нарушению функций базальных ганглиев, участвующих в программировании саккадических движений [2]. БП подразделяется на несколько стадий, различающихся выраженностью симптомов, что, в свою очередь, обусловлено разной степенью поражения структур головного мозга [1]. Представляло интерес выяснить, как изменяется работа определенных уровней глазодвигательной системы при данном заболевании. В связи с этим проводили анализ глазодвигательных реакций на

разных стадиях БП, а также анализировали потенциалы, предшествующие движениям глаз и являющиеся отражением активности коры головного мозга.

В исследовании приняли участие пациенты с диагнозом «идиопатический паркинсонизм» (I-II стадии по шкале Хен-Яра) и испытуемые без неврологической симптоматики. Ранее никто из пациентов с БП не получал специфической терапии. Во время проведения исследования участникам давали инструкцию фиксировать взгляд на центральном фиксационном стимуле, а при появлении одного из периферических (правый, левый, верхний или нижний целевой стимулы) как можно быстрее перевести взор в его направлении. Во время выполнения глазодвигательной задачи регистрировали электроокулограмму и электроэнцефалограмму (в отведениях F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>). Анализировали временные и амплитудные характеристики саккадических движений. Для выделения потенциалов головного мозга, предшествующих движениям глаз, проводили усреднение на отрезке 300 мс до и 1900 мс после появления центрального фиксационного стимула, включающих ожидание целевого стимула, подготовку и выполнение глазодвигательной реакции.

По сравнению со здоровыми испытуемыми у пациентов достоверно ( $p < 0.01$ , критерий Манна-Уитни) увеличиваются латентные периоды глазодвигательных реакций – время, необходимое на подготовку целенаправленных саккад; при наличии временной задержки между фиксационным и целевым стимулами снижается так называемый «гар-эффект»; значительно увеличивается количество гипометричных саккад, имеющих недостаточную амплитуду, из-за которых зрительная цель достигается не одним, а несколькими последовательными движениями.

Как известно, на I стадии заболевания основные симптомы БП проявляются на одной стороне тела, что связано с поражением преимущественно одной части черной субстанции. На II стадии в нейродегенеративный процесс вовлекается другая часть черной субстанции, что приводит к двустороннему проявлению двигательных симптомов [1]. Это дает основание предполагать аналогичную динамику развития глазодвигательных нарушений. Действительно, у пациентов с I стадией заболевания глазодвигательные нарушения латерализованы и зависят от стороны клинического дебюта БП ( $p < 0.01$ , критерий Манна-Уитни). На II стадии заболевания глазодвигательные нарушения прогрессируют и проявляются билатерально. При этом доля гипометричных саккад, по-видимому, является показателем, более адекватно отражающим нарушения функционирования базальных ганглиев, по сравнению с временными характеристиками глазодвигательных реакций.

Еще одним показателем, характеризующим работоспособность глазодвигательной системы при БП, являются корковые потенциалы, предшествующие выполнению саккад. Анализ раннего компонента негативного отклонения, развивающегося в период ожидания целевого стимула, показал, что этот компонент не различается между двумя группами, т.е. его изменения неспецифичны для БП [4]. В то время как более поздний компонент негативного отклонения у пациентов с БП аномально снижен, что может приводить к нарушению инициации движений при данном заболевании.

1. Бархатова В.П. // Экстрапирамидные расстройства: Руководство по диагностике и лечению. М.: МЕДпресс-информ, 2002. С.9-15.
2. Nikosaka O., Takikawa Y., Kawagoe R. // *Phis. Rev.* 2000. V.80. P.953-978.
3. Munoz D.P., Everling S. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. V.5. P.218-222.
4. Tzvetanov P., Lisichkov I., Rousseff R.T. et al. // *Innov. Clin. Neurosci.* 2022 V.19. P.71-76.
5. Willard A., Lueck C.J. // *Curr. Opin. Neurol.* 2014. V.27. P.75-82.

## СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР В РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ПЕРИОДАХ

Ребик А.А.<sup>1</sup>, Мидзяновская И.С.<sup>1</sup>

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

Исследования социального поведения интактных здоровых крыс важны для изучения фенотипа животных, используемых в группах сравнения в исследованиях в нейрофизиологии, геронтологии и фармакологии. Изучение социальной мотивации крыс может дать представление о нейронных, генетических факторах и факторах окружающей среды, влияющих на социальность млекопитающих. Ряд исследований, в той или иной степени, показывают изменения в социальном поведении крыс с возрастом [1, 2, 5]. Для нативных животных существуют исследования, которые показывают изменение социальной мотивации с угасанием с возрастом [2].

Получив большой опыт в тестировании разновозрастных крыс, было замечено, что социальное поведение обладает значительной вариативностью при прохождении тестов. Было решено провести исследование позволяющее изучить изменение социального поведения у интактных крыс в возрасте от 2 до 8 месяцев. В этот возрастной период животных чаще всего используют для проведения различных исследований [2].

В исследование проводилось на интактных самцы линии Вистар: 8 крыс в возрасте 2 месяцев, 16 крыс в возрасте 5 месяцев и, 10 крыс в возрасте 8 месяцев. Животные в виварий ИВНД и НФ РАН содержались по 4-6 особей в клетке со свободным доступом к пище и воде.

Для оценки социального взаимодействия был выбран «3-камерный тест на социальное предпочтение/социальную новизну» и «социально обогащенное открытое поле» [3]. Для описания общей активности и тревожности использовался тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Для трекинга использовалось программное обеспечение ToxTrac 2.98[4]. Основным статистическим методом оценки достоверности между группами был U-критерий Манна-Уитни.

Тест: «Приподнятый крестообразный лабиринт». С увеличением возраста крыс, наблюдается снижение уровня тревожности и двигательной активности. Наблюдалось снижение горизонтальной( $p=0,02$ ) и вертикальной активности( $p=0,01$ ) у 8-месячных крыс по сравнению с остальными возрастными группами; увеличение числа эпизодов короткого груминга( $p=0,02$ ), и эпизодов замирания( $p=0,005$ ) при укороченном среднем времени замирания ( $p<0,001$ ) у 2-месячных крыс. Время нахождения в закрытых рукавах( $p=0,008$ ) существенно не отличалось между 2- и 5-месячными крысами.

Тест: «Социально обогащенное открытое поле». Основным объектом анализа в тестах на социальность является контактное взаимодействие, выраженное в форме приближения морды свободноподвижной крысы к стимульному животному. 2-месячные крысы чаще вступали в контакт со стимульным животным( $p=0,011$ ). Однако суммарное время контакта для всех возрастных групп значимо не отличается.

В тесте на социальное предпочтение, число подходов к клетке со стимульным животным достоверно не различалось между возрастными группами. Однако у 5-месячных крыс суммарное время контакта( $p=0,023$ ) значимо меньше по сравнению с другими группами. В тесте на социальную новизну, 2-месячные животные чаще всего контактировали( $p=0,02$ ) с незнакомым стимулом, чем остальные крысы, но разницы в длительности контактов с незнакомым стимулом нет. Количество контактов со знакомым животным-стимулом существенно не отличалось.

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

2. Potrebić MS, Pavković ŽZ, Srbovan MM, et al // J Am Assoc Lab Anim Sci.2022Nov 1;61(6):615-623.
3. Rebik A, Broshevitskaya N, Kuzhuget S, et al. // Biomedicines.2023;11(9):2566.
4. Rodriguez A, Zhang H, Klaminder, et al. // Met in Ecology and Evolution. 2018;9(3):460-464.
5. Sudakov, SK, Alekseeva, EV, Nazarova, GA, et al // Animals. 2021;11(8):2282.

## **РОЛЬ УРОВНЯ 24-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА В РАЗВИТИИ ПТЗ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭПИЛЕПСИИ У МЫШЕЙ**

Россомахин Р.А., Ковалева Л.О., Яковлев А.В.

*«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»*

Холестерин является необходимым компонентом физиологии нейронов головного мозга не только во время развития организма, но также и во взрослой жизни организма. Основным метаболитом холестерина в головном мозге является 24-гидроксихолестерин (24-ГХ). Он образуется из холестерина при помощи фермента СУР46А1 семейства цитохромов Р450 в головном мозге и может проходить в кровоток через гематоэнцефалический барьер. Показано, что изменение уровня 24-ГХ может коррелировать с рядом нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, боковым амиотрофический склероз и эпилепсия. **Целью** исследования являлось оценка роли повышение или понижение концентрации 24-ГХ на когнитивные функции и в развитии эпилепсии индуцированной пентилентетразолом (ПТЗ) у мышей.

Эксперименты проводились на мышах 3 групп: контрольная группа (n=10), мыши со сниженным уровнем 24-ГХ (n=10); получавшие инъекции (i.p.) ингибитора фермента СУР46А1 – вориконазола (60 мг/кг); мыши с повышенным уровнем 24-ГХ (n=10) получавшие раствор эфавиренца (0.09 мг/кг) - модулятора фермента СУР46А1. Для моделирования эпилепсии использовалась модель химического киндлинга индуцированного введением подпороговой концентрации ПТЗ (35 мг/кг). Оценка судорожной активности проводилась по шкале Расина от 1 (иммобилизация) до 5 (тонико-клонические судороги). Оценка параметров кратковременной памяти производилась тестом «Распознавание нового объекта».

В контрольной группе на 10-12 день инъекций у 7 из 10 мышей развивались тонико-клонические припадки (4 и 5 стадия по шкале Расина). В группе мышей с пониженным уровнем 24-ГХ в мозге только в 4 из 10 случаев развивались полноценные тонико-клонические припадки к 13 дню. Длительность 4 и 5 стадий по шкале Расина достоверно снизилась, а латентный период развития эпилептических судорог достоверно увеличился по сравнению с контрольной группой.

В группе животных с повышенным уровнем 24-ГХ к 11 дню наблюдалось 100% (10 из 10 случаев) животных с тонико-клоническими припадками (5 стадия по шкале Расина), Длительность тонико-клонических припадков достоверно не отличалась от контрольной группы, но развитие 4 и 5 стадий эпилепсии происходило раньше по сравнению с контрольной группой.

Тест «Распознавание нового объекта» индекс отношения времени исследования нового объекта к времени исследования старого объекта показал, что у мышей с пониженной концентрацией 24-ГХ в мозге наблюдалось восстановление кратковременной и декларативной памяти после развития ПТЗ-индуцированной эпилепсии и не отличалась от параметров контрольной группы.

Таким образом, было показано, что изменение уровня 24-ГХ может влиять на степень развития ПТЗ-индуцированной эпилепсии у мышей.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММУНИЗАЦИИ К ОРЕКСИНУ-В НА БЕЛЫХ МЫШЕЙ

Рудько О.И.<sup>1</sup>, Джем А.П.<sup>1</sup>, Кокаева З.Г.<sup>1</sup>, Шепталина С.С.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Орексины – нейропептиды, которые участвуют в ряде физиологических функций, включая возбуждение, регуляцию сна, энергетический обмен, поведение, стресс, тревогу, страх, панику и контроль сердечно - сосудистой системы. Рецептор орексина 1-го типа (*Hcrtr1*) играет важную роль в поддержании бодрствования; рецептор 2-го типа (*Hcrtr2*) принимает участие в широком спектре функций, включая эмоции, вознаграждение и вегетативную регуляцию.

**Цель работы:** воспроизведение особенности работы рецепторов орексина 2 типа в условиях прижизненного аутоиммунного снижения уровня эндогенного орексина-В при помощи метода инверсной иммунорегуляции. Исследование влияния иммунизации на регуляцию пищевой мотивации, когнитивную деятельность, на общий эмоциональный фон животных, а также оценка транскрипционной активности экспрессионных мишеней орексина-В (генов *Hcrt*, *Hcrtr1*, *Hcrtr2*, *Bdnf*, *Oxt*, *Avp*, *Zif268*, *c-Fos*.) у мышей.

Работа выполнена на мышах, самках и самцах линии Balb/C. Для снижения эндогенного уровня орексина-В использован метод активной иммунизации к ковалентному конъюгату орексина-В с антигеном-носителем. Эффекты иммунизации оценивали в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), тесте Порсольта, при обучении в Y-образном лабиринте, УРАИ, тесте сужающейся дорожки, тесте фон Фрея и др. На протяжении всего эксперимента осуществлялся постоянный контроль потребления корма, веса и общего состояния животных.

Для определения уровня экспрессии генов-мишеней были использованы пробы тканей мышей (самки и самцы, линия balb/c, возраст 4 месяца), иммунизированных к орексину-В, и контрольных животных, по 4 точки от каждого животного (гипоталамус, гиппокамп, ретроспленальная кора, префронтальная кора) – всего 184 образца. Для всех выделенных образцов был определён уровень мРНК референсного гена *Gapdh*.

Нами впервые показано, что на фоне длительного хронического снижения уровня эндогенного орексина-В после активной иммунизации, у самок и самцов мышей линии balb/C отмечалась заторможенность моторных функций и сниженная двигательная активность на фоне отсутствия признаков тревоги в поведении в крестообразном лабиринте и открытом поле и депрессивных компонент в тесте Порсольта, что может свидетельствовать о седативном эффекте иммунизации. Оценён уровень пищевой мотивации иммунизированных животных на протяжении всего эксперимента. Отсутствие различий в динамике потребления корма и изменения массы тела между иммунизированными и контрольными группами позволяют предположить ведущую роль орексина-А, но не орексина-В в регуляции пищевого поведения. Впервые сопоставлены эффекты на поведение хронического искусственного повышения (парентеральное введение) и хронического снижения (активная иммунизация) уровня орексина-В в организме. Показано, что изменения в поведении животных на фоне иммунизации противоположны профилю при парентеральном курсовом введении, что позволяет использовать и курсовое введение и активную иммунизацию к орексину-В для дальнейших исследований эффектов пептида.

Получены результаты, свидетельствующие о нарушении когнитивных функций иммунизированных животных: обнаружено снижение длительности сохранения воспоминаний у животных, сопровождающиеся незначительным сенсомоторным дефицитом и косвенными признаками ангедонии. Данные поведенческие эффекты подкрепляются результатами биохимического анализа и изучения уровня транскрипционной активности генов-мишеней орексина *Hcrt*, *Hcrtr1*, *Hcrtr2*, *Bdnf*, *Oxt*, *Avp*, *Zif268*, *c-Fos*. Выявлено статистически значимое повышение транскрипционной активности генов *Bdnf*, *Avp* в гипоталамусе у самцов и гена *Hcrtr1* в ретроспленальной коре у самок и снижение экспрессии

генов *Bdnf*, *Hcrtr2* во фронтальной коре у самцов и снижение экспрессии генов: *Oxt* в гипоталамусе, *Hcrtr1* в гиппокампе, *Zif 268* во фронтальной коре у самок.

Таким образом, нами показано, что изменение функционирования *Hcrtr2* рецепторов путем иммунизации к орексину-В вызывает изменение транскрипционной активности исследуемых генов на всех уровнях нейрональной цепи «гипоталамус-RSC-гиппокамп-префронтальная кора», что позволяет предложить этот нейрональный путь как один из возможных путей реализации эффектов орексина-В.

Модель нарушения нейрокогнитивных функций, основанная на иммунизации животных к орексину-В может помочь в трансляционных исследованиях, а также в разработке и тестировании новых средств терапии нейродегенеративных заболеваний.

*Финансовая поддержка: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №22-25-00160).*

## **ЭНДОТЕЛИЙ-ЗАВИСИМАЯ ВАЗОРЕЛАКСАЦИЯ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ**

Сафарова А.Ш., Синельников М.М., Пшемьский М.А., Лебедева Е.А., Гусакова В.С.,  
Гусакова С.В.

*Сибирский государственный медицинский университет, Томск*

Во многих странах мира, в том числе и в России, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает лидирующие позиции [2].

Хроническое холодное воздействие приводит к возникновению различных сердечно-сосудистых реакций. Вследствие хронического холодного воздействия могут развиваться такие патологии, как: гипертрофия миокарда, артериальная гипертензия и др. Также было выявлено, что при хронической холодной адаптации проявляются инфаркт-лимитирующее, кардиопротекторное и другие положительные эффекты. Механизмы развития сосудистых реакций при воздействии холода изучены недостаточно. Исследование механизмов изменения сократительной активности сосудов при холодном воздействии может позволить по-новому взглянуть на лечение упомянутых ранее сердечно-сосудистых заболеваний [1].

Объектом исследования служили гладкомышечные сегменты лёгочной артерии крысы. Для исследования использовали сегменты лёгочной артерии интактных крыс и крыс, подвергшихся 14-ти и 28-дневному холодному воздействию.

Моделирование холодного воздействия: животных помещали в холодильную камеру на 14 и 28 суток. Температура в холодильной камере составляла +4°C. Сократительную активность гладкомышечных клеток лёгочной артерии оценивали методом механографии с применением установки Myobath II. Сократительные ответы вызывали путем аппликации фенилэфрина (ФЭ, 0,001-100 мкМ, Sigma-Aldrich), амплитуду которых принимали за 100%. Активацию эндотелиальной NO-синтазы вызывали ацетилхолином (АЦХ, 0,01-100 мкМ, Sigma-Aldrich). Статистическую обработку результатов исследования выполняли в программе SPSS Statistics 23. Достоверными считали различия при значении  $p < 0,05$ .

Было выявлено, что при 14-дневном воздействии холода аппликация 0,01-100 мкМ ФЭ приводила к дозозависимому увеличению амплитуды сократительной реакции легочной артерии, достоверно не отличающееся от аналогичного действия ФЭ на легочную артерию интактных крыс. У крыс, подвергшихся 28-дневному холодному воздействию, максимальный сократительный ответ легочной артерии наблюдался при действии 1 мкМ ФЭ, а дальнейшее увеличение концентрации ФЭ приводило к снижению амплитуды сократительного ответа. На сегментах легочной артерии, полученных от крыс, подвергшихся 14-дневному воздействию холода, было выявлено достоверное снижение вазорелаксирующего эффекта АЦХ, по сравнению с эффектом на легочную артерию

интактных крыс. Добавление АЦХ к сегментам, полученным от крыс, подвергшихся 28-дневному воздействию холода, приводило к дозозависимому снижению амплитуды ФЭ-индуцированного сокращения сегментов легочной артерии, однако достоверных отличий от действия АЦХ в контрольной группе интактных крыс не обнаружено. На основе полученных данных можно заключить, что холодовое воздействие в течение 14 дней не влияет на фенилэфрин-индуцированную сократительную активность легочной артерии, тогда как 28-дневное холодовое воздействие приводит к снижению способности сегментов поддерживать механическое напряжение при росте концентрации фенилэфрина. Холодовое воздействие в течение 14 дней снижает ацетилхолин-зависимое расслабление сегментов лёгочной артерии, тогда как 28-дневное холодовое воздействие не влияет на эндотелий-зависимую вазорелаксацию лёгочной артерии.

1. Н. С. Воронков, Н. В. Нарыжная, Ю. В. Бушов, др. // Успехи физиологических наук. – 2022. – том 53. – № 2. – С. 54–66.
2. РКО Стабильная ишемическая болезнь сердца // Клинические рекомендации. – 2023. – URL: [https://scardio.ru/content/Guidelines/Proekt\\_2023\\_SIBS.pdf](https://scardio.ru/content/Guidelines/Proekt_2023_SIBS.pdf) (дата обращения: 11.08.2024).

## **ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ, ВЕДУЩАЯ К АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ**

*Свешникова А.Н.<sup>1,2</sup>, Мартыянов А.А.<sup>1,2</sup>, Пантелеев М.А.<sup>1,2</sup>.*

*<sup>1</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, Москва*

*<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва*

Ключевым событием активации тромбоцитов – отвечающих за тромбообразование клеточных фрагментов крови – является изменение аффинности гетеродимерных гликопротеинов GPIIb-IIIa (интегрины  $\alpha IIb\beta 3$ ) к своему лиганду фибриногену. Известно, что благодаря способности к градуальной активации тромбоциты способны образовывать текучую часть тромба, «шубу», необходимую для экранирования ядра артериального тромба от потока крови [1]. Через мостики  $\alpha IIb\beta 3$ -фибриноген- $\alpha IIb\beta 3$  тромбоциты могут связываться друг с другом, образуя агрегаты – тромбы, перекрывающие повреждение или весь сосуд [2]. Для активации интегринов изнутри клетки (“inside-out”) необходимо изменение субклеточной локализации нескольких белков, основными из которых являются талин-1, киндлин-3, а также малая ГТФ-аза Rap1 [3]. В активации (замещении ГДФ на ГТФ) последней задействованы два вторичных мессенджера внутриклеточной сигнализации тромбоцита – ионы кальция и фосфатидил-инозитол-3,4,5-трисфосфат (PIP3) - появляющихся при активации тромбоцита.

**Целью** настоящей работы было экспериментальное наблюдение и компьютерное моделирование различных состояний активации тромбоцитарных интегринов  $\alpha IIb\beta 3$ .

Экспериментальное наблюдение проводилось в соответствии с принципами Хельсинской декларации. Использовались образцы крови здоровых взрослых добровольцев, предоставивших информированное согласие на проведение исследования. Наблюдение активации интегринов проводилось по связыванию фибриногена человека, конъюгированного с меткой Alexa-647. Для наблюдения кальциевой сигнализации использовался флуоресцентный зонд Fura Red. Наблюдения проводились с помощью проточной цитофлуориметрии FACS Canto II в непрерывном режиме или малоугловой флуоресцентной микроскопии Nikon Ti2. Компьютерное моделирование проводилось аналогично нашей предыдущей работе с помощью системы обыкновенных дифференциальных уравнений,

интегрируемой детерминистическим (LSODA) или стохастическом (метод тау-скачков) режимах [4]. Активация интегринов оценивалась по доле Rap1 в GTP-связанном состоянии.

В результате одновременного наблюдения кальциевой сигнализации и активации интегринов в разведенной в 100 раз суспензии тромбоцитов было получено несколько неожиданных результатов. Наблюдался изначально высокий уровень связывания фибриногена с тромбоцитами, который при активации изменялся в несколько раз, в то время как ожидание из литературы было изменение на несколько порядков [5]. Кроме того, появлялась субпопуляция клеток с высоким уровнем связывания фибриногена. В результате дополнительных экспериментов был сделан следующий вывод: связывание фибриногена с неактивированными тромбоцитами происходит из-за захода флуоресцентно-меченного фибриногена в открытую канальцевую систему тромбоцитов. Было показано, что связывание фибриногена с тромбоцитами двухфазно: первичное связывание обратимо и составляет 8-12% от максимального связывания. Вторичное связывание необратимо, может достигать 50-100% и, предположительно, вызвано кластеризацией интегринов. Наблюдалась корреляция между связыванием фибриногена и максимальной концентрации кальция при использовании одного и того же активатора (например, ADP), однако, при использовании различных активаторов корреляция пропадала.

Для теоретического описания полученных результатов в компьютерную модель был введен PIP3. Кластеры PIP3 в плазматической мембране связывают и инактивируют активатор GTPаз RASA3, инактивирующий Rap1GTP. Предложенная схема позволила объяснить получающиеся в эксперименте результаты.

Для экспериментального подтверждения было проведено одновременное наблюдение кальциевой сигнализации и связывания фибриногена с одиночными тромбоцитами. В результате экспериментов подтверждено, что при контакте с фибриноген-содержащей поверхностью активация интегринов происходит полностью и дальнейшее добавление активаторов влияет на концентрацию кальция в цитозоле, но не на количество связанного фибриногена. На поверхности, покрытой антителом к PЕСАМ-1, для неактивированных тромбоцитов наблюдается корреляция активации интегринов с концентрацией ионов кальция в цитозоле.

В результате работы можно сделать вывод, что первичная активация интегринов коррелирует с уровнем мобилизации кальция в тромбоците, однако, фосфоинозитидная сигнализация модулирует уровень корреляции, поэтому для различных активаторов зависимость активации интегринов от кальциевой сигнализации может быть выражена в большей или меньшей степени.

1. Stalker TJ, Traxler EA, Wu J, et al. // Blood 2013;121:1875–85.
2. Pantelev MA, Ananyeva NM, Ataullakhanov FI, et al. // Curr Pharm Des 2007;13:1457–67.
3. Bunch TA. Integrin // The Journal of Biological Chemistry 2010;285:1841–9.
4. Sveshnikova AN, Balatskiy A V., Demianova AS, et al // Journal of Thrombosis and Haemostasis 2016;14:2045–57.
5. Litvinov RI, Farrell DH, Weisel JW, et al // The Journal of Biological Chemistry 2016;291:7858–67.

## **ВОЗБУДИМОСТЬ МЕНИГЕАЛЬНЫХ АФФЕРЕНТОВ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА У КРЫС ЛИНИИ DAT-KO И КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНИЕЙ**

Свитко С.О., Ананьев А.С., Невский Е.С., Шайдуллова К.С., Ситдикова Г.Ф.

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, кафедра физиологии человека и животных, Казань*

Мигрень — распространенное неврологическое заболевание, характеризующееся интенсивной периодической головной болью. Головная боль при мигрени возникает из-за

активации тройнично-сосудистой системы, состоящей из ноцицептивных волокон, иннервирующих сосуды в твердой мозговой оболочке [3]. Эндогенные медиаторы, такие как АТФ и серотонин, играют роль в ноцицептивной сигнализации, однако молекулярные механизмы боли при мигрени остаются недостаточно изученными [2]. Повышенный уровень гомоцистеина (ГЦ) в плазме крови ассоциирован с более высокой частотой и тяжестью приступов мигрени [5]. Крысы с пренатальной гипер-гомоцистеинемией (гГЦ) продемонстрировали повышенную чувствительность в модели мигрени, вызванной нитроглицерином [1]. Крысы DAT-KO (dopamine transporter-knock out) — генетически модифицированная линия, используемая для изучения дофаминэргических расстройств; ранее эта линия не применялась для изучения роли дофаминэргической системы в механизмах ноцицепции при мигрени. **Цель работы** — оценка возбудимости менингеальных афферентов тройничного нерва у крыс с гГЦ и линии DAT-KO.

Эксперименты проводились на самцах (4–8 нед.) крыс линии Wistar (контрольная группа), линии DAT-KO и крыс группы гГЦ. В работе использовали электрофизиологический метод регистрации потенциалов действия (ПД) тройничного нерва, иннервирующего твердую мозговую оболочку в препарате полочерепа крысы [4]. Моделирование гипер-гомоцистеинемии осуществлялось через рождение потомства от крыс, которые ежедневно получали метионин в дозировке 7,7 г/кг рациона за три недели до и во время беременности. Для исследования возбудимости афферентных окончаний тройничного нерва использовалась аппликация различных концентраций KCl (5 мМ, 10 мМ, 25 мМ), которая вызывала деполяризацию мембраны и увеличивала частоту генерации ПД. Эффекты KCl не зависят от активации специфических ионных каналов или рецепторов, вовлеченных в ноцицепцию, и, следовательно, позволяют получить общую информацию о возбудимости мембраны. Данные представлены как частота ПД за 5 минут ± SE.

В контрольной группе животных, аппликация KCl 25 мМ приводила к достоверному повышению частоты ПД (контрольная частота 281.6 ± 59.7 ПД за 5 минут, после аппликации KCl – 816.6 ± 109.3, n=6, p=0.009). Аппликация KCl в концентрации 5 мМ не вызывала статистически достоверного увеличения частоты ПД (330.1 ± 33.3 ПД за 5 минут, n=6, p=0.2), как и аппликация KCl 10 мМ (495.5 ± 112.5 ПД за 5 минут, n=6, p=0.09). В группе животных с гГЦ, исходная частота генерации ПД была достоверно выше, чем в контрольной группе – 622.4 ± 31.3 ПД за 5 минут (n=7, p=0.003). В этой группе, аппликация минимальной концентрации KCl 5 мМ приводила к достоверному увеличению частоты ПД (до 1262.3 ± 120.2, n=7; p=0.042). Аппликация KCl 10 мМ также достоверно повышала частоту ПД (до 1202.1 ± 136.7; n=7, p=0.016), как и аппликация KCl 25 мМ (до 1396.7 ± 209.3; n=7, p=0.03). В группе DAT-KO животных, исходная частота ПД также была достоверно выше, чем в контрольной группе (956 ± 168.3 ПД за 5 минут; n=6; p=0.005). В этой группе также аппликация минимальной концентрации KCl 5 мМ привела к статистически значимому увеличению частоты ПД (до 1349 ± 169.5; n=6, p=0.036), как и аппликация KCl 10 мМ (повышение до 3364 ± 1562, n=6, p=0.03). Аппликация KCl 25 мМ в группе DAT-KO, напротив, не приводила к повышению частоты ПД (до 1175.5 ± 265.6; n=7, p=0.27).

В нашей работе, пороговая концентрация KCl, необходимая для достоверного повышения частоты ПД, составляла 5 мМ для групп DAT-KO и гГЦ и 25 мМ для контрольной группы животных. Менингеальные афференты тройничного нерва крыс линии DAT-KO и крыс из группы с гипергомоцистеинемией демонстрируют более высокую чувствительность к деполяризации при аппликации KCl, что указывает на повышенную возбудимость афферентных нервных окончаний. Полученные нами данные могут вносить вклад в понимание молекулярных механизмов участия дофаминэргической системы, а также аминокислоты гомоцистеин в развитии боли при мигрени.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 20-15-00100.*

1. Gerasimova E., Yakovleva O., Enikeev D. et al. // *Biomol.* 2022. V.12. P.735-739.
2. Giniatullin, R., Nistri, A. // *J Headache Pain.* 2023. V.24(1). P.1-15.

3. Goadsby P.J., Holland P.R., Martins-Oliveira M. et al. // *Physiol Rev.* 2017. V.97. P.553-622.
4. Koroleva K., Svitko S., Ananov A. et al // *Int J Mol Sci.* 2023. V.24(8). P.751-759.
5. Liampas I., Siokas V., Mentis A.F.A. et al. // *Headache.* 2020. V.60. P.1508–1534.

## **ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ГИППОКАМПА ВО ВРЕМЯ ТЕТА-СИНХРОНИЗАЦИИ У КРЫС**

Серков А.Н.

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

Синхронизация электрической активности префронтальной коры (ПФК) и гиппокампа (ГПК) на частоте тета-ритма (4-12 Гц) сопровождается различными видами когнитивной деятельности у животных и человека [3]. Ранее было показано, что функциональная сеть высокочастотной тета-синхронизации (8-12 Гц) во время выполнения условного рефлекса активного избегания включает широкий круг структур: вентральный гиппокамп, медиальную префронтальную кору, базолатеральную миндалину и другие [2]. Источником тета-ритма в этой сети является гиппокамп, а путь распространения включает как прямые проекции из гиппокампа, так и полисинаптические связи через базолатеральную миндалину [1]. Однако вопрос задействованности нейронов префронтальной коры, получающих возбуждающие моносинаптические проекции из вентрального гиппокампа, в тета-синхронизации остается неясным.

В данной работе исследовали вызванную популяционную активность пирамидных нейронов ПФК (оценивали амплитуду вызванного потенциала по перепаду N20 – P25), на которые приходят ипсилатеральные проекции ГПК (стимуляция одиночными импульсами длительностью 0,2 мс, диапазон амплитуд стимуляции 50-500 мкА), во время спонтанного движения у крыс в свободном поведении (n=5) и при выполнении условного рефлекса одностороннего избегания (n=3). Предварительно всем животным была проведена операция по вживлению электродов в ПФК (AP= +3 мм, L= 0,9 мм, H= 3-5 мм) и ГПК (AP=6.1 мм, L=5,5 мм, H=4,5 мм) [5]. Опыт состоял из двух экспериментов. В первом эксперименте в условиях свободного поведения во время бодрствования проводили стимуляцию гиппокампа попеременно при выраженном тета-ритме, сопровождавшем спонтанную двигательную активность, и его отсутствия в обеих структурах (межстимульный интервал составлял не менее 30 с). Записи ВП производили во всем диапазоне амплитуд стимуляции при которых наблюдали ответ в ПФК. Во втором эксперименте у предварительно обученных животных по методике [2] стимуляцию гиппокампа проводили во время выполнения реакции одностороннего избегания. Использовали серию тестовых импульсов (n=13, период предъявления 0,5 с), которые начинали подавать за 2 с до включения условного стимула (звук 8 кГц, 80 дБ). Записи ВП производили при амплитуде стимуляции, соответствующий 40% от амплитуды, вызывающей максимальный ответ.

В результате работы показано, что во всех экспериментальных случаях (n=8) амплитуда вызванных потенциалов, отражающих популяционную активность нейронов ПФК, получающих прямые входы из ГПК, были достоверно ( $p<0,05$ ) ниже на 5-10% (для амплитуд стимуляции, соответствующих вызванным потенциалам в диапазоне 80-100% от максимального ответа) в условиях спонтанного движения, чем при его отсутствии, и на 20-50% ниже при выполнении условного рефлекса избегания, чем в момент до его совершения (2 с до включения условного стимула). Ранее было показано, что как выполнение спонтанного движения [4], так и совершение выученной реакции одностороннего избегания [2] характеризуется выраженным тета-ритмом в ГПК и ПФК, что соответствует условиям тета-синхронизации. Таким образом, популяция готовых к активации пирамидных клеток префронтальной коры, получающих прямые проекции из гиппокампа, уменьшена во время тета-синхронизации. Это предполагает, что механизм генерации тета-ритма префронтальной

коры включает активацию дендритов пирамидных клеток, происходящую параллельно с активацией собственной сетевой активности тормозных интернейронов.

1. Майоров В.И., Серков А.Н. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2016. – Т. 66, № 3. – С. 334.
2. Серков А.Н., Серкова В.В., Майоров В.И. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2015. – Т. 65, № 2. – С. 230.
3. Backus A.R., Schoffelen J., Szebenyi S., et al. // Current Biology. 2016. V. 26. I. 4. P. 450-457.
4. Ledberg A, Robbe D. // PLoS One. 2011;6(11):e27575.
5. Paxinos G., Watson Ch. // London: Academic press, 2009. 198 p.

## **ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ МНОГОКРАТНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ У БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Симоненко С.Д.<sup>1</sup>, Пятявина О.И.<sup>1</sup>, Терешкина Е.Б.<sup>3</sup>, Себенцова Е.А.<sup>1,2</sup>, Левицкая Н.Г.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> *НИЦ «Курчатовский институт», Москва*

<sup>3</sup> *ФГБНУ Научный центр психического здоровья, Москва*

Нормобарическая гипоксия характеризуется снижением поступления кислорода в организм при нормальном атмосферном давлении и может приводить к необратимым повреждениям ЦНС. Одна из причин возникновения повреждений клеток в результате данного воздействия – это окислительный стресс. Уровень активности ферментов антиоксидантной системы глутатиона, в частности, глутатионпероксидаз (GPx), может служить маркером гипоксического воздействия на организм [5].

Нормобарическая гипоксия приводит к нарушению памяти и внимания, а также к повышению уровня тревожности у грызунов, что было показано при изучении последствий такого воздействия в различных моделях [2, 4]. Согласно клиническим данным, многократная нормобарическая гипоксия (МНГ) может вызывать нарушение когнитивных функций у пациентов с респираторными заболеваниями [3], а также у людей некоторых профессий (шахтеры, пожарные) [1]. В связи с этим изучение последствий многократного воздействия гипоксии на ЦНС в моделях на животных крайне актуально.

Исследование проводилось на самцах крыс Wistar в возрасте 2 («молодые») и 4 («взрослые») месяцев, которые были разделены на 2 группы: группа «контроль» и группа «гипоксия», по 15-19 животных в каждой группе. Крыс опытной группы подвергали МНГ (8% O<sub>2</sub>) в течение 5 последовательных дней по 2 часа ежедневно. Затем оценивали поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), сложном пищевом лабиринте (СПЛ), лабиринте Барнс и в тесте на выработку условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Часть крыс сразу после первого сеанса гипоксии или после пятидневной МНГ декапитировали и получали образцы крови для определения активности глутатионпероксидазы в плазме колориметрическим методом с реактивом Элмана.

Тест ПКЛ выявил статистически значимое влияние возраста крыс на исследовательскую активность: молодые крысы выходили на открытые рукава и заходили в закрытые чаше, чем взрослые. Воздействие МНГ привело к значимому снижению количества стоек и увеличению количества актов груминга у взрослых, но не у молодых крыс, а также к уменьшению числа заходов в темные рукава у крыс обоих возрастов на уровне тенденции. Эти результаты показывают, что МНГ привела к снижению исследовательской активности и повышению уровня тревожности у крыс, причём эффект ярче выражен у взрослых животных. Тест СПЛ показал снижение способности к обучению у взрослых крыс, подвергшихся МНГ, что выражается в значимом увеличении количества ошибок. Также МНГ поспособствовала увеличению времени выполнения реакции и снижению количества выполненных реакций на

уровне тенденции. У взрослых крыс в данном тесте МНГ привела к увеличению количества стоек, что также указывает на ухудшение запоминания – подвергавшееся гипоксии животное нуждается в дополнительных исследовательских актах, чтобы вспомнить лабиринт. Обучение в лабиринте Барнс не выявило отличий между группами крыс. В тесте УРПИ было выявлено влияние возраста крыс на многие параметры: латентный период захода в тёмный отсек был ниже у молодых крыс, чем у взрослых, а количество заходов и время, проведённое в тёмном отсеке – выше. Значимого влияния МНГ в этом тесте отмечено не было.

Активность глутатионпероксидазы в крови крыс была значимо выше после МНГ у 2-месячных крыс по сравнению с контрольной группой. У 4-месячных животных МНГ не влияла на данный параметр. Такие результаты могут говорить о повышенной антиоксидантной активности в крови молодых крыс по сравнению с взрослыми животными.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-25-00097.*

1. Angerer P., Nowak, D. // International archives of occupational and environmental health. 2003. V. 76(2). P. 87–102.
2. Fan J., Fan X., Li Y. et al. // Brain Res Bull. 2016. V. 122. P. 54-6.
3. Frank F., Faulhaber M., Messlinger K. et al. // Cephalalgia. 2020. V. 40 (14). P. 1561-1573.
4. Jänicke B., Schulze G. // Neurobiol Aging. 1987. V. 8 (6). P. 495-500.
5. Zhang X., Zhang X., Dang Z. et al. // Biomed Res Int. 2020. V. 2020. P. 3409679.

## СОДЕРЖАНИЕ ИОНОВ МАГНИЯ В КАРДИОМИОЦИТАХ ПРЕДСЕРДИЙ КРЫСЫ ПРИ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

Симонова Р.А.<sup>1</sup>, Бутова К.А.<sup>1</sup>, Мячина Т.А.<sup>1</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург*

Известно, что ионы  $Mg^{2+}$  принимают участие во многих клеточных процессах, включая цикл сокращения-расслабления и сопряжение возбуждения с сокращением кардиомиоцитов. При сопряжении возбуждения и сокращения антагонизм  $Mg/Ca$  возникает в результате прямого и непрямого взаимодействия  $Mg^{2+}$  с рианодиновым рецептором (RyR). В цитозоле кардиомиоцита  $[Mg^{2+}]_i$  на несколько порядков превышает  $[Ca^{2+}]_i$ , ионы  $Mg^{2+}$  эффективно конкурируют с ионами  $Ca^{2+}$  за связывание с RyR [3]. Фибрилляция предсердий (ФП) является одним из самых распространенных и опасных нарушений сердечного ритма. Развитие ФП связано с изменением  $[Mg^{2+}]_i$  в плазме крови. **Цель работы:** исследовать изменение  $[Mg^{2+}]_i$  в цитозоле кардиомиоцитов левого и правого предсердий (ЛП, ПП) крысы в норме и при ФП при изменении  $[Mg^{2+}]_i$  во внешней среде.

Эксперименты выполнены на самцах крыс линии Wistar возрастом 10 недели в соответствии с Директивой 2010/63/EU и одобрены Этическим комитетом ИИФ УрО РАН. В рамках метода крысы возрастом 9 недель подвергались серии инъекций в хвостовую вену в течение 7 дней раствором АЦХ- $CaCl_2$  (60  $\mu$ г/мл АЦХС1, 10 мг/мл  $CaCl_2$ ) в дозировке 1,3 мл/кг [5]. В возрасте 10 недель крысы группы ФП подвергались эвтаназии. Одиночные кардиомиоциты предсердий получали методом ретроградной перфузии сердца по Лангендорфу с модификациями [1].

Визуализация  $[Mg^{2+}]_i$  в цитозоле кардиомиоцитов выполнялась при помощи красителя Mag-Fluo-4 AM (Invitrogen, США). Для моделирования условий гипо-, гипер- и нормомагниемии окрашенная суспензия клеток инкубировалась в HEPES-содержащих буферах Тирод с 0 мМ, 7 мМ и 1 мМ  $[Mg^{2+}]_{ex}$ , соответственно, за 5 минут до начала регистрации. Измерения регистрировались при помощи системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (LSM 710, Carl Zeiss, Германия) при частоте электрической стимуляции 1 Гц при температуре раствора 30°C.

В контрольной группе медианные уровни цитозольного  $[Mg^{2+}]_i$  не различались между предсердиями, и ФП приводила к выраженному повышению уровня  $[Mg^{2+}]_i$  в цитозоле кардиомиоцитов обоих предсердий. При этом, в гипомагниевой среде уровень  $[Mg^{2+}]_i$  в кардиомиоцитах ЛП был достоверно выше, чем у ПП в контрольной группе, однако, эти различия нивелировались при ФП. В гипермагниевой среде различия в содержании цитозольного  $[Mg^{2+}]_i$  между ЛП и ПП отсутствовали в контрольной группе, но обнаруживались в группе ФП.

Для кардиомиоцитов ЛП обнаружено, что в условиях гипомагниемии ФП не влияет на уровень  $[Mg^{2+}]_i$  в цитозоле, тогда как при гипермагниемии  $[Mg^{2+}]_i$  в группе ФП превышала значения контрольной группы. В кардиомиоцитах ПП отмечалось вызванное ФП повышение  $[Mg^{2+}]_i$  относительно уровня контрольной группы при всех трёх концентрациях  $[Mg^{2+}]_{ex}$ .

Таким образом, ФП привела к появлению различий между ЛП и ПП в содержании цитозольного  $[Mg^{2+}]_i$  в условиях, имитирующих нормомагниемии. Причем, показано, что увеличение  $[Mg^{2+}]_i$  в большей степени происходит в кардиомиоцитах ЛП, что привело к появлению региональных различий в содержании  $Mg^{2+}$  между ЛП и ПП. При этом, ПП демонстрирует большую чувствительность к концентрации ионов магния во внешней среде по сравнению с ЛП и сохраняет её аналогичной контрольной группе при ФП.

*Работа выполнена на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН в рамках гос. задания № 122022200089-4.*

1. Butova, X. A., Myachina, T. A. and Khokhlova, A. D. // *MethodsX*. 2021.
2. Chen P.-S., Chen L. S., Fishbein M. C., et al. // *Circulation research*. – 2014. – V. 114, № 9. – P. 1500-1515.
3. Iaparov B., Baglaeva I., Zahradník I., et al. // *Frontiers in physiology*. – 2022. – P. 2504.
4. Linz D., Elliott A. D., Hohl M., et al. // *International journal of cardiology*. – 2019. – V. 287. – P. 181-188.
5. Zou D., Geng N., Chen Y., et al. // *Life Sciences*. – 2016. – V. 156. – P. 7-14.

### **ФЛУФЕНАМОВАЯ КИСЛОТА ПОДАВЛЯЕТ ЭПИЛЕПТИФОРМНУЮ АКТИВНОСТЬ В СРЕЗАХ ЭНТОРИНАЛЬНОЙ КОРЫ КРЫС ЗА СЧЁТ СНИЖЕНИЯ ВРЕМЕННОЙ СУММАЦИИ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ**

Амахин Д.В., Соболева Е.Б., Грязнова М.О., Зайцев А.В., Синяк Д.С.

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

Височная эпилепсия (ВЭ) - наиболее распространённая форма эпилепсии, характеризующаяся развитием спонтанных рецидивирующих судорог. Предполагается, что в условиях активации фосфолипазного сигнального каскада способность нейронов коры и гиппокампа генерировать  $Ca^{2+}$ -активируемый неселективный катионный ток ( $I_{CAN}$ ) имеет решающее значение для суммации глутаматергических синаптических потенциалов и генерации эпилептиформных разрядов [5].  $I_{CAN}$  проявляется после всплеска активности нейронов и последующего входа  $Ca^{2+}$  и лежит в основе таких явлений, как медленные следовые деполяризации и плато потенциалы [2,4]. Однако точная роль  $I_{CAN}$  генерации эпилептиформных разрядов остается малоизученной.

Работа выполнена методом «патч-кламп» на пирамидных нейронах переживающих срезов энторинальной коры 21-дневных крыс Вистар. Использовалась 4-аминопиридиновая (4-АП) модель эпилептиформной активности (ЭА) *in vitro*. Предполагается [1,3], что в энторинальной коре основными типами ионных каналов, опосредующих  $I_{CAN}$ , являются TRPM4 или TRPC4/5 ионные каналы. Данные типы каналов могут ингибироваться нестероидным противовоспалительным препаратом - флуфенамовой кислотой (Flufenamic acid, FFA).

Мы подтвердили противоэпилептический эффект FFA в 4-АП модели ВЭ. Аппликацию FFA проводили до и после начала генерации иктальных разрядов и оценивали их количество в течение 30 мин после применения FFA. Эффект FFA зависел от времени применения (K-W ANOVA,  $H = 14,8$ ;  $p < 0,001$ ). При предварительной аппликации FFA в раствор, содержащий 4-АП (предварительное применение), количество иктальных разрядов снижалось до 1 (0,1.75;  $n = 12$ ). Слабые иктальные разряды с нарушенной тонической фазой наблюдались в 5 из 12 записей. При аппликации FFA после 2-3 последовательных иктальных разрядах (отсроченное применение) среднее количество иктальных разрядов было значительно выше, чем при предварительном применении (3 (1,4);  $n = 11$ ). Таким образом, FFA эффективно подавляет генерацию иктальных разрядов в энторинальной коре.

Также мы показали, что FFA эффективно блокирует опосредованную TRP-каналами медленную следовую деполяризацию, оказывает слабую блокаду и замедляет кинетику вызванных внеклеточной стимуляцией синаптических токов (вПСТ), опосредованных ГАМК<sub>A</sub>-рецепторами, но не влияет на вПСТ, опосредованные NMDA-рецепторами. Несмотря на отсутствие прямого ингибирующего эффекта на NMDA-рецептор-опосредованные токи, FFA снижает суммацию NMDA-рецептор-опосредованных потенциалов, вызываемых пачечной внеклеточной стимуляцией, что сопоставимо с его действием на фазу инициации ИР. Данный факт свидетельствует о том, что именно блокада I<sub>CaN</sub>, развивающегося при подобной стимуляции, может быть ответственна за снижение эффективности суммации потенциалов в обоих случаях. Полученные результаты свидетельствуют о том, что FFA блокирует ЭА в энторинальной коре путем блокирования TRPM4-каналов и, как следствие, снижения эффективности временной суммации глутаматергических потенциалов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант 075-15-2024-548).*

1. Egorov A.V. et al // Hippocampus. 2019. V.29. P.1038–1048.
2. Kubista H., Boehm S., Hotka M. // International Journal of Molecular Sciences. 2019. V.20.
3. Lin E.C., Combe C.L., Gasparini S. Differential contribution of Ca<sup>2+</sup>-dependent mechanisms to hyperexcitability in layer v neurons of the medial entorhinal cortex // Front Cell Neurosci. Frontiers Media S.A. 2017. V.11
4. Schiller Y. // J Neurophysiol. 2004. V.92. P.862–872.
5. Zheng F., Phelan K.D. // Cells. 2014. V.3. P.288–303.

## **СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТОКОВЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ПРОЛАКТИНА В МОДЕЛИ БИЛИАРНОГО ПАНКРЕАТИТА САМОК КРЫС**

*Сиротина Н.С., Илиева Т.М., Смирнова О.В.*

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

В последнее время появляется все больше литературных данных, которые свидетельствуют о повышении экспрессии рецепторов половых гормонов в протоковых клетках печени и поджелудочной железы (ПЖ), коррелирующее с их пролиферативным статусом. Ранее в нашей лаборатории было показано с помощью иммуногистохимического окрашивания антителами, специфичными к крысиному общему рецептору пролактина, что в модели билиарного панкреатита на фоне гиперпролактинемии в ткани ПЖ самок крыс опытной группы помимо клеток островков Лангерганса красятся также протоковые клетки по сравнению с контрольной группой. **Целью** работы было выявление наиболее эффективного метода разделения протоковых клеток ПЖ для исследования экспрессии рецепторов пролактина в модели билиарного панкреатита у самок крыс. После анализа литературы было

найденно несколько различных подходов разделения протоковых клеток ПЖ крысы [1-5]. Эксперименты для проверки эффективности этих методов были проведены с соблюдением этических норм работы с животными. Для моделирования панкреатита проводили перевязку билиопанкреатического протока крысы за 1 см до его входа в двенадцатиперстную кишку. Забор ткани ПЖ осуществляли через две недели после операции. В результате работы был составлен новый протокол по ферментативному разделению протоковых клеток ПЖ у крыс в модели билиарного панкреатита. Качество и чистоту выделения протоковых клеток проверяли по экспрессии специфических генов-маркеров методом ПЦР-РВ. В качестве маркера протоковых клеток использовали мРНК цитокератина 19, также был проведен контроль качества разделения клеток при помощи автоматического счетчика клеток RWD C100. Изучение влияния пролактина через различные изоформы рецептора в основных и протоковых клетках органов гепатопанкреатобилиарной зоны до сих пор остается предметом фундаментальных исследований, которые указывают на то, что передача сигналов пролактина через свои рецепторы может играть ключевую роль в регуляции развития фиброза данных органов при различных нарушениях.

*Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300075-6.*

1. Chang R, Qin H, Liang Z, et al. // Ann Transl Med. 2020 Mar;8(6):320
2. Chen XC, Liu H, Li H, et al. // Genet Mol Res. 2016 Jun 27;15(2)
3. Hede SE, Amstrup J, Christoffersen BC, et al. // J Biol Chem. 1999 Nov 5;274(45):31784-91
4. Leng SH, Lu F.E., et al. // World J Gastroenterol. 2005 Nov 28;11(44):6968-74
5. Tél B, Papp N, Varga Á, et al. // Cell Mol Life Sci. 2023 Jan 7;80(1):31

## **ГОМОЦИСТЕИН КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ МИГРЕНИ: АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ**

Ситдикова Г.Ф.

*Казанский федеральный университет, Казань*

Гомоцистеин серосодержащая аминокислота, образуется в цикле метаболизма метионина, играющего ключевую роль в реакциях метилирования и образования субстрата (цистеин) для синтеза глутатиона. Уровень гомоцистеина в плазме тщательно контролируется путем реметилирования обратно в метионин с участием фермента метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR), требующего витамина B12 и фолиевую кислоту в качестве ко-факторов. Кроме того, гомоцистеин может связываться с серином с образованием цистатиона и сероводорода в реакции, использующей цистатионин бета-синтазу с витамином B6 в качестве ко-фактора. Генетические нарушения ферментов метионового цикла, дефицит витаминов группы B, избыток метионина в пище, почечная недостаточность, прием некоторых лекарственных препаратов приводят к повышению уровня гомоцистеина – гипергомоцистеинемии (гГЦ). Повышение уровня гомоцистеина является фактором сердечно-сосудистых заболеваний, нарушения развития в эмбриональном периоде, нейродегенерации [1]. Клинические данные указывают на связь гГЦ и мигрени, особенно мигрени с аурой [2].

В наших исследованиях проведен экспериментальный анализ связи гГЦ и развитии коррелятов мигрени с использованием экспериментальных моделей. Животных с гГЦ проявляли повышенную чувствительность к механическим стимулам, фотофобию и тревожность, что указывает на нарушения сенсорной чувствительности, также характерные для пациентов с хронической мигренью. В модели мигрени вызванной введением нитроглицерина крысы с гГЦ проявляли более быстрые изменения порогов механической чувствительности и времени, проводимого в светлой камере в тесте темно-светлая камера [4].

В модели мигрени с аурой крысы с гГЦ проявляли более низкие пороги для генерации и более высокую скорость проведения распространяющейся кортикальной депрессии (РКД), электрофизиологического коррелята ауры [5]. Более того, у крыс с высокими уровнями гомоцистеина в плазме при длительной генерации (120 мин) проведение повторных РКД нарушалось и приводило к повреждению соматосенсорной коры, что предполагает метаболические нарушения нейронов при гГЦ.

Анализ периферических механизмов мигрени показал повышение возбудимости афферентов тройничного нерва и нейронов, изолированных из тройничного ганглия крысы [6]. Кроме того, в условиях хронической гГЦ показано усиление электрической активности афферентов тройничного нерва и кальциевых ответов нейронов и сателлитных клеток на АТФ, что указывает на повышение экспрессии/активности ионотропных и метаботропных рецепторов в периферическом звене тройничного нерва, и может лежать в основе сенситизации. Наконец, нами показано усиление дегрануляции тучных клеток у крыс с гГЦ, что является дополнительным фактором способствующим нейрогенному воспалению в тригемино-васкулярной системе [6]. Повышение уровня маркеров воспаления и окислительного стресса наряду с нарушением гематоэнцефалического барьера при гГЦ также может способствовать развитию мигрени [7].

Таким образом, гГЦ в экспериментальных моделях повышает возбудимость как периферического звена тригемино-васкулярной системы, так и соматосенсорной коры к генерации РКД, что объясняет данные полученные в клинических исследованиях, и позволяет предложить гомоцистеин как один из биомаркеров мигрени, определение которого может прогнозировать появление головных болей, частоту и тяжесть приступов. Кроме того, подходы к снижению уровня гомоцистеина или нейтрализации негативных последствий гГЦ могут предотвратить коморбидные состояния мигрени с аурой, такие как ишемические повреждения мозга и мигренозный инфаркт.

*Работа поддержана грантом РФФИ №20-15-00100*

1. Musameh M.D., Fuller B.J., Mann B.E. et al. // Br. J. Pharmacol. 2006. V.149. P.1104-1112.
2. Ansari R, Mahta A, Mallack E, Luo JJ. // J Clin Neurol. 2014;10(4):281.
3. Liampas, I.; Siokas, V.; Mentis, A.F.A. et al. // Headache: The Journal of Head and Face Pain 2020, 60, 1508-1534.
4. Gerasimova, E.; Yakovleva, O.; Enikeev, D. et al. // Biomolecules 2022, 12,
5. Gerasimova, E.; Burkhanova, G.; Chernova, et al // Behavioural Brain Research 2021, 409, 113324
6. Ermakova, E.; Shaidullova, K.; Gafurov, O. et al // Headache 2024, 64, 533-546
7. Yakovlev, A.; Detterer, A.; Yakovleva O. et al. // Journal of Pharmacological Sciences 2024, 155, 131-139.

## **НЕИНВАЗИВНЫЙ НЕЙРОИНТЕРФЕЙС «СТЕРХ» НА ОСНОВЕ АЙТРЕКИНГА КАК АССИСТИВНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ КОММУНИКАЦИИ**

Шелепин Е.Ю.<sup>1</sup>, Скуратова К.А.<sup>1</sup>, Лехницкая П.А.<sup>3</sup>, Шелепин К.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУ "НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского" Минздрава России,

Институт когнитивных наук и нейротехнологий, Москва

<sup>3</sup>ООО "Нейроиконика", Санкт-Петербург

Нейрокомпьютерные интерфейсы способны значительно улучшить качество жизни пациентов с различной нозологией. Функционал современных нейроинтерфейсов позволяет осуществлять управление виртуальными курсорами, квадрокоптерами, роботизированными руками для захвата объектов, инвалидными колясками и экзоскелетными роботами [1]. Особый интерес представляет разработка нейрокомпьютерных интерфейсов для пациентов,

лишенных возможности коммуникации. Примерно 50 миллионов человек в мире нуждаются в подобных системах ассистивной коммуникации, при этом только 10 % имеют доступ к данной технологии; в Российской Федерации около 1,8 миллиона человек могут стать потенциальными пользователями [2]. Одним из способов заменить традиционный метод коммуникации - использование специальных карточек - является метод окулографии или айтрекинга. Данный метод основан на регистрации положения взгляда, а точнее, зрачков; перевода положения зрачков на плоскость записываемой поверхности. Реакция человека на зрительные стимулы, регистрируемая айтрекингом, это реакция всего организма. Появление любого сенсорного сигнала, вызывает как в центральной нервной системе, так и в исполнительных органах, в системах жизнеобеспечения наблюдателя [5]. Среди преимуществ айтрекинга можно выделить неинвазивность, высокую скорость обработки входного сигнала, легкость в установке и настройке камеры, записывающей движения глаз. Однако подобных систем коммуникации, разработанных для общения на русском языке, на данный момент крайне мало.

Аппаратно-программный комплекс ассистивной коммуникации “Стерх” включает управление курсором за счет перемещения взгляда, виртуальную клавиатуру, подсказки при наборе текста, команды быстрого вызова, экранную лупу; позволяет озвучивать текст, который пользователь набирает на виртуальной клавиатуре, работать с браузером, прокручивать окна, осуществлять управление умным домом [3]. При этом калибровка айтрекера занимает не более одной минуты.

Камера инфракрасного диапазона регистрирует движения глаз пользователя, устройство включает инфракрасную подсветку глазного яблока с длиной волны 850 нм, позволяющая сегментировать зрачок и радужную оболочку глаза. Принцип действия неинвазивного нейроинтерфейса заключается в следующем: камера записывает движения глаз, алгоритмы выделяют зрачок и отблеск подсветки, по их взаимному расположению определяют направление взгляда по отношению к экрану [4].

Разработка неинвазивных нейроинтерфейсов для ассистивной коммуникации представляется важной задачей для адаптации людей с ограниченными возможностями здоровья. Данные технологии не только упрощают общение пациента с родственниками, но и способствуют диагностике вследствие доступности пациента для сбора анамнеза медицинским персоналом.

1. Xu B. et al. //Mathematics. 2022. V.10 (4) P. 618.
2. Федоров А. А. //Инновационная наука. 2019. №. 4. С. 82-85.
3. Шелепин, К. Ю. // Биотехнические системы и технологии: Сборник статей конференции, Анапа, 18–19 сентября 2019 года. Анапа: Федеральное государственное автономное учреждение "Военный инновационный технополис "ЭРА", 2019. С. 46-50.
4. К. Ю. Шелепин, Е. Ю. Шелепин, А. А. Балякова // Приборы и техника эксперимента. 2020. № 1. С. 161-162.
5. Ю. Е. Шелепин, А. К. Хараузов, О. А. Вахрамеева [и др.] // Интегративная физиология. – 2021. Т. 2, № 4. С. 352-377.

## ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НАРУШЕНИЯ КОГНИТИВНОГО КОНТРОЛЯ ПРИ КЛИНИЧЕСКИ ВЫСОКОМ РИСКЕ ШИЗОФРЕНИИ

Славуцкая М.В.<sup>1,2</sup>, Лебедева И.С.<sup>2</sup>, Джем А.<sup>2</sup>, Павлов А.В.<sup>1</sup>, Омельченко М.А.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> *Федеральное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», Москва*

Актуальной проблемой современной нейронауки является изучение механизмов когнитивной регуляции процессов адаптивного поведения, и их нарушений при психической патологии. Особый интерес представляет собой исследование предиктивных процессов внимания, памяти и двигательной преднастройки, нарушения которых при шизофрении ассоциируют с дисфункцией префронтальной коры и дезорганизацией фронтально-париетальных сетей мозга [4]. Однако, нейронные механизмы опережающих процессов подготовки к ответному действию и их нарушений на раннем этапе шизофрении у больных с клинически высоким риском (КВР) заболевания остаются мало изученными.

**Цель работы:** изучить параметры ЭЭГ потенциалов, связанных с сигналом совершить саккаду по памяти, в парадигме «саккады/антисаккады по памяти» как возможных маркеров когнитивного контроля преднастройки к действию у здоровых испытуемых и больных с клинически высоким риском (КВР) шизофрении.

У 20 здоровых испытуемых и 20 больных с КВР шизофрении (МКБ-10: F32.1, F32.2, F32.38, F32.8) регистрировали ЭЭГ с 24 отведений и ЭОГ движений глаз. Использовали парадигму «саккады/антисаккады по памяти». Участники должны были запомнить местоположение периферического стимула (ПС, 150мс, 7 град. слева или справа от центра экрана) который предъявляли через 1000мс после включения центрального фиксационного стимула (ЦФС, 3900-4000мс). ЦФС имел вид крестика или кружка, сигнализирующих характер двигательного ответа (саккада или антисаккада, 50% вероятности). Через 2900-3000мс после включения ПС ЦФС выключали, что служило сигналом совершить соответствующий саккадический ответ в запомненном направлении. Оценивали параметры и топографию быстрых опережающих (ОП) и ранних вызванных компонентов потенциалов ЭЭГ (ВП), связанных с выключением ЦФС в интервале 300мс до и 200мс после его выключения.

Анализ поведенческих данных показал, что в группе больных с КВР наблюдалось снижение эффективности выполнения задания, что проявлялось в увеличении латентного периода ответов и числа ошибок по сравнению с группой нормы ( $p < 0.001$ ). Эти факты согласуются с представлениями о нарушении на ранних стадиях шизофрении исполнительных (регуляторных) функций, включающих процессы пространственного внимания, рабочей памяти и торможения [2, 5].

Выявлены некоторые межгрупповые различия параметров и топографии компонентов усредненной ЭЭГ, которые также позволяют предположить нарушение предиктивных процессов когнитивного контроля на ранней стадии шизофрении. У больных с КВР показано увеличение латентного периода компонентов ОП P-(минус)250 и N-150 по сравнению со здоровыми ( $p < 0.05$ ). Этот факт можно трактовать как коррелят ухудшения предиктивных процессов моторной преднастройки при извлечении информации из рабочей памяти, что включает в себя предиктивное внимание, активацию премоторных сетей и проактивное торможение необходимое для поддержания фиксации глаз в период задержки [1, 3]. При этом в группе больных преобладает диффузное расположение пиков компонентов ОП по отведениям, что может отражать компенсационное перераспределение активности нейронных сетей для усиления top-down влияний на ранней стадии шизофрении в условиях «префронтального дефицита».

Установлены некоторые различия в ранних компонентах ВП: снижение амплитуды компонента P50 и увеличение латентности пика компонента N150 ( $p < 0.01$ ) у больных с КВР шизофрении, что может свидетельствовать о нарушении ранних процессов переработки зрительной информации у больных с КВР.

Мы предполагаем, что усредненные потенциалы ЭЭГ Р -250, N -150, P50 и N150, связанные с сигналом совершить саккадический ответ по памяти, могут рассматриваться как потенциально значимые нейробиологические маркеры нарушения когнитивного контроля на ранних стадиях развития шизофрении.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (темы № 121032500081-5 и № АААА-А19-11904049098-9).*

1. Славущая М.В., Моисеева В.В., Шульговский В.В. // Ж. высш нервн деят. им. И.П. Павлова. 2008. Т. 58. № 2. С. 133–152.
2. Caldanì S., Bucci M.P., Lamy J.C. et al. // Schizophr Res. 2017. V. 181. P. 30 - 37.
3. Ford J.M. Mathalon D.H. // Int J Psychophysiol. 2012. V. 83. N. 2. P 232–239.
4. Kveraga K., Ghuman A.S., Bar M. // Brain and Cognition. 2007. V. 65. P. 145 – 168.
5. Thakkar K.N., Schall J.D., Boucher L., et al. // Biol Psychiatry. 2011. V. 69. N. 1. P. 55–62.

## **ГУАНИЛИНЫ КИШЕЧНИКА КАК СЕНСОРЫ ПОСТУПЛЕНИЯ НАТРИЯ И ИХ СВЯЗИ С ГОРМОНАЛЬНЫМИ СИСТЕМАМИ, РЕГУЛИРУЮЩИМИ НАТРИЙУРЕЗ**

**Смирнова О.В.<sup>1</sup>, Шеин В.Е.<sup>1</sup>, Снигирева Е.Д.<sup>1</sup>**

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

Характерным отличием гормонов ЖКТ от других гормонов является их прямая связь с внешней средой, позволяющая им реагировать на информацию о текущей нагрузке поступающими в организм веществами. Нами выдвигается гипотеза о том, что гормоны ЖКТ, включая гормоны гуанилинового ряда, обладают информационными функциями в отношении тех гормонпродуцирующих клеток и тканей, которые прямо не получают информацию извне. Основанием для такого предположения являются известные факты об информационной роли инкретинов в отношении инсулина, грелина в отношении СТГ. В работе исследуется возможность непрямого натрийуретического действия гормонов гуанилинового ряда (гуанилина (ГН) и урогуанилина (УГН)) за счет модуляции работы других гормональных систем, участвующих в регуляции обмена натрия.

Моделями хронической модификации водно-солевого обмена были 2-4-недельная высокосолевая диета и холестаза. Учитывая вызываемые хронические модификации водно-солевого обмена, в образцах двенадцатиперстной и толстой кишки, коркового и мозгового слоев почки методом ПЦР-РВ тестировали изменения в уровнях экспрессии мРНК ГН, УГН, гуанилатциклазы С (GC-C) и предполагаемых мишеней их действия: рецептора пролактина (Rprl) кишечника и почки, проводящего натрийуретический эффект пролактина; декарбоксилазы ароматических аминокислот (DDC), фермента, определяющего уровень дофамина в почке, обладающего натрийуретическим эффектом; почечного рецептора 1 натрийуретических пептидов сердца (NPR1). Использовали следующие группы самок крыс стока Wistar: ложноперирированные, содержавшиеся на двух- и четырехнедельной высокосолевой диете; с обструктивным холестазом на фоне нормосолевой и высокосолевой диеты. Статистический анализ проводили в программе GraphPad Prism 8.

И при нормосолевой, и при высокосолевой диете уровень экспрессии ГН в двенадцатиперстной кишке положительно коррелирует с клиренсом натрия. В отличие от кишечных гуанилинов при нормальном поступлении соли экспрессия мРНК ГН и УГН в обоих слоях почки отрицательно коррелирует с клиренсом натрия. Возможно, это связано с тем, что в этих условиях выявляются очень сильные ( $r=-0,91$ ) отрицательные корреляции между экспрессией мРНК ГН в толстой кишке и DDC мозгового слоя почки. Это не может компенсировать относительно слабая положительная корреляция мРНК ГН двенадцатиперстной кишки с NPR1 коры почки при нормосолевой диете. При высокосолевой диете эти корреляции исчезают.

При нормосолевой диете уровень экспрессии мРНК гуанилина двенадцатиперстной кишки положительно коррелирует с Rpr1 этого отдела кишечника.

Длительная высокосолевая диета приводит к достоверному росту экспрессии мРНК урогуанилина в толстом кишечнике. В корковом и мозговом слоях почки высокосолевая диета достоверно не влияет на уровень экспрессии гуанилинов. Однако высокосолевая диета существенно меняет корреляционные взаимоотношения между исследуемыми параметрами. Rpr1 коры почки начинает положительно коррелировать с клиренсом натрия, ГН и УГН толстого кишечника вступают в положительные корреляционные отношения с NPR1 мозгового слоя почки. А в мозговом слое почки начинает выявляться положительная ( $R=+0,64$ ) корреляция между УГН этого слоя и DDC.

Холестаза особенно при солевой нагрузке ведет к росту экспрессии обоих гуанилинов в разных отделах кишечника и GC-C в толстом кишечнике. В коре и мозговом слое почки при холестазе с разной солевой нагрузкой растет экспрессия гуанилина. Связь между исследуемыми участниками регуляции водно-солевого обмена существенно усиливается при нормосолевом холестазе: 1) в толстой кишке начинают выявляться сильные положительные корреляции ( $R=0,91$ ) между GC-C и Rpr1; 2) мРНК ГН двенадцатиперстной кишки начинает положительно коррелировать с Rpr1 коры и мозгового слоя почки ( $R=0,78$  и  $0,73$ , соответственно), причем возникают положительные корреляции между рецептором пролактина коры почки и клиренсом натрия; 3) коре почки устанавливаются отрицательные корреляции между ГН и DDC. При сочетании холестаза с высокосолевой диетой в двенадцатиперстной кишке выявляются положительные корреляции между GC-C и Rpr1. Кроме того, в двенадцатиперстной кишке положительные корреляции между ГН и Rpr1 наблюдаются и в норме, и при холестазе на фоне нормального и повышенного потребления соли.

Таким образом, модификация водно-солевого обмена в условиях высокосолевой нагрузки и особенно холестаза, ведет к усилению влияния гуанилинов на других участников регуляции водно-солевого обмена.

## **СЕРЫЕ ВОРОНЫ (*CORVUS CORNIX*) ВОСПРОИЗВОДЯТ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ОБЪЕКТОВ ПРИЗНАКИ РАНЕЕ ПОДКРЕПЛЯЕМЫХ СТИМУЛОВ**

Смирнова А.А., Булгакова Л.Р.

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

Недавно было показано, что новокаледонские вороны [2] способны формировать представления о некоторых характеристиках объектов и позже воспроизводить их при самостоятельном изготовлении объектов. Эта способность может лежать в основе поддержания специфических особенностей орудий в разных популяциях этих птиц [4]. Позже такая же способность была обнаружено у какаду Гоффина [3].

**Целью** нашей работы было выяснить, способны ли серые вороны изготавливать объекты в соответствии с представлением о цвете и размере ранее подкрепляемого стимула. У этих птиц, как и какаду, регулярного использования орудий в естественных условиях обитания не наблюдают, и они характеризуются высоким уровнем развития мозга и когнитивных способностей [5], и, в частности, справляются со сложными вариантами протоорудийных задач [1].

В исследовании участвовали три взрослых серых вороны. На время эксперимента птицу помещали в клетку из оргстекла без передней стенки. Вместо нее была установлена фанерная ширма, за которой сидел экспериментатор. В ширме были проделаны три отверстия: большая щель в самой нижней части, через которую в клетку вдвигали поднос; над ним — отверстие с кормушкой (в него помещали личинку мучного хрущака); выше отверстия была расположена щель, в которую птицы должны были помещать объекты.

*Этап 1. Предварительное обучение.* В клетку вдвигали поднос, на котором лежали 8 кусков белой бумаги. За каждый помещенный в щель в ширме кусок птица получала личинку мучного хрущака. К следующему этапу переходили, когда в каждом из трех последовательных предъявлений подноса птица помещала в щель все 8 кусков.

*Этап 2. Тест на спонтанное изготовление кусков.* В клетку вдвигали поднос с одним листом формата А4. Все три птицы без дополнительного обучения начали отрывать куски от него и помещать их в щель. Здесь и в последующих тестах к следующему этапу переходили, когда птиц отрывала от большого листа не менее 24 кусков.

*Этап 3. Обучение выбору синих кусков.* В клетку вдвигали поднос, на котором были размещены 4 синих и 4 желтых куска (подкрепляли выбор синих). Здесь и далее обучение заканчивали, когда в трех последовательных предъявлениях птица помещала в щель все 4 «правильных» куска и ни одного «неправильного».

*Этап 4. Тест: оценка способности изготавливать куски определенного цвета.* В клетку вдвигали поднос, на котором были два листа (синий и желтый) формата А5. Здесь и далее, для предотвращения обучения в ходе теста вороны получали корм только в 50% проб и вне зависимости от цвета помещенных в щель кусков. Две вороны отрывали куски только от синего листа. Третья птица отрывала лишь два желтых куска из 24.

*Этап 5. Обучение выбору кусков определенного размера.* В клетку вдвигали поднос с 8 кусками одного цвета: 4 большими и 4 маленькими. Птицу подкрепляли за помещение в щель кусков определенного размера.

*Этап 6. Тест: оценка способности изготавливать куски определенного размера (1).* В клетку вдвигали поднос с листом бумаги А4. В остальном процедура полностью совпадала с той, что была описана для этапа 4.

*Этап 7. Обучение выбору кусков другого размера.*

*Этап 8. Тест: оценка способности изготавливать куски определенного размера (2).* Процедура полностью совпадала с той, что была описана для этапа 6.

Площади кусков, изготовленных всеми тремя птицами после обучения выбору больших или маленьких готовых кусков, достоверно различались.

Таким образом, не только новокаледонские вороны [2] и какаду Гоффина [3], но и серые вороны способны изготавливать объекты в соответствии с представлением о цвете и размере ранее подкрепляемого стимула. Это указывает на то, что оперировать представлениями при изготовлении объектов, способны не только те птицы, у которых орудийная деятельность входит в видоспецифический репертуар поведения, но и другие, обладающие высоким уровнем развития мозга и когнитивных способностей.

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

1. Багоцкая М.С., Смирнова А.А., Зорина З.А. // Журн. высш. нерв. деят. 2010. Т.60(5). С.543-551.
2. Jelbert S.A., Hosking R.J., Taylor A.H. et al. // Sci. Rep. 2018. V.8. P.8956.
3. Laumer I.B., Jelbert S.A., Taylor A.H. et al. // Anim.Cogn. 2021. V.24. P.457-470.
4. Logan C.J., Breen A.J., Taylor A.H., Gray RD et al. // Learn. Behav. 2016. V.44. P.18-28.
5. Smirnova A.A., Obozova T.A., Zorina Z.A. et al. // Curr. Opin. Behav. Sci. 2021. V.37. P.109-117.

## МОДИФИКАЦИИ МУЛЬТИГОРМОНАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ПОЧЕЧНЫХ ТРАНСПОРТЕРОВ НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКИ ПОВЫШЕННОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ СОЛИ В НОРМЕ И НА ФОНЕ ХОЛЕСТАЗА

Снигирева Е.Д.<sup>1</sup>, Шеин В.Е.<sup>1</sup>, Смирнова О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Почка является ключевым органом, отвечающим за натрийурез. Основными транспортерами  $\text{Na}^+$  в почечных канальцах являются апикальные  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  обменники NHE и базолатеральный  $\text{Na}^+$ - $\text{HCO}_3^-$  котранспортер NBCe1. В регуляции обмена  $\text{Na}^+$  участвуют, в частности, гуанилины, предсердный натрийуретический пептид (ANP), почечный дофамин [2] и пролактин [1]. Известно, что почечный эффект гуанилинов усиливается в синергизме с дофамином [4], а также в присутствии ANP [3]. Выдвигается гипотеза о том, что мультигормональная регуляция транспортеров  $\text{Na}^+$  в почке модифицируется в состояниях с нарушенным водно-солевым балансом.

В качестве моделей нарушенного водно-солевого баланса выбраны четырехнедельная высокосолевая диета (4% NaCl), обструктивных холестаз и их сочетание. Использовали ложно оперированных самок крыс стока Wistar на нормосолевой диете (Нл/о), ложно оперированных самок на высокосолевой диете (Нл/оS), с холестазом на нормосолевой диете (ОХ), с холестазом на высокосолевой диете (ОXS). Для определения клиренса  $\text{Na}^+$  осуществляли сбор суточной мочи и крови. Анализировали образцы коркового и внутреннего мозгового слоев почки методом ПЦР-РВ. В тканях измеряли экспрессию гуанилинов, декарбоксилазы ароматических аминокислот (DDC) – лимитирующего фермента синтеза почечного дофамина, рецептора ANP (NPR1), рецептора пролактина (RPr1), а также экспрессию NHE2, NHE3, NBCe1. Статистический анализ проводили в программе GraphPad Prism 8.

Высокосолевая диета, холестаз и их сочетание привели к росту клиренса  $\text{Na}^+$  относительно Нл/о. Отрицательные корреляции уровня экспрессии гуанилинов обоих слоев почки с клиренсом выявлены у Нл/о, у Нл/оS клиренс  $\text{Na}^+$  отрицательно коррелировал с гуанилинами и DDC мозгового слоя почки и положительно – с RPr1 коркового слоя. В группе ОХ связь клиренса с гуанилинами пропадала, и возникала положительная корреляция с RPr1 коркового вещества, у животных ОXS все корреляции исчезали.

В группе Нл/оS показано достоверное увеличение уровня мРНК NHE2 в мозговом слое почки и тенденция к снижению экспрессии NHE3 в корковом слое почки по сравнению с Нл/о. Аналогичные изменения экспрессии NHE наблюдались у животных ОХ по сравнению с ОХ. Уровень мРНК NBCe1 в группе Нл/оS по сравнению с Нл/о достоверно не менялся, при этом в группе ОХ по сравнению с ОХ в мозговом слое почки экспрессия NBCe1 достоверно росла. При сравнении ОХ с Нл/о выявлено достоверное снижение экспрессии NBCe1, причем в группах Нл/оS и ОXS эти изменения повторялись лишь на уровне тенденции.

Выявлена положительная корреляция экспрессии транспортеров  $\text{Na}^+$  с компонентами осей почечного дофамина, ANP и пролактина в обоих слоях почки в группе Нл/о. В группе Нл/оS в обоих слоях почки появляются разнонаправленные связи уровней мРНК транспортеров с гуанилинами и положительные связи с другими гормональными осями. В группе ОХ в корковом веществе почки остаются лишь положительные корреляции NPR1 со всеми транспортерами, при этом в мозговом слое появляются положительные связи уровней мРНК NHE с компонентами всех исследуемых гормональных осей. В группе ОXS исчезает обилие положительных связей в обоих слоях почки, причем остаются корреляции экспрессии транспортеров  $\text{Na}^+$  в основном лишь с DDC и NPR1.

Высокосолевая диета ведет к изменениям экспрессии NHE, а экспрессия NBCe1 меняется преимущественно под действием холестаза. Солевая нагрузка приводит к усилению мультигормонального контроля транспортеров  $\text{Na}^+$  в обоих слоях почки, в то время как при обструктивном холестазе в корковом слое почки мультигормональный контроль снижается, а в мозговом – растет. Сочетание холестаза и высокосолевой диеты приводит к снижению мультигормонального контроля транспортеров в обоих слоях почки.

1. Абрамичева, П. А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2019. Т. 168, № 2. С. 219–223.
2. Olivares-Hernández A. et al. // *Biomolecules*. *Biomolecules*, 2021. Vol. 11, № 2. P. 1–16.
3. Santos-Neto M.S. et al. // *Regul Pept*. *Regul Pept*, 2006. Vol. 136, № 1–3. P. 14–22.
4. Zeng C. et al. // *J Am Heart Assoc*. *J Am Heart Assoc*, 2022. Vol. 11, № 6.

## РОЛЬ МОДУЛЯТОРОВ ИОННЫХ КАНАЛОВ В АРИТМОГЕНЕЗЕ

Соколова О.С.<sup>1</sup>, Захлязьминская Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

Потенциал-зависимые калиевые каналы (обширная группа мембранных белков, которая кодируется порядка 40 генами) осуществляют регуляторную роль в функционировании возбудимых клеток, регуляции апоптоза, процессах клеточного роста и дифференцировки, выделении гормонов, нейротрансмиттеров и др. С нарушениями в работе ионных каналов ассоциирован целый ряд патологий нервной и сердечно-сосудистой систем человека.

Модуляция свойств мембранных ионных каналов имеет фундаментальное значение для регуляции электрической активности отдельных отделов сердца.

В данной работе был оценен спектр генетических вариантов в генах, кодирующих ионные каналы Kv7.1 и Kv11.1 а также канал-ассоциированные белки: AKAP9, Mirp1 у пациентов с удлинением интервала QT и другими первичными аритмогенными синдромами; найденные новые и неописанные мутации были введены в последовательности, кодирующие ионные каналы и проявления этих мутаций были исследованы с применением подходов электрофизиологии. В частности, мы исследовали ранее неописанную мутацию R583H в гене *KCNQ1*, которая приводит к сдвигу вправо кривой стационарной активации регистрируемого тока по сравнению с током, переносимым каналами дикого типа [1]. Мы предположили, что это может быть связано с нарушением взаимодействия канала с адапторным белком AKAP9, известный сайт связывания которого находится в непосредственной близости. Мы также впервые описали миссенс-мутацию в цитоплазматическом домене этого канала, которая предположительно нарушает взаимодействие цитоплазматических регионов канала с кальмодулином и/или полярными липидами [2].

Таким образом, были выявлены новые, до сих пор неизвестные, закономерности во взаимодействии каналов с белками-модуляторами, что позволило оптимизировать пути лечения аритмий у пациентов.

Авторы благодарят Д.В.Абрамочкина за помощь в проведении электрофизиологических экспериментов.

*Работа поддержана грантом РФФИ (22-14-00088).*

1. Li B., Karlova M., Zhang H., et al. // *Biochem Biophys Res Commun*. 2024 V.714. P.149947.
2. Karlova M., Abramochkin D.V., Pustovit K.B. et al. // *Int J Mol Sci*. 2022 V.23(14). P.7953.

# **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТРОФИНОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА ФОНЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ГЕНТИНГТОНА**

Соколова М.Г., Шавуров В.А.

*Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова  
Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена Санкт-Петербург*

Нейровоспаление можно определить, как процесс, при котором собственная иммунная система мозга активируется в результате ишемии, травмы, инфекции, воздействия токсинов, нейродегенеративного процесса, стресса или старения. Болезнь Гентингтона является наследственным заболеванием экстрапирамидной системы и относится к инвалидизирующим и малокурабельным болезням. Активность нейродегенерации в последнее время все чаще связывают с выраженностью нейровоспаления, а уточнение роли таких патогенетических факторов, как роль цитокинов и апоптотических белков на процесс нейровоспаления может быть использован в терапевтических целях.

**Цель** исследования: уточнить физиологические взаимодействия между провоспалительными цитокинами и нейротрофическими факторами в процессе нейродегенеративного наследственного заболевания болезнь Гентингтона.

Было обследовано 12 пациентов с болезнью Гентингтона. Средний возраст больных 49,6 лет. Мужчины составляли 74%, женщины 26%. Было проведено клиничко-неврологическое, нейровизуализационное (МРТ), молекулярно-генетическое и лабораторное исследование. У всех пациентов диагноз был подтвержден молекулярно-генетическим исследованием. Контрольную группу составляли 30 здоровых добровольцев. Определение уровня фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкин-1, интерлейкин-6, нейротрофинов (фактора роста головного мозга (ФРГМ), глиального нейротрофического фактора (ГНТФ)) и белка апоптоза p53 проводили иммуноферментным методом в образцах сыворотке крови. Статистическая обработка производилась с использованием пакета STATISTICA 9.0 (USA).

Клиничко-неврологическая картина была представлена гиперкинетическим-гипотоническим синдромом. Молекулярно-генетическим методом был подтвержден наследственный характер заболевания у обследованных пациентов. Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови больных БГ (74,30 [46,42; 94,88] нг/мл) статистически значимо ( $p < 0,01$ ) выше, чем в контрольной группе (11,20 [10,17; 20,55] нг/мл). Концентрации белков воспаления ИЛ-1 и ИЛ-6 в плазме крови пациентов БГ имели статистически значимы различия, у пациентов основной группы было выявлено достоверное увеличение концентрации в сравнении с группой контроля ( $p < 0,005$ ). Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что концентрация апоптотического белка – p53 в сыворотке крови больных БГ (14,0 [8,0; 68,6] Е/мл) статистически значимо ( $p < 0,01$ ) выше, чем в контрольной группе (0,0 [0,0; 0,4]Е/мл). Выявлено изменение нейротрофической регуляции: отмечено повышение концентрации глиального нейротрофического фактора (423,2 пг/мл [350,0; 496,4]) ( $p < 0,005$ ) и снижение содержания нейротрофина фактора роста головного мозга (16133 пг/мл [13991; 18275]) ( $p < 0,005$ ). Достоверных различий по гендерным признакам выявлено не было. Выявлена сильная корреляционная связь между высокой концентрацией цитокина фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и апоптотического белка-p53 у пациентов с более длительным и тяжелым течением БГ.

Клиничко-лабораторное исследование выявило сложность пептидной нейротрофической регуляции ЦНС на фоне текущего нейродегенеративного процесса. Установлено, что у пациентов с БГ имеет место увеличение концентрации ГНТФ и снижение концентрации ФРГМ в сыворотке крови. Концентрации ГНТФ указывают на высокую активность глиальных клеток, которые таким образом обеспечивают физиологическую защиту нейронов, но частичная гибель функциональных нейронов экстрапирамидной системы значительно

снижает количество рецепторов, способных реагировать на глиальный нейротрофический фактор. Снижение концентрации ФРГМ может быть связано и с уменьшением количества функционирующих нейронов в ЦНС, которые погибают путем апоптоза, о чем свидетельствуют высокие концентрации белков апоптоза: p53 и Bcl2. Данные патологические механизмы: активизация апоптоза, снижение синтеза ФРГМ и увеличение ГНТФ создают внутриорганные условия для активизации синтеза воспалительных белков: ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6.

## ЭФФЕКТЫ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА НА СПОНТАННУЮ СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ

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

*Казанский федеральный университет, г. Казань*

Оксид азота (NO) представляет собой газообразную молекулу, синтезируемую практически всеми клетками млекопитающих и выполняющую множество физиологических функций [3]. В ЖКТ NO является основным тормозным медиатором не-адренергической, не-холинергической передачи наряду с вазоинтестинальным пептидом и пуринами [1], эффекты которого опосредуются активацией гуанилатциклазы, приводящей к выработке цГМФ, активации протеинкиназы G, активации K<sup>+</sup>-каналов и снижение чувствительности к Ca<sup>2+</sup> [2, 4]. Таким образом, **целью** нашего исследования было изучение эффектов и механизмов действия оксида азота на спонтанную сократительную активность тощей кишки крысы.

Для регистрации сокращений были использованы сегменты кишки длиной 5-7 мм, в изометрических условиях на установке фирмы Вiorас (США). В экспериментах использовался раствор Кребса, t = 37°C с постоянной аэрацией смесью O<sub>2</sub> 95% и CO<sub>2</sub> 5% (карбоген). В экспериментах использовали: донор NO – S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин (SNAP 50 мкМ), донор NO - нитропруссид натрия (SNP 100 мкМ), блокатор K<sub>ir</sub>-каналов - хлорид бария (BaCl<sub>2</sub>, 30 мкМ), ингибитор гуанилатциклазы (ODQ 10 мкМ), ингибитор аденилатциклазы (MDL 1 мкМ), N-этилмалеимид (NEM 25 мкМ). Анализировали тоническое напряжение, амплитуду и частоту спонтанных сокращений препарата. Параметры сократительной активности в контроле принимали за 100%. n указывает на количество препаратов, значения p<0.05 считались статистически значимыми.

Экзогенный донор NO – SNAP приводил к снижению амплитуды к 30 секунде до 55% (n=22; p<0.05), после чего происходило восстановление амплитуды до исходных значений (n=22; p>0.05), при этом тонус препарата и частота спонтанных сокращений не изменялись (n=22; p>0.05). Другой донор NO – SNP в концентрации 100 мкМ также приводил к снижению амплитуды к 30 секунде до 63%. (n=15; p<0.05), при этом тонус препарата и частота спонтанных сокращений достоверно не изменялись (n=15; p>0.05).

Для выяснения природы начального ингибиторного эффекта NO использовали ODQ, MDL, BaCl<sub>2</sub> и NEM. На фоне блокатора гуанилатциклазы SNP-индуцированное расслабление спонтанных сокращений не проявлялось (p<0.05). Кроме того, начальный ингибиторный эффект SNP проявлялся в меньшей степени в условиях предварительной обработки препарата тощей кишки крысы BaCl<sub>2</sub> (p<0.05). А на фоне MDL и NEM ингибиторный эффект SNP сохранялся (p>0.05).

Таким образом, доноры NO – SNAP и SNP приводили к кратковременному снижению амплитуды спонтанных сокращений сегмента тощей кишки, а расслабляющий эффект SNP в тощей кишке крысы опосредован активацией гуанилатциклазы и K<sub>ir</sub>-каналов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 23-75-01027*

1. Idrizaj, E. // International Journal of Molecular Sciences – 2021. – Vol. 22 – N. 18.
2. Koh, S.D. // Journal of Biological Chemistry – 2001. – Vol. 276 – N. 47 – P. 44338–44346.
3. Nowaczyk, A. // International Journal of Molecular Sciences – 2021. – Vol. 22 – N. 11 – P. 6029.

4. Wittenborn, E.C. // International Journal of Molecular Sciences – 2021. – Vol. 22 – N. 11 – P. 5439.

## **УЧАСТИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАЗВИТИИ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА НА ПРИМЕРЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОСТНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ КРЫСАМ.**

Стаханова А.А.<sup>1</sup>, Воскресенская О.Г.<sup>2</sup>, Зозюля С.А.<sup>1</sup>, Кост Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр психического здоровья, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Расстройства аутистического спектра (РАС) – это нарушения развития, провоцирующие социальные, коммуникационные и поведенческие проблемы. Вальпроевая кислота (ВПК) – противоэпилептическое средство, которое работает как ингибитор гистондеацетилаз, а также и увеличивает количество гамма-аминомасляной кислоты в головном мозге. Согласно современным представлениям, одной из предполагаемых причин развития РАС является нейровоспаление. Длительный воспалительный процесс в нервной ткани способен вызвать серьезные нарушения, приводящие к гибели нейронов, нарушению миелинизации и анатомо-биохимическим изменениям структур головного мозга. В настоящее время известны воспалительные маркеры, определяемые в крови и используемые для оценки уровня воспаления в мозге, например, лейкоцитарная эластаза.

**Целью** работы: изучение влияния постнатального введения вальпроевой кислоты на физиологические и поведенческие проявления расстройств аутистического спектра и активность лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови белых крыс.

Работа выполнялась на детенышах белых крыс. Условия содержания животных и использованные экспериментальные процедуры были одобрены Комиссией по биоэтике МГУ (рег. №12.3 от 17.11.2022 г.). В эксперименте было две исследуемых группы животных, которым с 6-го по 12-й день жизни была проведена внутрибрюшинная инъекция воды (H<sub>2</sub>O) или вальпроевой кислоты (ВПК) в дозе 150 мг/кг [1]. В работе использовали стандартные физиологические и поведенческие тесты: мониторинг веса на протяжении периода введения препарата, «Hot plate» - для оценки болевой чувствительности на 25 день жизни, «Социальное поведение» в модификации сибс/чужак на 55 день жизни [1]. На 57 день животных декапитировали, кровь забирали в пробирки с разделительным гелем для сыворотки (BD Vacutainer® SST™II Advance), центрифугировали при 2000 g, сыворотку замораживали и хранили при -78° С. Активность лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови измеряли спектрофотометрическим методом по скорости гидролиза субстрата ВОС-Ala-ONp (Biomedical, Inc.) по методу Доценко В.Л. с соавт., 1994. Статистическая обработка проводилась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Важным физиологическим показателем проявления РАС в использованной модели является замедление набора веса в ранний постнатальный период [3]. В результате исследования было выявлено, что вес животных спустя 6 дней введения ВПК был ниже по сравнению с контрольными особями в тот же период (p=0,003). При проведении теста «Hot plate» опытным животным потребовалось больше времени для проявления реакции (облизывание задней лапы), чем контрольным особям (p=0,038). Снижение болевой чувствительности также характерно для РАС в данной модели/ Основным показателем РАС является нарушение социального поведения. В тесте «Социальное поведение» у животных, получавшие ВПК, латентный период выхода из стартового отсека был значительно дольше, чем в контроле (p=0,0005), также опытные животные позже подходят как к сибсу (p=0,029), так и к чужаку (p=0,00006) – по сравнению с контрольными особями. Для воспалительных процессов характерна активация нейтрофилов, что сопровождается выбросом лейкоцитарной эластазы [2]. В данном исследовании активность лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови

животных, получавших ВПК, была значимо выше, чем у контрольных особей ( $p=0,04$ ). Подобные отклонения наблюдаются у больных с РАС.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что введение крысам вальпроевой кислоты в раннем постнатальном периоде развития вызывает у животных нарушения развития и изменения в социальном поведении, характерные при расстройствах аутистического спектра: животные не стремятся к общению с новой незнакомой особью, характеризуются увеличением болевого порога и более низким весом по сравнению с контрольными особями. Выявленные изменения сопровождаются повышением активности эластазы в сыворотке крови, что свидетельствует об участии воспалительных механизмов в развитии аутистических расстройств. Это подтверждает валидность созданной экспериментальной модели.

1. Малышев А.В., Аббасова К.Р., Аверина О.А. и др. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер 16. Биология. 2015. Т.3.
2. Симонов А.Н., Ключник Т.П. // Психическое здоровье. 2017. Т.15.
3. Marshall, J., Hill, R. J., Ziviani, J. et al. // Int J Speech Lang Pathol. 2014. V.16.

## ЭФФЕКТЫ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА МОДЕЛИ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Сурина Н.М.<sup>1</sup>, Решетникова А.А.<sup>1</sup>, Федотова И.Б.,<sup>1</sup> Полетаева И.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Линия крыс Крушинского-Молодкиной (КМ) – модель рефлекторной (аудиогенной) эпилепсии (АЭ) с высокой воспроизводимостью признака. Кроме АЭ на крысах линии КМ возможно получить модель височной эпилепсии человека - миоклонический гиперкинез. При поиске новых подходов и инструментов, способных повлиять на АЭ и постсудорожные изменения мышечного тонуса крыс, мы остановились на нефармакологическом неинвазивном методе - электросудорожной терапии (ЭСТ).

**Целью** работы является исследование эффектов ЭСТ на поведение, биохимические параметры мозга, а также показатели АЭ у крыс с различной предрасположенностью к АЭ.

В экспериментах использовали линию крыс линии КМ ( $n = 81$ ), также крыс линии «4» ( $n = 22$ ) и линии «0» ( $n = 24$ ). Данные линии представляют собой линии контроля со сходным КМ генетическим фоном. У них одинаковый генотип, но диаметрально противоположный фенотип – аудиогенный припадок (АП) максимальной выраженности (линия «4») и полное отсутствие признака (линия «0»). В общую схему опыта входило проведение стандартной батареи тестов (тест «Открытое поле», тест в приподнятом крестообразном лабиринте, тест «Вынужденное плавание»), формирование у части крыс миоклонических судорог ежедневной провокацией АП на протяжении 21 дня, ЭСТ в течение 6 дней и в конце, в зависимости от серии, либо повторное тестирование поведение, либо декапитация и диссекция с последующим биохимическим анализом мозга. Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием (ВЭЖХ-ЭД) в образцах префронтальной коры и стриатума экспериментальных животных.

Было показано, что интенсивность АП, миоклонических судорог и постиктальной каталепсии крыс линии КМ и линии «4» после 6- дневного курса ЭСТ снижается, причем данный эффект более выражен у крыс линии КМ. Воздействие ЭСТ на поведение крыс линии КМ и линий «4» и «0» имело разнонаправленный эффект. Несмотря на отсутствие статистически значимых изменений в показателях поведения, были выявлены различия в уровне вертикальной и горизонтальной локомоторной активности в тесте «открытое поле» у крыс разных групп. Это связано со сходством генетического «фона»: крысы линий «0» и «4», как относительно близкородственные (хоть и демонстрирующие абсолютно

противоположный фенотип АП) показали увеличение исследовательской и локомоторной активности, в то время как у линии КМ снизился только показатель исследовательской активности и других отличий не выявлено. Различие в реакции крыс линии КМ и линии «4» на процедуру ЭСТ также может указывать на различные механизмы эпилептогенеза, т.е. на наличие особенностей метаболизма, повышающих или понижающих уровень судорожной готовности. Это заключение согласуется с различиями в противосудорожной эффективности ЭСТ в ее влиянии на миоклонические судороги: у линии КМ – 94% полного купирования миоклонических судорог, у линии «4» - 36%. У части крыс наблюдался «двуволновый» АП, что может говорить, как о сильном противэпилептическом эффекте ЭСТ, так и об избирательном действии последней (воздействие только на первичный, стволовой очаг, но не на передне-мозговой). Таким образом, ЭСТ повышает уровень локомоторной активности у крыс линии «4» и «0» и снижает исследовательскую активность крыс линии КМ в тесте «открытое поле». В то же время в тестах «вынужденное плавание» и «приподнятый крестообразный лабиринт» статистически значимых отличий между группами не обнаружено.

Было показано, что ЭСТ интенсифицирует функционирование дофаминергической системы в стриатуме и префронтальной коре (ПФК) у крыс линии КМ, что выражается в повышении уровня дофамина и его основных метаболитов (3-МТ, ДОФУК, ГВК). Кроме того, показана модуляция функций серотонинергической системы в стриатуме и ПФК крыс линии КМ и повышение содержания свободного серотонина в указанных структурах мозга. Так, в ПФК у крыс с выработанным миоклонусом соотношение ГИУК/5- НТ указывает на усиленный метаболизм нейромедиатора в неокортексе. Однако, такое резкое отклонение от контрольных значений, обнаруженных у интактных крыс, может быть связано с накоплением ГИУК в системе и сильным снижением 5- НТ, что ассоциировано с повышенной судорожной готовностью и возникновением нового, вторичного очага возбуждения в коре. Примечательно, что у животных с миоклонусом после ЭСТ количество серотонина в ПФК сопоставимо со значениями у интактных животных, а это, по всей видимости, может объяснять противэпилептический эффект ЭСТ и элиминацию «передне-мозговых» судорог.

## **ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ЛОБНОГО ОТДЕЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЯТ, ВЫЗВАННЫЕ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ АЛКОГОЛЯ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

*Суханова Д.Д.<sup>1</sup>, Игнатова П. Д.<sup>1</sup>, Ереско С.О.<sup>1,2</sup>, Айрапетов М.И.<sup>1,3</sup>*

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

*<sup>2</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург*

*<sup>3</sup>Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург*

Известно, что пренатальное воздействие алкоголя (ПВА) приводит к развитию симптомов фетального алкогольного спектра нарушений (ФАСН), также существуют данные, что воздействие алкоголя вызывает изменения в системе toll-подобных рецепторов (TLR) в головном мозге, что способствует процессам нейровоспаления и нейродегенерации. На сегодняшний день состояние TLR-сигналинга на модели ПВА еще не было изучено достаточно. Поэтому наша **цель**: оценить состояние экспрессии генов системы TLR-сигнализации на модели ПВА в лобном отделе головного мозга на разных сроках постнатального развития крысят.

Моделирование ПВА осуществлялось посредством полупринудительного потребления самками крыс 15%-го раствора этанола со 2-ой недели беременности до ее окончания. Контрольной группе самок для получения интактной группы крысят на протяжении всей беременности предоставлялась вода в качестве источника жидкости. Далее у полученного потомства (с ПВА и интактных) производили забор лобной доли головного мозга на 4-е, 10-е

и 17-е сутки постнатального развития. В каждой группе, на каждом сроке развития – по 6 образцов. Суммарная РНК получена с помощью Extract RNA (Евроген, РФ). ОТ выполнена посредством «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). Реал-тайм ПЦР проводили в 10 мкл смеси, содержащей SYBR Green MIX (Евроген, РФ), смесь праймеров (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом 2 $\Delta\Delta$ CT и статистически обработаны. В качестве критерия достоверности использовали критерий Манна-Уитни.

У интактной группы крысят в лобном отделе головного мозга было выявлено снижение содержания мРНК TLR4 в 2 раза и увеличение содержания мРНК IRF3 в 1,38 раз на 10-е сутки развития по сравнению с 4-ми, на 17-е сутки по сравнению с 10-ми значимо снижался уровень мРНК Ccl2 (в 2,34 раза). В группе ПВА содержание мРНК исследуемых генов на 10 сутки по сравнению с 4-ми отмечено уменьшение TLR4 в 3,24 раза, CCL2 в 2,35 раза, IRF3 в 2,48 раза, IL1b в 1,52 раза, Nfkb1 в 2,35 раз. И на 17-е сутки развития уровень мРНК IL1b значимо возрастает в 1,61 раза по сравнению с 4-ми и в 2,17 раза относительно 10-ых суток развития. В группе крысят с ПВА в сравнении с интактной группой произошли следующие изменения экспрессии генов системы TLR-сигнализации в лобном отделе головного мозга: на четвертый день постнатального развития значимо повышались мРНК TLR4 (в 4,25 раза,  $p < 0.05$ ), Ccl2 (в 1,93 раза,  $p < 0.05$ ), IRF3 (в 1,97 раза  $p < 0.05$ ), TGFb (в 1,69 раза,  $p < 0.05$ ), снизилось количество мРНК IL1b (в 1,51 раза,  $p < 0.05$ ). На 10-е сутки сохранялся повышенным только уровень мРНК TLR4 (в 2,64 раза,  $p < 0.05$ ) в группе ПВА по сравнению с интактной группой на том же сроке развития, экспрессия остальных исследуемых генов имела тенденцию к снижению: Ccl2 (в 1,32 раза,  $p < 0.05$ ), IRF3 (в 1,74 раза  $p < 0.05$ ), TGFb (в 2,38 раза,  $p < 0.05$ ), Nfkb1 (в 1,62 раза,  $p < 0.05$ ).

Оценка состояния экспрессии генов системы TLR-сигнализации в лобном отделе головного мозга на 4-е, 10-е и 17-е сутки постнатального развития у интактных крысят и на модели ПВА указала на различия в состоянии TLR-сигналинга в головном мозге без ПВА и с ПВА. Что позволит в будущем рационально подбирать мишени и сроки начала фармакокоррекции нейровоспалительных изменений, связанных с ПВА.

1. Айрапетов М.И. и др. // Медицинская иммунология. 2020. V. 22(1). P.77-86.
2. Айрапетов М.И. и др. // Биомедицинская химия. 2022. V. 68(4). P. 279-287
3. Bi, Wei et al. // Molecular medicine reports. 2014. V. 10(4). P. 1793-1799.
4. Kaul, David et al. // PloS One. 2012. V. 7(5). e37767.
5. Qin, Liya et al.// International journal of molecular sciences. 2021. V. 22(5). P.254.

### **Исследование феномена бегущей волны в пульсовой компоненте кортикальной гемодинамики, регистрируемой методом fNIRS**

Сыров Н.В.<sup>1,2</sup>, Кузьмина Е.А.<sup>1</sup>, Яковлев Л.В.<sup>1,2</sup>, Мирошников А.А.<sup>2</sup>,  
Медведева А.С.<sup>1</sup>, Алиева Я. А.<sup>3</sup>, Каплан А. Я.<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> *Центр нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана  
Сколковского института науки и технологий, Москва*

<sup>2</sup> *Лаборатория нейрофизиологии и нейрокомпьютерных интерфейсов, кафедра  
физиологии человека и животных, биологического факультета  
МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва*

<sup>3</sup> *Федеральный центр исследований мозга и нейротехнологий ФМБА, Москва*

Исследование динамики церебрального кровотока является распространенным подходом к оценке специфических изменений активности мозга в норме и при патологии [2]. Один из популярных методов для проведения таких исследований – это функциональная инфракрасная спектроскопия (англ. *functional near-infrared spectroscopy*, fNIRS), которая позволяет регистрировать концентрацию окси-/дезоксигемоглобина в сосудах коры мозга [3]. Локальное

повышение концентрации оксигемоглобина, как правило, связывают с повышением активности нервных клеток в соответствующей области коры, и большинство fNIRS-исследований фокусируются как раз на изучении таких медленных гемодинамических изменений, развивающихся во временном окне ~ 7-15 секунд [1].

При этом быстрые пульсовые колебания, отражающие изменения кортикальной оксигенации с каждым выбросом крови из желудочков, считаются неинформативными, и «удаляются» из данных путем фильтрации [4]. Однако, в этих быстрых изменениях может содержаться ценная информация о динамике мозгового кровотока. Поиск чувствительных маркеров состояния церебральной гемодинамики имеет важное значение для проведения нейровизуализационных исследований, а также представляет ценность для клинических задач, связанных с ранней диагностикой и мониторингом процесса лечения различных неврологических расстройств, связанных с нарушением кровоснабжения мозга, например, инсульта.

В этой связи настоящее исследование было направлено на изучение характеристик быстрой пульсовой активности, регистрируемой с помощью метода fNIRS. В исследовании приняли участие 15 здоровых добровольцев, а также 15 пациентов с гемипарезом после кортикального инсульта. Исследование было одобрено этическим комитетом Нейро центра Сколковского института.

В результате анализа быстрой пульсовой компоненты fNIRS-сигнала было обнаружено наличие в пульсовой активности феномена бегущей волны, распространяющейся в пространстве сенсоров и, предположительно, отражающей процесс распространения крови по сосудам поверхности коры. Этот феномен был обнаружен как у здоровых участников, так и у пациентов после инсульта. При этом, характеристики бегущей волны показали высокую межиндивидуальную вариативность. Дальнейшие исследования феномена бегущей волны в пульсовой компоненте fNIRS-сигнала могут позлить разработать новый инструмент для оценки функциональных и патологических изменений церебральной гемодинамики.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-75-30024).*

1. Friston, K. J., Fletcher, P., Josephs, O., et al. // *Neuroimage*, 7(1), 30-40.
2. Isaev, M., Mokienko, O., Lyukmanov, R., et al. // *medRxiv*, 2024-03.
3. Leff, D. R., Orihuela-Espina, F., Elwell, et al. // *Neuroimage*, 54(4), 2922-2936.
4. Yeung, M. K., & Chu, V. W. // *Psychophysiology*, 59(6), e14054.

## **ДЕЙСТВИЕ ЭНДОГЕННОГО И ЭКЗОГЕННОГО АНАНДАМИДА В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШЦ РАЗНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ТИПА И СТАТУСА**

**Тарасова Е.О.<sup>1</sup>, Богачёва П.О.<sup>1</sup>, Абрарова Г.Ф.<sup>1</sup>, Балезина О.П.<sup>1</sup>**

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

Анандамид, или арахидонилэтаноламид (АЭА) – это один из наиболее известных медиаторов эндоканнабиноидной системы [1, 2]. Он синтезируется из фосфолипидов мембран клеток в несколько стадий, а расщепляется за счёт гидролазы амидов жирных кислот (ФААН). Для изучения действия эндогенного АЭА часто используется ингибирование ФААН, так как предполагается, что это приводит к накоплению АЭА и активации за счёт этого его рецепторов. В то время, как влияние АЭА в центральной нервной системе исследуется уже давно, в нервно-мышечных синапсах данные об эффектах АЭА пока малочисленны [3,4]. В связи с этим, **целью** данной работы было изучить действие как экзогенного, так и эндогенного АЭА на параметры синаптической активности в разных функциональных типах мышц (диафрагме и мышце длинного разгибателя пальцев (m. EDL)), а также сравнить влияние АЭА на секрецию медиатора в зрелых и в новообразованных нервно-мышечных синапсах.

Работа проводилась на нервно-мышечных препаратах диафрагмы (*n. phrenicus-m. diaphragma*), а также на препаратах *m. EDL (n. peroneus – m. EDL)*. Регистрация спонтанной активности моторных синапсов в виде миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и вызванной электрической стимуляцией нерва (50 Гц, 1 или 10 сек) активности в виде залпа потенциалов концевой пластинки (ПКП) осуществлялась при помощи стандартной микроэлектродной техники. Для моделирования новообразованных синапсов производили пережатие малоберцового нерва и регистрировали электрические сигналы в синапсах *m. EDL* на 11 сутки после пережатия.

На фоне экзогенного АЭА (30 мкМ) в моторных синапсах диафрагмы мышцы наблюдалось увеличение частоты МПКП на второй час аппликации вещества по сравнению с контролем примерно на 82 %. В то же время, АЭА в концентрациях 1, 5 и 10 мкМ не вызывал достоверных изменений параметров МПКП относительно контроля на протяжении всего эксперимента. Аналогично, в моторных синапсах *m. EDL* действие 10 мкМ АЭА не приводило к изменениям спонтанной активности синапсов – как амплитуда, так и частота МПКП не изменялись по сравнению с контролем. Однако на фоне 10 мкМ АЭА в синапсах *m. EDL* наблюдалось увеличение амплитуды и квантового состава (КС) каждого ПКП в залпе. Прирост амплитуды и КС ПКП имели место и в моторных синапсах диафрагмы мышцы при действии 30 мкМ АЭА.

В то время как АЭА оказывал потенцирующее действие на нервно-мышечную передачу в зрелых синапсах диафрагмы и *m. EDL*, в новообразованных моторных синапсах *m. EDL* АЭА (10 мкМ) вызывал торможение вызванной секреции медиатора, выражающееся в снижении амплитуды и КС ПКП, при неизменных параметрах спонтанной активности.

Что касается исследования эффектов эндогенного АЭА, то в нервно-мышечных синапсах диафрагмы мышцы ингибитор ГААН, URB597 (1 мкМ), приводил к увеличению как частоты, так и амплитуды МПКП, что отличается от экзогенного действия АЭА в этих синапсах, приводящее только к изменению частоты МПКП, но не их амплитуды. Также на фоне URB597 в синапсах диафрагмы происходило увеличение амплитуды каждого ПКП в залпе, при этом их КС оставался неизменным по сравнению с контролем. При этом оказалось, что в *m. EDL* и в диафрагме ингибирование ГААН по-разному сказывается на секреции медиатора. На фоне действия URB597 как в зрелых, так и в новообразованных синапсах *m. EDL* не наблюдается изменения параметров ни спонтанной, ни вызванной секреции медиатора.

Было предположено, что активности синапсов в режиме короткого (1 сек) ритмического залпа недостаточно для значимой выработки АЭА в *m. EDL*, но и в условиях длительной (10 секунд) залповой активности никаких изменений вызванной секреции на фоне URB597 по сравнению с контролем выявлено не было.

Таким образом, на фоне влияния экзогенного АЭА (10 или 30 мкМ) происходит потенциация секреции медиатора в зрелых нервно-мышечных синапсах диафрагмы и *m. EDL* и торможение вызванной активности в новообразованных синапсах *m. EDL*. Эффекты, вызванные ингибированием фермента деградации АЭА (ГААН), не полностью совпадают с действием экзогенного АЭА, в том числе, изменение синаптической активности в этом случае происходит только в диафрагме мышцы, но не в *m. EDL*.

*Работа поддержана грантом РФФИ 23-25-00065.*

1. Balezina O. P., Tarasova E. O. and Gaydukov A. E. // Biochem. Mosc. 2021. V.86. P.818-832.
2. Cristino L., Bisogno T. and Di Marzo, V. // Nat. Rev. Neurol. 2020. V.16. P. 9-29.
3. Morsch M., Protti D. A., Cheng D. et al. // Sci. Rep. 2018. V.8, P. 4685
4. Tarasova E. O., Khotkina, N. A., Gaydukov, A. E. et al. // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. V. 76, P. 1-6.

## ВЛИЯНИЕ КРАНИАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ ВЫСОКИХ ЭНЕРГИЙ НА ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЬЯН

Терещенко Л.В.<sup>1</sup>, Шамсиев И.Д.<sup>2</sup>, Бородачева Ю.В.<sup>1,2</sup>, Жиганов Л.С.<sup>1,2</sup>, Латанов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва

Во время дальних космических полетов радиационные воздействия галактических космических лучей неизбежно вызывают риск ранних поражений функций мозга. Галактические космические лучи могут вызывать нарушения поведения, когнитивной сферы в целом и, как следствие, операторской деятельности у космонавтов. В обеспечении этих функций важная роль принадлежит зрительно-моторной системе. Нами выполнено исследование нарушений зрительно-моторной и манипулятивной деятельности обезьян после облучения мозга протонами высоких энергий.

Четыре обезьяны (самцы *Macaca mulatta*, О1-17 лет, О2-15 лет, О3 и О4 -10 лет) предварительно были обучены инструментальной задаче (ИЗ), включающей выполнение зрительно вызванных саккад (ЗВС) к периферическим стимулам (ПС) в Gap-Overlap парадигме и мануальных реакций для получения подкрепления. ПС различного эксцентриситета предъявляли в широком участке поля зрения животных (39 x 26 град.) в 34 позициях. После проведения контрольной серии проводили однократное краниальное облучение протонами (170 МэВ, 3 Гр) на базе МТК ЛЯП ОИЯИ (г. Дубна, Московской обл.). Экспериментальная серия (после облучения) продолжалась три (О1), пять (О2) или шесть (О3, О4) месяцев и включала сессии каждые 2-3 дня, в ходе которых обезьяны выполняли 900-2000 проб ИЗ с разными комбинациями временных и пространственных параметров предъявления ПС.

В экспериментальной серии после протонного облучения доли корректных мануальных реакций сохранялись на высоком уровне (83-95 %) у всех обезьян. Латентные периоды корректных мануальных реакций (ЛМР) значимо увеличились с 5-го дня после облучения у О2 (в среднем с 470 до 560 мс). У остальных обезьян отмечалось увеличение средних ЛМР в отдельные дни после облучения.

Латентные периоды саккад (ЛПС) значимо увеличивались с 32-го дня после облучения у О1 (с 205 мс до 215 мс) и затем увеличивались на 32 и 25 мс по сравнению с контролем в периоды 61-70 и 78-91 дней, соответственно. У обезьяны О3 в период 60-72 дней после облучения отмечалось увеличение ЛПС на 10-13% в пике на 67-й день с последующим возвратом к контрольным значениям и повторное увеличение ЛПС в период 81-87 дней на 5-10% в пике на 84-й день. У обезьяны О4 при смене зрительных стимулов (фиксационного в центре зрительного поля и ПС) с временной задержкой (Gap-интервал) на протяжении трёх месяцев после облучения отмечалось увеличение ЛПС на 5,0-7,5% от контрольных значений. Таким образом, наиболее продолжительные и статистически значимые отклонения ЛМР и ЛПС наблюдались у возрастных обезьян О1 и О2.

У обезьян О3 и О4 увеличивалось время переключения зрительного внимания на ПС в течение трёх месяцев после облучения. В конце периода наблюдений у О4 такие увеличения времени переключения зрительного внимания сохранялись как при смене зрительных стимулов без задержки (NoDelay), так и с временной задержкой, в то время как у О3 достоверно наблюдались только при смене зрительных стимулов с временной задержкой. Максимальные скорости движения глаз при выполнении саккад уменьшились на 4-5 % после протонного облучения у О3 и О4.

Полученные данные свидетельствуют об относительной устойчивости системных механизмов, обеспечивающих условнорефлекторное инструментальное поведение, к радиационному воздействию. Однако при этом возможны нарушения процессов зрительно-моторной интеграции, переключения зрительного внимания и исполнительного контроля. Предположительно, такие эффекты могут проявиться в нарушении операторских

действий человека, что может быть критично для деятельности человека в условиях дальних космических экспедиций.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8.*

## **НАРУШЕНИЯ ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ КАК РАННИЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ МФТП-ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРКИНСОПОДОБНОГО СИНДРОМА У ОБЕЗЬЯН**

Терещенко Л.В., Латанов А.В.

*Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

Болезнь Паркинсона (БП) является нейродегенеративным заболеванием экстрапирамидной моторной системы, вызванное гибелью дофаминергических нейронов мозга. БП проявляется в нарушениях произвольных движений конечностей, головы и глаз, выполняемых под контролем экстрапирамидной системы. На модели паркинсоноподобного синдрома у обезьян (*Macaca mulatta*) с целью поиска его ранних маркеров при хроническом введении низких доз токсина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетра-гидропиридина (МФТП) исследованы характеристики зрительно вызванных саккад (ЗВС) при выполнении инструментальной условнорефлекторной задачи.

Двух обезьян (самцы, возраст 8 и 10 лет) предварительно обучали глазодвигательной инструментальной задаче, в которой они выполняли ЗВС в Gap-Overlap парадигме к стимулам разного эксцентриситета и инструментальные мануальные реакции для получения подкрепления. Стимулы предъявляли в широком участке поля зрения животных (39 x 26 град.) в 34-х позициях. МФТП вводили в дозе 0,2 мг/кг внутримышечно через день по достижении кумулятивной дозы МФТП 2,0 мг/кг [1]. Изменение состояния и поведения животных оценивали по 20-тибалльной шкале Кларке с соавт. [2], основанной на десяти характерных симптомов проявления МФТП-синдрома.

По мере введения токсина и развития МФТП-синдрома особый интерес в рамках исследования представляли *предсимптомная* (отсутствие видимых нарушений поведения, оценка по шкале 0 баллов) и *легкая* (незначительное ухудшение состояния с ненарушенной работоспособностью обезьян в эксперименте, оценка 2,5–4,5 балла) стадии.

Латентные периоды (ЛП) ЗВС группировали по эксцентриситетам стимулов, в направлениях которых они выполнялись, – ближнего (6,5 и 9,2 град., ЗВСб), среднего (13,0 и 14,4 град., ЗВСс) и дальнего (18,1, 19,5, 20,4 и 22,9 град., ЗВСд). ЛП ЗВСб увеличивались при кумулятивной дозе 0,2–0,6 мг/кг уже на предсимптомной стадии, когда видимые поведенческие признаки МФТП-синдрома еще не проявлялись, и продолжали увеличиваться при кумулятивной дозе 0,8–1,0 мг/кг на легкой стадии. ЛП ЗВСс и ЗВСд при такой кумулятивной дозе не изменялись,

В предсимптомной стадии МФТП-синдрома точность ЗВС по направлению к стимулам разного эксцентриситета, оцениваемой по амплитудам корректирующих саккад (КС), практически не изменялась по сравнению с нормативными показателями. Но по достижении легкой стадии (при кумулятивной дозе МФТП 1,0–1,4 мг/кг) точность ЗВС достоверно снижалась, что отражалось в увеличении амплитуд КС и их дисперсии после гипометричных ЗВС. Следует отметить, что относительные амплитуды КС после неточных ЗВСб оказались больше по сравнению с таковыми для ЗВСс и ЗВСд, а для нормированных стандартных отклонений таких различий не обнаружено. Гипометричность ЗВС, оцениваемая по увеличению относительных амплитуд КС, является характерным предиктором легкой стадии МФТП-синдрома.

На основании результатов наших исследований на обезьянах и сведений литературы [3] можно заключить, что по мере развития МФТП-синдрома происходят разные функциональные нарушения глазодвигательного поведения. На предсимптомной стадии

замедляются процессы интеграции зрительной информации с подготовкой и инициацией ЗВСб, оцениваемые по их временным характеристикам. В дальнейшем на легкой стадии МФТП-синдрома нарушаются также исполнительные механизмы, оцениваемые по снижению точности всех ЗВС. Амплитудно-временные характеристики ЗВСб отражают негативную динамику МФТП-синдрома у обезьян уже на предсимптомной стадии, предвещая дебют видимых поведенческих нарушений, характерных для паркинсоноподобного синдрома. Поэтому увеличение ЛП ЗВСб и снижение их точности являются ранними маркерами синдрома.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8.*

1. Терещенко Л.В., Латанов А.В. // *Журн. высш. нервн. деят.* 2018;68(4):496–513.
2. Clarke C.E., Sambrook M.A., Mitchell I.J., et al. // *J. Neurol. Sci.* 1987;78(3):273–280.
3. Ma W., Li M., Wu J., Zhang Z., et al. // *Front. Aging Neurosci.* 2022;14:912967.

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ МАРГАНЦА И НАНОМИЦЕЛЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА КАРНОЗИНА И ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ НА ТОКСИЧНОСТЬ МФТП У МЫШЕЙ C57BL/6 ВО ВЗРОСЛОМ ВОЗРАСТЕ**

Тимошина Ю.А.<sup>1,2</sup>, Федорова Т.Н.<sup>2</sup>, Латанов А.В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>*ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва*

В настоящее время всё больше литературных данных свидетельствует о том, что такое социально-значимое заболевание как болезнь Паркинсона (БП), поражающие в первую очередь людей преклонного возраста, начинает свое развитие на ранних этапах формирования нервной системы организма [2]. Предполагается, что в развитии БП выделяется стадия сенсibilизации в ранний период развития организма, во время которой происходит критическое воздействие на дофаминергическую систему факторов окружающей среды, и стадия провокации, во время которой происходит значительное повреждение чувствительных дофаминергических нейронов при нетоксическом воздействии [3]. Известно, что накопление ионов марганца в структурах головного мозга во взрослом организме приводит к заболеванию, симптоматически сходному с БП. Однако остаются мало изученными механизмы токсичности марганца в период формирования нервной системы [1].

**Целью** настоящего исследования являлась оценка нейропротекторного действия наномицеллярного комплекса карнозина с липоевой кислотой (КЛК) в модели пренатальной марганцевой токсичности, вызванной хроническим потреблением хлорида марганца с питьевой водой в эмбриональный период развития, с последующей индукцией паркинсонизма у потомства путем суб-хронического введения МФТП. Для оценки эмбриональной токсичности марганца самки мышей линии C57Bl/6 в течение всей беременности потребляли хлорид марганца, растворенный в питьевой воде в дозе 0,2 г/л. Часть самок вместе с марганцем получали КЛК перорально в дозе 5 мг/кг. Для моделирования симптоматики паркинсонизма потомству в возрасте 3 месяцев вводили внутривентрикулярно нейротоксин МФТП в дозе 10 мг/кг в течение 5 дней [3]. Через 7 дней после последнего введения оценивали состояние животных в тестах “открытое поле” и “сила хвата”. Активность процессов перекисного окисления липидов в гомогенатах ткани мозга экспериментальных животных оценивали с помощью метода железо-индуцированной хемилюминесценции через 7 дней после последнего введения МФТП.

Пренатальное потребление марганца совместно с МФТП привело к снижению вертикализации мышей в тесте “открытое поле” и снижению показателей в тесте “сила хвата”, в то время как животные, получавшие только МФТП, по данным показателям не отличались от контрольных животных. В свою очередь мыши, потреблявшие марганец совместно с КЛК,

оказались устойчивы к действию нейротоксина и выполняли все тесты наравне с контрольными животными. Повышение уровня гидроперекисей липидов (ГЛ) отмечалось только в группе животных с МФТП-индуцированным паркинсонизмом, потреблявших марганец в эмбриональный период развития, при этом уровень гидроперекисей в этой группе значимо превышал данный параметр у животных, получавших только МФТП. Введение антиоксиданта КЛК препятствовало росту ГЛ. Снижение общей антиоксидантной активности отмечалось у животных получавших как МФТП, так и совместно марганец с МФТП относительно контроля в одинаковой степени. КЛК значимо повышал общий антиоксидантный статус ткани мозга у животных.

Таким образом, пренатальное потребление марганца усиливало нейротоксический эффект МФТП, а комплекс КЛК эффективно снижал наблюдаемые физиологические и нейрохимические нарушения.

1. Brus R., Jochem J., Nowak P., et al. // Neurotox Res. 2012. V.21. N.2. P.143-148.
2. Huang M., Barges-Carot A., Riaz Z., et al. // Int J Mol Sci. 2022. V.23. N.18. P.10808.
3. Muthian G., Mackey V., King J., et al. // Neuroscience. 2010. V.169. N.3. P.1085-1093.

## **ИОННЫЕ КАНАЛЫ ВОЗБУДИМЫХ МЕМБРАН: ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ**

Тихонов Д.Б.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Институт Эволюционной Физиологии и Биохимии им. И.М.Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург*

Ионные каналы — это трансмембранные белки, которые образуют водные поры и позволяют ионам проходить через мембрану в соответствии с электрохимическим градиентом. Они участвуют во многих физиологических функциях, особенно в возбудимых клетках. Ионы перемещаются по каналам с очень высокой скоростью (более миллиона ионов в секунду). В результате они опосредуют большинство быстрых нейрофизиологических процессов, таких как установление мембранного потенциала покоя, генерация и формирование потенциалов действия, синаптическое высвобождение нейромедиаторов, постсинаптические реакции, сокращение мышц, доставка кальция и т.д. Многочисленные токсины, вырабатываемые пауками, скорпионами, змеями, рыбами, пчелами, морскими улитками и другими организмами, имеют своими мишенями ионные каналы. В медицине ионные каналы являются одними из наиболее важных мишеней для фармакологического воздействия. Многие запрещенные препараты также воздействуют на ионные каналы. Множественные наследственные нарушения, которые называются каналопатиями, связаны с мутациями в генах ионных каналов, а также в белках, которые регулируют эти каналы. Дисфункции ионных каналов имеют катастрофические последствия для организма.

Рентгеновская кристаллография произвела революцию в нашем понимании ионных каналов, поскольку до 1998 года, не было данных об их структурах на атомном уровне. Технические препятствия, в частности, проблемы с кристаллизацией мембранных белков, препятствовали получению рентгеновских данных. Таким образом, наши знания в значительной степени основывались на косвенных данных, таких как стехиометрия субъединиц, локализация сегментов, пронизывающих мембрану, и мутационный анализ остатков, влияющих на свойства каналов и их взаимодействия с лигандами. Прорыв в решении проблемы нехватки структурных данных высокого разрешения произошел благодаря новаторской работе Родерика Маккиннона, который опубликовал первое рентгеноструктурное исследование калиевого канала бактерии *Streptomyces lividans*. Это достижение стало поворотным моментом, подготовившим почву для нескольких последовательных публикаций, разъясняющих тонкости архитектуры ионных каналов.

Коллективное признание значимости этих работ привело к присуждению Нобелевской премии в 2003 году.

Быстро растущее число кристаллических и криоэлектронных структур раскрывает как общие, так и специфические особенности каналов. Появление моделей AlphaFold2 представляет собой еще один важный шаг в компьютерном прогнозировании структур белков. Сравнение экспериментальных структур каналов с соответствующими моделями показывает, что в экспериментально разрешенных областях наблюдаются согласованные закономерности укладки. Несмотря на этот значительный прогресс, многие важные структурные детали, особенно важные для прогнозирования результатов мутаций и разработки новых медицински значимых лигандов остаются нерешенными.

Одна из важнейших проблем заключается в том, что статические кристаллические и криоэлектронные структуры описывают низкоэнергетическое состояние, получаемое в нефизиологических условиях, что дает ограниченное представление о механизмах перехода между функциональными состояниями и зависящим от состояния связыванием фармакологических агентов.

Пока не произойдет следующего методологического прорыва, перспективный подход к более глубокому анализу структур ионных каналов предполагает интеграцию различных экспериментальных и теоретических методов. Только объединяя экспериментальные данные с расчетными прогнозами, исследователи могут получить более глубокое представление о функционировании и регуляции каналов, прокладывая путь для разработки новых терапевтических стратегий, нацеленных на эти каналы при различных заболеваниях. Одной из перспективных стратегий является структурная биоинформатика – количественное сравнительное исследование множества гомологичных структур.

## **ВЫРАЖЕННОСТЬ ИЛЛЮЗИИ МЮЛЛЕРА-ЛАЙЕРА – МАРКЁР СИТУАТИВНОЙ (РЕАКТИВНОЙ) ТРЕВОЖНОСТИ**

Толмачева Е.А.<sup>1</sup>, Котельникова А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт психологии РАН, Москва*

<sup>2</sup>*ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва*

Зрительно-пространственное восприятие является наиболее значимым из всех видов восприятия человека и животных. В рамках психофизиологии существует направление, в котором для изучения механизмов константности восприятия, основанного на зрительно-пространственной системе отсчета, используются оптико-геометрические иллюзии [2]. Отличительной особенностью иллюзий является их устойчивость и невозможность контроля со стороны сознания. Исследование психофизиологических механизмов когнитивных функций способствует поиску объективных критериев оценки наличия и выраженности симптомов и синдромов нервно-психических расстройств. **Целью** данной работы было изучение взаимосвязи между величиной силы одной из самых сильных оптико-геометрических иллюзий - иллюзии Мюллера-Лайера (ИМЛ), точностью глазомера при уравнивании длин двух отрезков и субъективной оценкой психического состояния человека.

Исследование проводилось на базе Московского научно-практического центра медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины им С.И. Спасокукоцкого. Участвовали 34 пациента, находившихся на стационарном этапе медицинской реабилитации с нарушениями двигательных функций, развившихся на фоне заболеваний опорно-двигательного аппарата. Психическое состояние оценивали на основе психометрического теста для диагностики депрессивных состояний, разработанного в НИИ психоневрологии им. В.М. Бехтерева, теста Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина для определения личностной и ситуативной тревожности, а также шкалы тревожности Дж. Тейлор в адаптации Т.А. Немчина. Выраженность ИМЛ и точность глазомера исследовались методом

многократного уравнивания длин двух отрезков при помощи специального интерактивного компьютерного обеспечения [2].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ситуативная тревожность достоверно коррелирует с выраженностью ИМЛ. Повышение ситуативной тревожности сопровождается увеличением силы ИМЛ. В свою очередь, величина ИМЛ коррелирует с точностью глазомера при уравнивании длин двух отрезков. Статистически значимой корреляции между выраженностью ИМЛ, уровнем личностной тревожности и проявлений депрессивного состояния у испытуемых выявлено не было.

В недавнем исследовании было показано снижение точности при оценке длины отрезков в условиях волновой качки на яхте [1]. Ранее было установлено снижение величины ИМЛ в условиях микрогравитации при параболическом полёте [4]. Эти данные указывают на значимость как соматосенсорной, так и вестибулярной информации, идущей от отолитового аппарата, для точных измерений величины зрительных объектов. Одним из факторов, определяющих выраженность полисенсорных иллюзий, является уровень тормозного медиатора ГАМК в отдельных областях головного мозга и его модулирующее влияние на осцилляторную активность нейронов в гамма диапазоне ( $>30\text{Hz}$ , по данным регистрации ЭЭГ), отражающую интеграцию отдельных признаков при восприятии сложных объектов [3]. Повышение выраженности ИМЛ при высокой ситуативной тревожности может быть обусловлено нарушением баланса возбуждающих и тормозных медиаторов в головном мозге, что приводит к нарушению гамма диапазона осцилляторной активности нейронов фронтальных и теменно-затылочных областей мозга, обеспечивающих функции зрительно-пространственного восприятия и его контроль.

На основании проведенного исследования можно утверждать, что ситуативная тревожность сопровождается нарушением функций зрительно-пространственного восприятия и его контроля, и выраженность оптико-геометрической иллюзии Мюллера-Лайера может служить объективным маркером уровня ситуативной тревожности, в отличие от субъективных данных опросников.

1. Ляховецкий В.А., Скотникова И.Г., Карпинская В.Ю. // Экспериментальная психология. 2024. Том 17. № 1. С. 4-16.
2. Огнивов В.В., Рожкова Г.И., Токарева В.С. // Сенсорные системы. 2006. Т. 20. № 4. С. 288-299.
3. Balz J., Keil J., Roa Romero Y., et al. // Neuroimage 2016. 125: 724-730.
4. Villard E., Garcia-Moreno F.T., Peter N, et al. // Neuroreport. 2005. V.16(12) P.1395-1398.

## **ОСОБЕННОСТИ ЭФФЕКТОВ ЕСТЕСТВЕННОГО И СИНТЕТИЧЕСКОГО ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ НА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ ЗВЕНО НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА КРЫС**

Труш В.В.<sup>1</sup>, Соболев В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донецкий государственный университет», г. Донецк,*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Ялта*

Несмотря на достаточно хорошую изученность молекулярных механизмов действия глюкокортикоидов (ГК), срочные и долговременные их эффекты на нервно-мышечный аппарат остаются предметом дискуссии. Если в начале нынешнего века сформировалось представление о позитивных эффектах кратковременно вводимых ГК на нервно-мышечную систему, то в более поздних исследованиях установлено, что даже при кратковременном

применении ГК вызывают блокирование холинорецепторов и ослабление синаптической передачи [1], апоптоз мышечных волокон [2], острую стероидную миопатию [3].

**Целью** работы явилось исследование срочных и долговременных эффектов естественного (гидрокортизон) и синтетического (дексаметазон) ГК на функциональное состояние *m. tibialis anterior* крыс.

Эксперименты проводились на молодых крысах-самках (n=140) с исходной массой тела 195-205 г в 3 этапа с использованием электрофизиологических методов. На I этапе оценивали эффекты однократных доз гидрокортизона (50 мг/кг) и дексаметазона (2 мг/кг) на функциональные параметры *m. tibialis anterior* спустя 1 час и 24 часа после введения препаратов. На II этапе изучали эффекты субхронически вводимого гидрокортизона (3 мг/кг/сутки, на протяжении 30 дней) на электрофизиологические, сократительные и энергетические параметры *m. tibialis anterior*. На III этапе исследовали влияние дексаметазона (0,25 мг/кг, 1 раз в 2 суток) на энергетические параметры *m. tibialis anterior* в динамике 2-месячного периода его введения в организм. По окончании сроков воздействий на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг) проводили острый опыт, в котором оценивали электрофизиологические, эргометрические, миотермические и сократительные параметры *m. tibialis anterior*.

Установлено, что эффекты ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата характеризуются определенными особенностями, зависимыми как от длительности их введения, так и от типа стероида. Естественный и синтетический ГК вызывали однонаправленные изменения электрофизиологических параметров мышцы ( $p < 0,05$  относительно контроля): укорочение хронаксии (на 20-21 %) и латентного периода М-ответа (на 14-33%), увеличение скорости тетанического сокращения (на 25-63 %) и появление у большей части особей (70-80 %) выраженного облегчения синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции (30 имп/с). Вместе с тем, положительное эрготропное действие на *m. tibialis anterior*, проявляющееся в увеличении объема внешней работы (на 51%) и мощности сокращения (на 59%), оказывал только гидрокортизон (спустя 1 час после введения) на фоне укорочения периода максимальной работоспособности мышцы (на 24%). Через сутки после введения гидрокортизона наблюдалась нормализация эргометрических параметров мышцы на фоне повышения ее устойчивости к утомлению. Дексаметазон не оказывал положительный эрготропный эффект и вызывал уменьшение ( $p < 0,05$  относительно контроля) максимальной работоспособности мышцы (на 40-44%) и КПД мышечной работы (на 29-51%).

Субхроническое введение гидрокортизона приводило ( $p < 0,05$  относительно контроля) к существенному ухудшению сократительных и энергетических параметров мышцы – уменьшению амплитуды одиночного сокращения (на 32 %), замедлению его фаз (на 19-29 %), снижению внешней работы мышцы при тетаническом сокращении (на 41 %) и ее силы (на 42 %), КПД тетанического сокращения (на 60%), возбудимости нервно-мышечного аппарата (удлинение хронаксии на 69 %) и синаптическим нарушениям (снижению надежности и лабильности синапсов, исходной их заблокированности), но при этом увеличению устойчивости мышцы к утомлению.

Субхроническое введение дексаметазона вызывало ухудшение ( $p < 0,05$  относительно контроля) не только эргометрических (снижение внешней работы мышцы на 45-41 % спустя 20-50 дней введения) и энергетических (снижение КПД мышечной работы на 26-82 % спустя 10-40 дней применения) параметров мышцы, но и ее устойчивости к утомлению.

Наблюдаемые различия в срочных и долговременных эффектах естественного и синтетического ГК на функциональное состояние *m. tibialis anterior* могут быть отчасти связаны с особенностями активации ими разных типов ГК-рецепторов (GR и MR) в мышечных волокнах.

1. Гришин С.Н., Габдрахманов А.И., Хайруллин А.Е. и др. // Биол. мембраны. 2017. Т. 34, № 4. С. 251-260.

2. Lee M.-C., Wee G.-R., Kim J.-H. // J. Nutr. 2005. V. 135, № 7. P. 1806S-1808S.
3. Sun L.-Y., Chu X.-L. // Medicine (Baltimore). 2017. V. 96, № 34. P. e7474.

## **ГОРМОНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ВЫБОРА НАПРАВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА**

Тюрин-Кузьмин П.А.<sup>1</sup>, Чечехин В.И.<sup>1</sup>, Кулебякин К.Ю.<sup>1</sup>, Калинина Н.И.<sup>1</sup>, Попов В.С.<sup>1</sup>, Ткачук В.А.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Кафедра биохимии и регенеративной биомедицины, факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва*

В настоящее время метаболические болезни, связанные с нарушениями функционирования жировой ткани, приобрели всеобъемлющий характер. Сахарный диабет, метаболический синдром и сердечно-сосудистые заболевания являются одними из ведущих причин инвалидизации и потери трудоспособности людей. Ключевой причиной развития ожирения является нарушение процессов обновления жировой ткани, в основе которого лежит особый подтип стволовых клеток взрослого организма, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК). МСК обеспечивают постоянное обновление жировой ткани, превращаясь в различные типы клеток жировой ткани, такие как белые адипоциты, бежевые адипоциты, регуляторные клетки, клетки, формирующие внеклеточный матрикс, гладкомышечные клетки. МСК проявляют функциональную гетерогенность, которая проявляется в различной чувствительности отдельных клеток к гормонам-регуляторам функционирования жировой ткани. МСК регулируются целым рядом эндокринных и паракринных сигналов, среди которых норадреналин, серотонин и ангиотензин II играют ключевую роль в регуляции дифференцировки этих стволовых клеток. Более того, в МСК показаны уникальные механизмы переключения гормональной чувствительности и внутриклеточных сигнальных каскадов, которые лежат в основе комплексной регуляции функциональной активности этих клеток [1].

В данной работе мы использовали методы анализа внутриклеточных сигнальных каскадов на уровне одиночных клеток для регистрации функциональной гетерогенности МСК [2] и стандартные протоколы дифференцировки клеток, совмещенные с протоколами наблюдения за дифференцировочной судьбой единичных клеток. Кроме того, мы использовали методы определения транскриптома на уровне единичных клеток, которые позволили выявить функциональные субпопуляции в культуре МСК человека [3]. Мы обнаружили, что большинство клеток в популяции МСК несли на своей поверхности рецепторы ко множеству гормонов. Несмотря на это, на конкретный индивидуальный гормон была способна отвечать лишь небольшая доля клеток в популяции. При этом группы клеток, воспринимающие определенный гормон, характеризовались определенной функцией, которую они выполняли в рамках функционирования целостной ткани. Мы показали функциональные субпопуляции МСК, в рамках которых клетки отвечали на действие гормона единообразно и обладали сходным дифференцировочным потенциалом. Мы показали, что на самых начальных этапах активации МСК переходят в состояние, в котором они приобретают способность к выбору направления дифференцировки (инициированное состояние). В этом состоянии МСК обладают свойствами стволовой клетки, описанными в литературе для клеток, вышедших из ниши. Переход МСК в инициированное состояние наблюдается под влиянием катехоламинов за счет стимуляции  $\beta_3$ -адренорецепторов. При этом происходит повышение чувствительности клеток к норадреналину, сопряженное с экспрессией  $\alpha_1A$ -адренорецепторов за счет синтеза цАМФ, активации протеинкиназы А и повышения трансляции, но не транскрипции  $\alpha_1A$ -адренорецепторов и не активации цАМФ-зависимых транскрипционных факторов [4-5]. Этот сигнальный феномен является уникальным для клеток взрослого организма человека. После повышения уровня  $\alpha_1A$ -адренорецепторов МСК приобретали способность к кальциевой сигнализации в ответ на действие катехоламинов. Этот феномен был связан с выбором

направления дифференцировки МСК между контракильным фенотипом и теплопродуцирующими бежевыми адипоцитами. Таким образом, МСК проявляли функциональную гетерогенность, которая связана с дифференцировочным потенциалом отдельных клеток популяции МСК.

*Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда №19-75-30007 (<https://rscf.ru/project/19-75-30007/>).*

1. Chechekhin V. I., Kulebyakin K., Kokaev R. I., et al. // *Frontiers in Cell and Developmental Biology* – 2022. – V.10. – 953374.
2. Chechekhin V. I. Kulebyakin K. Y., Kalinina N. I., et al. // *MethodsX*. – 2024. – V.12, P. 102587
3. Хозяинова А.А., Валяева А.А., Арбатский М.С., и др. // *Биохимия*. – 2023. – Т. 88. № 2. – С. 171-198.
4. Chechekhin V. I., Ivanova A. M., Kulebyakin K. Y., et al. // *BBA-Molecular Cell Research*. – 2024. – Т. 1871. – №. 2. – С. 119651.
5. Chechekhin V., Ivanova A., Kulebyakin K., et al. // *Cells*. – 2023. – V.12, №4. – P. 585.

### **СРАВНЕНИЕ $\beta$ -АМИЛОИДА И ЕГО ASP 7 ИЗОФОРМЫ: ОСОБЕННОСТИ АГРЕГАЦИИ И ЭФФЕКТЫ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ**

Ушакова В.М.<sup>1,2</sup>, Зоркина Я.А.<sup>1</sup>, Абрамова О.В.<sup>1</sup>, Барыкин Е.П.<sup>3</sup>, Куанаева Р.М.<sup>4</sup>,  
Зубков Е.А.<sup>1</sup>, Очнева А.Г.<sup>1</sup>, Валихов М.П.<sup>1</sup>, Ванеев А.Н.<sup>4</sup>, Тимошенко Р.В.<sup>4</sup>, Митькевич  
В.А.<sup>3</sup>, Гурина О.И.<sup>1</sup>, Чехонин В.П.<sup>1</sup>, Морозова А.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Москва*

<sup>3</sup>*ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва*

<sup>4</sup>*Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва*

Болезнь Альцгеймера представляет собой наиболее распространенную форму деменции, которая вызывает когнитивные и функциональные нарушения и значительно снижает качество жизни пациентов и их семей [2]. Одной из гипотез развития заболевания является отложение  $\beta$ -амилоида в межклеточном пространстве с последующим образованием сенильных бляшек, что делает белок важным фактором в исследовании и диагностике заболевания.

Показано, что сенильные бляшки содержат ряд модификаций  $\beta$ -амилоида. Одной из наиболее распространенных из них является изомеризация по 7 остатку аспаргиновой кислоты (Asp 7) [3]. В бляшках в тканях головного мозга пациентов, страдающих от болезни Альцгеймера, Asp 7 изоформы  $\beta$ -амилоида составляют до 50% от всех молекул амилоида [4]. Ряд работ отражает нейротоксические свойства изомеров  $\beta$ -амилоида [1], что делает белок перспективным объектом для изучения в трансляционных исследованиях. В связи с этим, **целью** нашей работы стало сравнение агрегационных свойств и эффектов стереотаксического введения  $\beta$ -амилоида<sub>1-42</sub> и его Asp 7 изомера.

Для изучения агрегации амилоида был использован атомно-силовой микроскоп NTEGRA II (НТ-МДТ, Россия), при помощи которого анализировались свойства белковых фракций при разных сроках и температурных режимах инкубации: 24 ч и 4 °С, 24 ч и 37 °С, 48 ч и 4 °С, 48 ч и 37 °С. Для последующего стереотаксического введения были выбраны олигомеры  $\beta$ -амилоида<sub>1-42</sub>, получаемые при самом коротком сроке инкубации (24 ч, 4 °С). Раствор вводился самцам крыс Wistar весом 200-250 г (n=26). Животные были разделены на группу ложнооперированного контроля и экспериментальные группы, которым интравентрикулярно вводили  $\beta$ -амилоид<sub>1-42</sub> и его изоформу соответственно. Стереотаксическое введение раствора осуществлялось билатерально в объеме 10  $\mu$ l и скорости введения 2  $\mu$ l/мин по следующим координатам: AP:-1; ML: $\pm$ 1,5; DV:-4,3. Поведение крыс оценивалось в тестах «Открытое

поле» и «Водный лабиринт Морриса». Наряду с исследованием поведенческих признаков, производилась определение уровня окислительного стресса во фронтальной коре и гиппокампе крыс при помощи электрохимического интравитального анализа с использованием платиновых наноэлектродов. Статистический анализ полученных данных проводился в программе jamovi (версия 2.3.21). Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

Данные атомно-силовой микроскопии выявили значимые отличия между олигомерами  $\beta$ -амилоида<sub>1-42</sub> и его Asp 7 изоформы. В частности, была показана статистически значимая разница в размерах молекул: изомеры образовывали более крупные олигомеры ( $p < 0,05$ ), которые также характеризовались более высокой способностью к образованию фибрилл. Кроме того, было показано, что температурный режим больше влияет на степень агрегации, чем срок инкубации. Анализ поведения показал отсутствие значимых межгрупповых различий по уровню двигательной (пройденная дистанция,  $p = 0,9$ ) и ориентировочно-исследовательской активности (число стоек,  $p = 0,547$ ). В то же время, у экспериментальных групп были выявлены нарушения когнитивных функций: в группе изо-амилоида животные практически не находили платформу в тестовой попытке в лабиринте Морриса; время поиска платформы статистически значимо отличалось от контрольной группы ( $p < 0,05$ ). В тесте через неделю крысы группы амилоид проводили значимо меньше времени в отсеке, где ранее располагалась платформа, по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). При оценке нейрохимических изменений, у группы, подвергавшейся стереотаксическому введению Asp 7 изоформы, уровень окислительного стресса в тканях коры и гиппокампа был значимо выше по сравнению с животными обеих групп ( $p < 0,05$ ). Эти данные могут указывать на различия в механизмах патогенного действия рассматриваемых форм белков.

Таким образом, полученные данные отражают различия в агрегационных свойствах и механизме действия  $\beta$ -амилоида<sub>1-42</sub> и его Asp 7 изоформы. Результаты поведенческого анализа указывают на возможность формирования когнитивных нарушений посредством стереотаксического введения изомеров  $\beta$ -амилоида и подтверждают важность их дальнейшего изучения в трансляционных исследованиях.

1. Barykin E.P., Garifulina A.I., Kruykova E.V. et al // Cells. 2019. V.8(8):771.
2. Cummings J.L., Tong G., Ballard C. et al. // J Alzheimers Dis. 2019. V.67(3). P. 779-794.
3. Kozin S.A., Kechko O.I., Adzhubei A.A. et al. // Int J Mol Sci. 2023. V.25(1):72.
4. Roher A.E., Lowenson J.D., Clarke S., et al. // J. Biol. Chem. 1993. V.268. P. 3072–3083.

## **ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ СЕРОВОДОРОД И ОКСИД АЗОТА ИЗМЕНЯЮТ ДЕФОРМИРУЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫСЫ ЧЕРЕЗ ВЛИЯНИЕ НА ХЛОРНЫЕ И КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ**

Фадюкова О.Е., Кошелев В.Б.

*Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

Эритроциты способны деформироваться, что делает возможным их проникновение в капилляры меньшего диаметра, чем диаметр самого эритроцита, и обеспечивает адекватное кровоснабжение тканей. На деформируемость эритроцитов (ДЭ) в кровотоке оказывают влияние разнообразные биоактивные вещества, в их числе газообразные медиаторы сероводород ( $H_2S$ ) и оксид азота ( $NO$ ), которые образуются в окружающих тканях и клетках крови. В связи с этим **целью исследования** стало проанализировать эффекты доноров сероводорода NaHS и оксида азота нитропруссид натрия (SNP) на параметры ДЭ крысы в опытах *in vitro*, а также некоторые возможные молекулярные механизмы их действия.

Кровь крыс, полученную под анестезией из нижней полой вены (ЭДТА, 2 мг/мл), делили на пробы и инкубировали их с NaHS ( $6 \cdot 10^{-5}$  М) или SNP ( $10^{-7}$  М) в течение 15 мин при  $37^{\circ}C$ . За 10 мин до инкубации проб крови с донорами газотрансмиттеров добавляли неселективный

блокатор хлорных CFTR-каналов глибенкламид ( $5 \cdot 10^{-6}$  М), или неспецифический блокатор  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых калиевых каналов тетраэтиламоний хлорид (ТЭА,  $10^{-3}$  М), или специфический блокатор  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых калиевых каналов клотримазол ( $2 \cdot 10^{-6}$  и  $2 \cdot 10^{-5}$  М). ДЭ оценивали с помощью лазерного агрегометра-деформометра эритроцитов «РеоАДВ-КФ». Определяли индекс деформируемости эритроцитов (ID) при разных скоростях сдвига и параметры деформируемости эритроцитов: предел текучести мембраны  $\ln\gamma_0$ , характеризующий ее жесткость;  $\text{tg}(\alpha)$ , характеризующий вязкость внутриклеточного содержимого эритроцита; и  $\text{ID}_{\text{max}}$  при скорости сдвига  $3065 \text{ с}^{-1}$ .

NaHS и SNP изменяли параметры ДЭ однонаправленно и сходно по величине:  $\text{tg}(\alpha)$  снижался при действии каждого вещества на 5%, а  $\ln\gamma_0$  на 9% и 7% соответственно ( $p < 0,05$ ). Однако при совместном действии NaHS и SNP изменение параметров ДЭ было меньше, чем при раздельном их применении.

В серии опытов по изучению механизмов действия  $\text{H}_2\text{S}$  и NO на ДЭ NaHS уменьшал  $\ln\gamma_0$  на 5-6% и  $\text{tg}(\alpha)$  на 5% по сравнению с контрольной пробой также как и SNP, который уменьшал  $\ln\gamma_0$  на 4-7% ( $p < 0,05$ ). В присутствии глибенкламида снижение параметров ДЭ в ответ на NaHS исчезало практически полностью ( $p < 0,05$ ), тогда как в ответ на SNP только частично. ТЭА и клотримазол подавляли изменения параметров ДЭ в ответ на NaHS и на SNP ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, газотрансмиттеры  $\text{H}_2\text{S}$  и NO участвуют в регуляции ДЭ в микроциркуляторном русле, изменяя параметры ДЭ однонаправленно, и имеют разные механизмы действия, включающие CFTR-каналы и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые калиевые каналы.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НИТРОКСИСУКЦИНАТА 3-ГИДРОКСИ-6-МЕТИЛ-2-ЭТИЛПИРИДИНИЯ И В6-NO НА ИОННЫЕ КАНАЛЫ КАРДИОМИОЦИТОВ**

Фролова Ш.<sup>1,2</sup>, Роаа Дииб<sup>1</sup>, Коваленко С.Г.<sup>1,2</sup>, Мищенко Д.В.<sup>3</sup>, Агладзе К.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Лаборатория экспериментальной и клеточной медицины Московского физико-технического института, Долгопрудный*

<sup>2</sup> *Лаборатория молекулярной и клеточной диагностики Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского, Москва*

<sup>3</sup> *Институт проблем химической физики Российской академии наук, Российская Федерация, Черноголовка*

В настоящее время изучение возникновения аритмий и способов борьбы с ними является всё еще очень актуальным направлением. Одной из причин возникновения аритмий является ишемия сердца. К ишемии часто приводит окислительный стресс, при котором свободные радикалы окисляют липиды мембраны кардиомиоцитов. Таким образом повреждая мембраны окислительный стресс приводит к гипоксии клеток, а, следовательно, к ишемии сердца. Известно также, что оксид азота NO играет важную роль в регуляции тонуса сосудов, но окисленные липиды снижают синтез NO в организме. Для профилактики заболеваний, связанных с оксидативным стрессом, могут быть использованы препараты с антиоксидантной активностью. Новые соединения, синтезированное в Институте проблем химической физики (ИПХФ) Российской академии наук, нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридиния [1] и В6-No [3] производное пиридоксина, как раз обладает антиоксидантными свойствами, оно увеличивает продукцию монооксида азота в клетках сердца и защищает железосерные центры дыхательной цепи митохондрий сердца, мозга и печени в тканях животных от окислительного стресса [2]. Гибридное соединение нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридиния состоит из двух компонентов: нитросукцината и гидроксипиридина, поэтому приводит к генерации продукции оксида азота в клетках, а также защищает ЖСЦ дыхательной цепи митохондрий сердца, мозга и печени в составе тканей животных от окислительного повреждения.

Т.к. в сердечно-сосудистой системе главную роль в генерации потенциала действия для проведения возбуждения в сердце ответственны ионные каналы, то это исследование было направлено на изучение влияния нового антиоксидантного соединения нитроксисукцинат 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина на потенциалзависимые ионные каналы кардиомиоцитов, играющие главную роль в формировании потенциала действия. Были изучены потенциалзависимые быстрые натриевые каналы Nav1.5 и быстрые кальциевые каналы Cav, L-type под действием данного соединения.

**Целью** нашего исследования было понять влияет ли данное соединение на работу ионных каналов и в каких концентрациях.

Исследование было проведено электрофизиологическим методом пэтч-кламп в конфигурации «перфорированная целая клетка» на изолированных неонатальных кардиомиоцитах новорожденных крысят.

Установлено, что в концентрации до 1 мМ нитроксисукцинат 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина не оказывает влияния на работу быстрых натриевых каналов Nav1.5 и быстрых кальциевых каналов Cav, L-type. В концентрации выше 1 мМ наблюдалось подавление быстрых натриевых токов I<sub>Nav1.5</sub> и быстрых кальциевых токов I<sub>Cav, L-type</sub>.

В результате было показано, что в концентрациях, в которых нитроксисукцинат 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина оказывает антиоксидантные свойства (20-160 мкМ • л<sup>-1</sup>) [3], не оказывает влияния на работу быстрых натриевых каналов Nav1.5 и быстрых кальциевых каналов Cav, L-type. А в концентрациях начиная с 1 мМ подавляет данные тонные токи дозозависимым способом. Исследование на потенциалзависимые калиевые ионные каналы продолжается.

1. Патент RU 2394815 С2
2. Т. Н. Богатыренко, З. В. Куроптева, Л. М. Байдер, и др. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2020, № 10
3. Патент RU 2 712 914 С2
4. Т. Р. Приходченко, А. А. Балакина, В. И. Амозова, и др. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2022, № 12

## **ЛОКАЛЬНЫЕ И ГЛОБАЛЬНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ЖИЗНЕУГРОЖАЮЩИХ ЖЕЛУДОЧКОВЫХ АРИТМИЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ОККЛЮЗИИ ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ У СВИНЕЙ**

Цветкова А.С., Хоменко П.В., Поселянинов А.С., Груббэ М.Е., Овечкин А.О.,  
Берникова О.Г., Азаров Я.Э.

*Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,  
Сыктывкар*

Считается, что для развития фибрилляции желудочков наиболее значимым является увеличение трансмуральной разности потенциалов в небольшом миокардиальном участке. В то же время, известно, что изменения глобальных электрофизиологических показателей также успешно предсказывают возникновение жизнеугрожающих желудочковых тахикардий. **Задачей** данного исследования было оценить связь локальных и глобальных электрофизиологических и ЭКГ изменений, и их ассоциацию с фибрилляцией желудочков при экспериментальной острой ишемии миокарда у свиней.

Работа проведена на 25 свиньях (масса тела 30-45 кг, обоего пола) в соответствии с международными этическими нормами. Животных анестезировали, переводили на искусственную вентиляцию легких, обнажали сердце. Для моделирования острой 40-минутной ишемии проводили окклюзию левой коронарной артерии. Униполярные интрамиокардиальные электрограммы регистрировали с трех гибких погружных многоэлектродных нитей (16 электродов на каждой), которые были введены трансмурально

через стенки левого желудочка (ЛЖ) и межжелудочковой перегородки (МЖП) на базальном, среднем и апикальном уровнях желудочков. Записи проводились в контроле и на 1-й, 2,5-й, 5-й и затем каждые 5 минут коронарной окклюзии параллельно с 12 стандартными ЭКГ отведениями. Локальное время активации (АТ) и время окончания реполяризации (RT) измерялись в каждом интрамиокардиальном отведении. Глобальная дисперсия реполяризации (DORmax) определялась как разница между максимальным и минимальным значениями RT. Глобальная длительность активации (АТmax) определялась как максимальное значение из всех отведений. Локальная трансмуральная дисперсия реполяризации (tDOR) рассчитывалась как  $tDOR = (RT_n - RT_{n+1})/\Delta x$ , где  $\Delta x$  – расстояние между соседними (n и n+1) электродами. Трансмуральная дисперсия активации (tDAT) рассчитывалась аналогично. Определялись максимальные значения трансмуральных дисперсий в различных областях миокарда. В каждом из 12 стандартных отведений ЭКГ измерялись и анализировались длительности QRS и Tpe, а также их максимальные значения.

В ходе эксперимента животные разделились на две равные группы в зависимости от возникновения/отсутствия фибрилляции желудочков (ФЖ). В группе с ФЖ у 5-ти животных возникли ранние фибрилляции (1А, первые 5 минут ишемического периода), а у 8 животных — отсроченные ФЖ (1В, после 15й минуты ишемии). У животных с ФЖ наблюдались ранние на 5-й и отсроченные пики 25-30-й минуте окклюзии АТmax (59.6±5.7, p=0.003 и 59.4±5.3, p=0.002, соответственно, vs. 38.1±2.5 мс в контроле) и tDAT (7.4±2.0, p=0.009 и 5.9±1.6, p=0.014, соответственно, vs. 1.4±0.2 мс в контроле), а также аналогичная динамика для QRS (101.2±3.4, p<0.001 и 93.3±3.4, p=0.004, соответственно, vs. 83.5±2.0 мс в контроле) и QRSV4 (80.8±7.3, p=0.006 и 67.0±5.3, p=0.244, соответственно, vs. 64.0±3.7 мс в контроле). В то же время у животных без ФЖ этих изменений не наблюдалось. У животных с ФЖ показано прогрессивное увеличение с максимальным значением на 30-35-й минуте ишемии DORmax (144.3±17.2 vs 89.9±5.7 мс в контроле, p<0.001) и tDOR (7.2±3.7 vs. 4.6±1.2 мс в контроле, p=0.408). Аналогичные изменения наблюдались для Tpe (92.7±7.8 vs. 74.7±4.7 мс в контроле, p=0.016) и TpeV2 (71.1±6.8 vs. 51.1±2.9 мс в контроле, p=0.03). В то же время, подобные изменения DORmax и Tpe не были обнаружены для животных без ФЖ. Корреляционный анализ Пирсона показал, что локальные трансмуральные изменения (tDAT и tDOR) ассоциированы как с локальными (QRSV4 и TpeV2), так и с глобальными (QRS и Tpe) изменениями ЭКГ. В то же время, и локальные, и глобальные параметры успешно предсказывают возникновение ФЖ в условиях окклюзии левой коронарной артерии в логистическом регрессионном анализе.

Таким образом, мы пришли к выводу, что локальные и глобальные ЭКГ-предикторы фибрилляции желудочков связаны между собой и имеют одинаковую прогностическую ценность при ишемии. Локальные показатели электрофизиологических неоднородностей не превосходят глобальные по прогностической ценности. Поэтому глобальные ЭКГ-маркеры, такие как длительность комплекса QRS и интервала Tpe, более универсальны для оценки риска ишемических аритмий.

*Работа выполнена в рамках темы НИР 1021052404529-3.*

## **ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ СТИМУЛЯЦИИ CAUDATE-PUTAMEN У СУБПОПУЛЯЦИЙ КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij С АБСАНСНОЙ И СО СМЕШАННОЙ ФОРМАМИ ЭПИЛЕПСИИ**

**Цыба Е.Т.<sup>1</sup>, Аббасова К.Р.<sup>1</sup>**

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

Крысы линии WAG/Rij – генетическая модель генерализованной абсансной эпилепсии, среди которых до 50% особей предрасположены к аудиогенным припадкам [3]. Электрофизиологические и фармакологические исследования показывают вовлеченность

дофаминергической системы как в абсансную (неконвульсивную), так и в аудиогенную (конвульсивную) эпилепсию [1, 2, 4, 5]. Ранее нами было показано, что в caudate-putamen (CPu) есть области, отличающиеся по плотности дофаминовых рецепторов (ДА-рецепторов): у предрасположенных к аудиогенным судорогам крыс WAG/Rij (WAG/Rij-AGS) плотность ДА-рецепторов была выше, чем у неаудиогенных крыс WAG/Rij (WAG/Rij-nonAGS) [2].

**Цель** исследования – выяснить как вовлечены области CPu с разной плотностью ДА-рецепторов в контроль абсансной активности у двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij (только с абсансной или и с абсансной, и с аудиогенной активностью).

Высокочастотную стимуляцию CPu 130Hz проводили на двух субпопуляциях крыс линии WAG/Rij: WAG/Rij-nonAGS (n=6) крысы только с абсансной эпилепсией и WAG/Rij-AGS (n=6) крысы со смешанной формой эпилепсии. Перед каждой стимуляцией в течение первого часа проводили базовую запись ЭЭГ, в течение следующего часа выполняли высокочастотную стимуляцию CPu в режиме closed-loop. После окончания стимуляции регистрировали ЭЭГ в течение трех часов для регистрации отставленных эффектов.

Показано, что высокочастотная стимуляция прерывает 92,6% ПБП у WAG/Rij-AGS и 0% у WAG/Rij-nonAGS. Во время стимуляции у крыс субпопуляции WAG/Rij-AGS наблюдали достоверное снижение средней продолжительности ПБП ( $p < 0.01$ ), указывающее на эффективность прерывания ПБП. По параметрам “Количество разрядов” и “ПБП-индекс” достоверных различий обнаружено не было. Анализ отставленных эффектов также не показал статистически достоверных различий у двух субпопуляций.

Таким образом, полученные нами результаты показывают, что области CPu с различной плотностью ДА-рецепторов у WAG/Rij-AGS и WAG/Rij-nonAGS отличаются по контролю абсансной активности. Одним из механизмов высокочастотной стимуляции является ее десинхронизирующее действие на контуры, вовлеченные в эпилептическую активность. Можем предположить, что наблюдаемые ответы на воздействие высокочастотной стимуляции, различающиеся по эффективности купирования абсансной активности в CPu у двух субпопуляций крыс с различными типами эпилепсии, вызваны разными контурами, регулирующими эту активность, а также с разной реактивностью проекций в эту область. Результаты исследования показывают, что дофаминергическая система у больных эпилепсией может служить терапевтической мишенью для контроля судорог. Учитывая вовлеченность дофаминергической системы в часто наблюдаемые коморбидные для эпилепсии состояния – тревожность и депрессию, ухудшающих качество жизни и осложняющих фармакотерапию, исследования в этом направлении являются особо актуальными.

1. Midzyanovskaya I.S., Kuznetsova G.D., Vinogradova L.V., et al. // *Epilepsy Behav.* 2004. V.5. P.655–661.
2. Midzyanovskaya I.S., Shatskova A.B., MacDonald E. et al. // *J Behav Brain Sci.* 2020. V10. P. 29-45.
3. Musameh M.D., Fuller B.J., Mann B.E. et al. // *Br. J. Pharmacol.* 2006. V.149. P.1104-1112.
4. Tsyba E., Midzyanovskaya I., Birioukova L. et al. // *Diagnostics.* 2023. V.13. P. 587.
5. Tugba E.K., Medine G.I.O., Ozlem A. et al. // *Pharmacol Biochem Behav.* 2022. V. 213. P. 173317.

## ВЛИЯНИЕ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА СЕРДЦЕ КРЫС НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

Цыбина А.Е.<sup>1</sup>, Герцен О.П.<sup>1</sup>, Клинова С.В.<sup>2</sup>, Жигулина М.А.<sup>3</sup>, Набиев С.Р.<sup>1</sup>,  
Минигалиева И.А.<sup>2</sup>, Никитина Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург

<sup>2</sup>Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, Екатеринбург

<sup>3</sup>Уральский Федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург

Свинец (Pb) – один из наиболее распространенных тяжелых металлов, который широко используется человеком и вызывает значительное загрязнение окружающей среды. Этот ксенобиотик попадает в организм человека с водой и растительной пищей, при прямом контакте с кожей, а также при вдыхании дыма и пыли [3]. Свинец способен накапливаться в тканях и органах и может быть причиной развития различных функциональных нарушений и заболеваний. В частности, воздействие свинца связано с повышением риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и способствует развитию гипертонии и ишемической болезни сердца [1]. Источниками загрязнения являются свинцово-кислотные аккумуляторы, краски, керамические и ювелирные изделия, а также, в большей степени, горнодобывающая промышленность и металлургия [2]. Так, работники предприятий особенно подвержены хроническому воздействию свинцовой интоксикации, как правило, сочетающейся с мышечной работой большей или меньшей тяжести. Имеются данные о снижении токсических эффектов свинца (например, ослабления кардио- и нейротоксичности, окислительного стресса) при наличии регулярных физических упражнений [4,5]. Однако влияние сочетания свинцовой интоксикации и физической нагрузки на развитие возможных патологических процессов и на функцию сократительных белков миокарда до сих пор остается малоизученным.

**Цель** данной работы - изучение влияния физической нагрузки на состояние правого желудочка сердца крыс на молекулярном уровне в условиях субхронической свинцовой интоксикации.

Оценка изменения характеристик актин-миозинового взаимодействия проводилась с использованием искусственной подвижной системы (*in vitro* Motility assay). Соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -тяжелых цепей миозина выявлялось методом гель-электрофореза.

Под действием свинцовой интоксикации (группа "Pb") наблюдалось снижение максимальной скорости скольжения реконструированного тонкого филамента по миозину правого желудочка на 24% по сравнению с контрольной группой (группа "С"), что коррелирует со сдвигом соотношения тяжелых цепей миозина в сторону увеличения более медленных  $\beta$ -цепей на 32%. При физической нагрузке (группа "R") скорость движения реконструированного тонкого филамента по миозину и соотношение тяжелых цепей миозина не отличались от таковых в контрольной группе. Однако, в результате физической нагрузки при свинцовой интоксикации (группа "Pb+R") скорость движения реконструированного тонкого филамента увеличивалась на 22,8% по сравнению с группой "Pb", но не достигала значений контрольной группы (меньше на 6,8%). Данные результаты также коррелируют со сдвигом соотношения  $\alpha$ - и  $\beta$ -тяжелых цепей миозина - со снижением содержания  $\beta$ -цепей на 15% по сравнению с группой "Pb" и с увеличением содержания  $\beta$ -цепей на 17% по сравнению с контрольной группой. При этом, изменений в составе легких цепей миозина выявлено не было (представлены только желудочковые изоформы).

Таким образом, можно сделать вывод о снижении влияния свинцовой интоксикации на сократительные белки миокарда при физической нагрузке и о положительном эффекте выполнения физических упражнений на сердце крыс в целом.

1. Chen, Z., Huo, X., Chen, G. et al. // Environ Sci Pollut Res. 2021; 28, 28833–28847.
2. Pal, M., Sachdeva, M., Gupta, N., et al. // Biol Trace Elem Res. 2015; 168(2), 380–391.
3. Patrick L. // Altern Med Rev. 2006; 11(1), 2-22.
4. Roshan VD, Assali M, Moghaddam AH, et al. // Int J Toxicol. 2011; 30(2), 190-196.
5. Shahandeh M, Roshan VD, Hosseinzadeh S, et al. // Neural Regen Res. 2013; 8(8), 714-722.

## ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ СЕРЫХ ВОРОН (*CORVUS CORNIX*) К РЕШЕНИЮ НОВОГО КОМПЛЕКСА ПРОТООРУДИЙНЫХ ЗАДАЧ И КООПЕРАЦИИ

Чеплакова М.А., Смирнова А.А.

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

Одним из методов, применяемых для исследования наглядно-действенного мышления животных, являются протоорудийные задачи, в которых орудие заранее соединено с приманкой. Ранее нами было обнаружено, что некоторые серые вороны (*Corvus cornix* L.) и обыкновенные вороны (*Corvus corax* L.) способны спонтанно, т.е. без длительного обучения, справиться со сложными вариантами протоорудийных задач на подтягивание приманки при помощи веревки<sup>1</sup>. Важно отметить, что орудийная деятельность не входит в видоспецифический репертуар поведения этих птиц. Одну из протоорудийных задач (на подтягивание подноса при помощи выскальзывающей веревки) применяют для исследования способности животных к кооперации<sup>2,3</sup>, однако неизвестно, понимают ли они ее структуру.

В связи с этим **первой задачей** данной работы была оценка способности серых ворон понимать структуру нового комплекса протоорудийных задач на подтягивание приманки при помощи выскальзывающей веревки. А **второй** — оценка способности этих птиц к кооперации.

С шестью воронами провели тест, в котором к одному из концов пропущенной через петли в подносе веревки был привязан объект-ограничитель, который не давал веревке выскользнуть из петель (подтянуть поднос можно было только за другой конец). В каждой из 30 тестовых проб использовали новый ограничитель. Ни одна из ворон с этим тестом не справилась, поэтому далее их обучили ее решению (ограничителем был узел). С повторным тестом справились три вороны из шести. Еще две птицы справились с ним после дополнительного обучения с тремя новыми ограничителями.

Несмотря на полученный опыт, ни одна из птиц не справилась со следующим тестом, в котором ограничителя не было (поднос можно было подтянуть только за оба конца веревки). Четырех ворон удалось обучить решению этой задачи.

В заключительном тесте дополнительную короткую веревку, не соединенную с подносом, размещали параллельно концам длинной веревки (подтянуть поднос можно было только за концы длинной). Все вороны нашли неожиданный способ решения этой задачи — в некоторых пробах они подтягивали поднос за все три конца. Анализ тех проб, в которых птицы подтягивали поднос за два конца, показал, что одна из ворон достоверно чаще выбирала концы соединенной с подносом веревки, что может свидетельствовать о понимании ей структуры этой задачи.

Далее с этими четырьмя воронами, получившими значительный опыт решения задач с выскальзывающей веревкой, провели тест на кооперацию. Он был организован таким образом, чтобы уменьшить вероятность случайной координации действий, и, таким образом, оценить способность птиц к спонтанной намеренной кооперации.

Двух ворон одновременно выпускали из боковых клеток в центральный отсек, разделенный прозрачной перегородкой. Перед его передней стенкой были размещены три подноса с двумя кормушками. Каждой вороне был доступен только один конец веревки, пропущенной через центральный поднос. Для того чтобы подтянуть этот поднос, обе вороны должны были одновременно потянуть за ее концы. Оба конца веревки от каждого из двух других подносов были доступны только одной птице. Этот поднос, взяв за оба конца пропущенной через него веревки, каждая ворона могла подтянуть самостоятельно. С каждой

парой птиц провели по 30 таких проб. Обе пары птиц, несмотря на приобретенный значительный опыт решения задач на подтягивание подноса с приманкой при помощи выскальзывающей веревки, с тестом на кооперацию спонтанно не справились. Одна пара птиц начала учиться синхронизации действий — во второй половине теста в некоторых пробах они подтягивали центральный поднос.

*Финансирование работы: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №23-28-00364).*

1. Багоцкая М.С., Смирнова А.А., Зорина З.А. // Журн. Вышш. Нервн. Деят. им. И.П.Павлова. 2010. Т. 60. № 3. С. 321-329.
2. Heaney M., Gray R., Taylor A. // PloS one. 2017. V. 12. № 2. P. e0169799.
3. Martin J., Koski S., Bugnyar T. et al. // An. Beh. 2021. V. 173. P. 115–136.

### **ПРИ КОНФИГУРАЦИОННОМ АССОЦИАТИВНОМ ОБУЧЕНИИ ПОВЫШАЕТСЯ МОЩНОСТЬ ОСЦИЛЛЯЦИЙ В ТЕТА-ДИАПАЗОНЕ**

Позняк Л.А.<sup>1</sup>, Пульцина К.И.<sup>1,2</sup>, Третьякова В.Д.<sup>1,2</sup>, Ушаков В.Л.<sup>2</sup>, Чернышев Б.В.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Центр нейрокognитивных исследований (МЭГ-центр), МГППУ, Москва*

<sup>2</sup> *Институт перспективных исследований мозга, МГУ, Москва*

<sup>3</sup> *Кафедра высшей нервной деятельности, биологический факультет, МГУ, Москва*

Конфигурационное обучение является формой ассоциативного обучения, при которой условным стимулом выступает целостный комплекс стимульных элементов, а не отдельные стимулы или их изолированные свойства. Имеющиеся сведения о гиппокамп-зависимой сети тета-синхронизации, связанной с конфигурационной памятью [1], а также предполагаемый механизм формирования новых следов конфигурационной памяти посредством взаимодействия нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры в тета-диапазоне [3], подталкивают к изучению динамики и локализации тета-синхронизации в неокортексе. **Целью** настоящей работы был анализ нейрофизиологических процессов при конфигурационном обучении в сравнении с элементарным у человека с помощью метода магнитоэнцефалографии (МЭГ).

Задача ассоциативного обучения включала предъявление элементарных стимулов (зрительных и слуховых), а также межмодальных комплексных стимулов (предъявление зрительных и слуховых стимулов одновременно). Часть элементарных и комплексных стимулов сочетались с безусловным стимулом – электро-кожным раздражителем (ЭКР), подаваемым через 4 с после начала условных стимулов, в то время как другие служили дифференцировочными стимулами и не сочетались с подкреплением. Успешность выработки ассоциации подтверждали, как с помощью эксплицитных ответов участников эксперимента (нажатие на кнопки), так и по электрокожной активности.

Частотно-временной анализ осуществляли в тета-диапазоне (4-7 Гц) на каждой эпохе отдельно. Для каждой топографической области коры больших полушарий в пространстве источников была построена смешанная линейная модель, в которой мощность тета-осцилляций ставилась в зависимость от двух фиксированных факторов - тип условного стимула (элементарный или комплексный), и подкрепление (подкрепляемый или неподкрепляемый). Области интереса выбирали по условию достоверности взаимодействия между указанными факторами (с учетом FDR коррекции на множественное сравнение совокупно на общее число топографических областей и число временных интервалов). В пределах каждой области интереса мощность тета-осцилляций усредняли по пространству, и анализировали с помощью смешанных моделей, аналогичных описанным выше, и критерия Тьюки для попарных сравнений.

Анализ выявил повышение мощности в тета-диапазоне, связанное с предъявлением подкрепляемого комплексного стимула. Широко распространенный по коре, данный эффект

присутствовал во временном интервале, связанным с сенсорной обработкой (0 - 400 мс), а также в более позднем интервале, ассоциированным с когнитивной обработкой (400 - 800 мс).

В каждой из пространственно-временных зон интереса выявлена повышенная мощность осцилляций в тета-диапазоне при предъявлении комплексного стимула, ассоциированного с последующим предъявлением ЭКР – как в сравнении с подкрепляемыми элементными стимулами, так и в сравнении с неподкрепляемым комплексным стимулом. Наблюдаемый эффект может свидетельствовать о вовлечении как гиппокамп-зависимых, специфично связанных с конфигурационной памятью, так и гиппокамп-независимых неспецифических сетей тета-активации [1], однако время усиления мощности тета-осцилляций в настоящей работе наступает раньше, чем в указанной статье. Отдельно необходимо отметить увеличение тета-синхронизации в префронтальных и височных областях в связи с их предполагаемой ролью в формировании воспоминаний, а также в свете их возможного нисходящего участия данных областей в сенсорной обработке знакомых стимулов [2].

Таким образом, выявлено обширное повышение мощности осцилляций в тета-диапазоне для подкрепляемого комплексного стимула в сравнении с элементными стимулами, а также в сравнении с неподкрепляемым комплексным стимулом – во временных диапазонах, связанных как с сенсорной, так и с когнитивной обработкой.

*Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-78-00010, <https://rscf.ru/project/23-78-00010/>.*

1. Cashdollar N., Malecki U., Rugg-Gunn F.J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2009. V.106 (48), P.20493–20498.
2. Kveraga K., Ghuman A. S., Kassam K.S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2011. V.108(8). P.3389–3394.
3. Nardin M., Kaefer K., Stella F., Csicsvari J. // Cell reports. 2023. V. 42(9). P.113015.

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ К ТРЕНИРОВКАМ В БАДМИНТОНЕ У ДЕТЕЙ**

Чершинцева Н.Н., Зверев А.А.

*Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма,  
Казань*

Изучение физиологических механизмов адаптации сердечно-сосудистой системы (ССС) детей к физическим нагрузкам является одной из основных тем в исследованиях возрастной физиологии. Известно, что в возраст с 6 до 10 лет характеризуется интенсивными анатомическими преобразованиями в организме детей. Происходит значительное увеличение анатомических размеров сердца и существенные функциональные изменения в его деятельности. Многообразие изменений параметров кровеносной системы вызвано тем, что в компенсационных реакциях ССС принимают участие механизмы местного, регионального и системного уровней [2]. ССС является индикатором адаптационно-приспособительных реакций организма к воздействию факторов внешней среды, в том числе и к физическим нагрузкам [1]. Использование физической нагрузки позволяет объективно оценивать функциональное состояние организма спортсменов и их адаптивные возможности [3].

**Цель** данного исследования изучить физиологические механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы у детей, занимающихся бадминтоном на физические нагрузки.

Исследование по оценке изменения частоты сердечных сокращений проводили на базе Научно-исследовательского института физической культуры и спорта ФГБОУ ВО «Поволжский ГУФКСиТ» с помощью установки PowerLab (ADInstruments). Участники были информированы о ходе тестирования и предоставили добровольное согласие. В исследовании принимали мальчики от 8 до 10 лет (n=36) из них 16 бадминтонистов вошли в экспериментальную группу (ЭГ) и 20 детей не занимающиеся спортом в контрольную группу

(КГ). Регистрировали ЭКГ в состоянии относительного покоя в горизонтальном положении, активную ортостатическую пробу, пробу с депривацией зрительного анализатора (ДЗА), пробу с задержкой дыхания (20 сек). Обработку производили с помощью встроенного модуля анализа ЭКГ в программном обеспечении LabChartPro 8.0. Статистическую обработку результатов эксперимента проводили в программе Statistica 13. Определяли внутри- и межгрупповые различия с помощью парного и непарного критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Реакция на активную ортостатическую пробу не выявила значимых изменений между исследуемыми группами. При выполнении активной ортостатической пробы было зарегистрировано уменьшение RR – интервала в обеих группах на ЭГ 19% и КГ 20%, соответственно. Наибольшая реакция на ортостатическую пробу наблюдалась в изменении QT интервала, который увеличился на 10% ( $p \leq 0.05$ ) в КГ и не изменялся в ЭГ. При ДЗА наблюдалось изменение длительности зубца Р, который уменьшился на 25% ( $p \leq 0.05$ ) в КГ и не изменялся в ЭГ. При задержке дыхания наблюдалось увеличение длительности интервала QTс на 3% ( $p \leq 0.05$ ) в ЭГ, увеличение длительность зубца Р на 29% и уменьшение QTс (16%), QT (11%), JT(14%),  $T_{peak}$   $T_{end}$ (30%) ( $p \leq 0.05$ ) в КГ. Обнаруженные нами разнонаправленные реакции могут свидетельствовать о формировании физиологических механизмов адаптации ССС к нагрузкам. Известно, что тренировочная нагрузка влияет на увеличение толщины миокарда левого желудочка. В наших исследованиях обнаружены изменения длительности зубца Р между КГ и ЭГ, что свидетельствует о влиянии тренировок в бадминтоне и на миокард предсердий. Таким образом, механизмы адаптации ССС бадминтонистов на начальном этапе спортивной подготовки оказывают многогранное влияние на организм и сердечно-сосудистую систему в частности, повышая ее функциональные возможности.

1. Кудря О.Н. // Вестник Томского государственного педагогического университета. 2011. № 5 (107). С. 55-61.
2. Рутткой-Недецьки И. // Вестник аритмологии. 2001. №22. С. 56-60.
3. Чершинцева Н.Н. // Н.Н. Чершинцева, А.С. Назаренко, А.А. Зверев Кардиологический вестник. 2023. Т. 18. № 2-2. С. 186-187.

## **ОЦЕНКА НАЛИЧИЯ У СЕРЫХ ВОРОН ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О «НЕИСЧЕЗАЕМОСТИ» ОБЪЕКТОВ ПРИ ПОМОЩИ НОВОГО ТЕСТА**

*Чибисова Е.В., Дегтярева А.С., Смирнова А.А.*

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

Важным показателем для сравнения когнитивных способностей разных видов может служить способность формировать представление о том, что объекты, исчезнувшие из поля зрения, продолжают существовать (“постоянство объектов” [4], закон “неисчезаемости” [2]). Для оценки степени развития этого представления у животных используются тесты Пиаже [4] или их аналоги [5], которые были разработаны для оценки динамики развития этой способности в онтогенезе детей. Из-за многократного предъявления постепенно усложняющихся задач и использования дифференцированного подкрепления, на результаты теста может влиять обучение в ходе тестирования, и в том числе, формирование простых ассоциативных правил выбора (например, “приманка там, где была рука экспериментатора”). В связи с этим продолжает оставаться актуальной задача разработки универсальных тестов, позволяющих оценить наличие или отсутствие базового представления о “неисчезаемости” объектов у взрослых животных разных видов. Ранее мы разработали новый вариант такого теста и применили его для оценки наличия представления о “неисчезаемости” у домашних лошадей [1]. При исследовании динамики развития этой способности в онтогенезе серых ворон было показано, что к возрасту 4 месяцев эти птицы справляются со сложными вариантами таких тестов, соответствующих 5 стадии по Пиаже [3]. **Цель** данной работы -

оценить наличие представления о “неисчезаемости” объектов у серых ворон при помощи разработанного нами теста.

В работе участвовали 4 серые вороны (одна - старше 10 лет, одна - старше 3 лет; две - старше одного года). Через щель в передней стенке экспериментальной клетки в нее вдвигали поднос с двумя кормушками. К середине каждой была прикреплена нависающая над ее дальней половиной перегородка. Кормушки имели второе дно, под которое заранее помещали 5 личинок мучного хрущака. Лицо и глаза экспериментатора, который сидел напротив клетки, были скрыты очками, медицинской маской и козырьком кепки.

В ходе претренинга приманку не прятали. На его первом этапе экспериментатор показывал вороне две руки, между пальцами одной из которых была зажата личинка. Далее он разводил руки, прикасался ими к кормушкам, оставлял личинку в одной из них перед перегородкой (в поле зрения птицы), демонстрировал пустые руки и придвигал поднос к вороне. В половине проб руки скрещивали, помещая корм правой рукой в левую кормушку и наоборот. К следующему этапу переходили, когда птица брала личинку в 12 пробах подряд и не позднее 30 сек после ее предъявления. На втором этапе кормушки были повернуты на 90°, поэтому ворона могла видеть пространство с обеих сторон от перегородки. Личинку помещали на ту сторону, над которой нависала перегородка.

Затем четырем воронам предъявили тест на поиск спрятанной приманки. В тестовых пробах экспериментатор оставлял личинку за одной из перегородок (за вторую личинку помещали ранее - вне поля зрения птицы). 24 тестовые пробы (в них вороны получали приманку в 100% проб) чередовали с 48 фоновыми, в которых личинку помещали перед перегородкой (в них птицы получали приманку только в случае правильного выбора). Ни одна из ворон с тестом не справилась. Все они чаще искали личинку в определенной (левой или правой) кормушке. Причиной этого могло быть использование нами недифференцированного подкрепления, при котором птицы получали приманку в 100% случаев. Поэтому далее мы повторили тест, используя в тестовых пробах дифференцированное подкрепление. С таким тестом справились три птицы. Благодаря особенностям разработанной нами методики мы можем утверждать, что птицы не могли найти приманку по запаху, не могли научиться решать задачу в ходе претренинга и не решали тест за счет применения простых ассоциативных правил. Полученные результаты свидетельствуют о наличии у некоторых серых ворон представления о “неисчезаемости” объектов.

1. Дегтярева А.С., Смирнова А.А. // Когнитивная наука в Москве: новые исследования. 2023. С. 136-141.
2. Крушинский Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности: Эволюционный и физиолого-генетический аспекты поведения. 1986. 270 с.
3. Лазарева О.Ф. // Автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: 03.00.13. М. 2001.
4. Piaget J. // Int. Univ. Press; New York: 1954.
5. Uzgiris I.C., Hunt J. // University of Illinois Press, Champaign. 1975.

### **ДЕЙСТВИЕ 3-МЕТИЛФЕНАНТРЕНА НА ВОЗБУДИМОСТЬ ЖЕЛУДОЧКОВЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ НАВАГИ (*ELEGINUS NAWAGA*) В ЗИМНИЙ И ЛЕТНИЙ ПЕРИОД**

Шамшура А.В.<sup>1</sup>, Джуманиязова И.Х.<sup>1</sup>, Филатова Т.С.<sup>1</sup>, Абрамочкин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, МГУ имени  
М.В.Ломоносова, Москва*

Наиболее опасной группой веществ в составе нефти являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Они обладают относительно высокой растворимостью в воде и способны оказывать серьезное влияние на организм водных животных. Было показано, что наиболее серьезным эффектом ПАУ является их высокая кардиотоксичность [4]. Такой

эффект для некоторых ПАУ, например, фенантрена, был хорошо описан как для млекопитающих [5], так и для рыб [2].

Многие рыбы, являясь эктотермными животными, обладают механизмами, которые изменяют анатомию и физиологию сердца на фоне сезонных колебаний температуры. Это позволяет предположить, что разнообразные кардиотоксические соединения могут с разной силой действовать на животных, акклиматизированных к различным условиям [1][3].

**Целью** данного исследования стало сравнение эффектов 3-метилфенантрена (ЗМФ) на параметры ПД желудочковых кардиомиоцитов наваги в зимний и летний периоды.

Экспериментальную часть работы проводили в марте 2024г (зимний период) и с середины июня по середину июля 2024г (летний период) на Беломорской биологической станции МГУ. Желудочковые миоциты выделяли с помощью энзиматической обработки миокарда, описанной ранее [2]. Экспериментальная камера объемом 300 мкл была закреплена на столике инвертированного микроскопа Nikon Eclipse Ti-S и промывалась со скоростью 1 мл/мин раствором Тироде следующего состава (в ммоль/литр): NaCl 150, KCl 3,5, CaCl<sub>2</sub> 1,8, MgSO<sub>4</sub> 1,5, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,4, глюкоза 10, HEPES 10, pH 7,6 скорректирован NaOH. Пипетки заполняли раствором следующего состава (в ммоль/литр): KCl 140, MgCl<sub>2</sub> 1, EGTA 5, HEPES 10, MgATP 4, Na<sub>2</sub>GTP 0,03, pH 7,2 скорректирован KOH. Для записи ПД использовали методику пэтч-кламп в конфигурации whole-cell в режиме фиксации тока при помощи усилителя Axopatch 200B и программного обеспечения «WinWCP V5.7.5». Регистрировали ПД при величине тока 0,2-1 нА. Сравнения проводили как между контрольными группами, так и в присутствии 300нМ, 1мкМ и 3мкМ ЗМФ. Для статистической обработки использовали тест Манн-Уитни и двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным критерием Даннетта. Анализ проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8. Уровень значимости приняли за 0,05. Данные представлены в виде среднее±СОШ.

Анализ полученных данных показал, что в летний период по сравнению с зимним наблюдается увеличение длительности ПД как на уровне 50% реполяризации (ДПД50) (с 424±24,8 мс до 773,8±49,2 мс), так и 90% реполяризации (ДПД90) (с 507,9±28,6 мс до 909,4±53,8 мс). При воздействии ЗМФ во всех 3 концентрациях наблюдалось значимое увеличение ДПД50 в зимний период (с 424±24,8 мс до 563,3±53,5 мс при 300нМ, до 720,1±108,8 мс при 1мкМ и до 828,9±123,7 мс при 3 мкМ), ДПД90 (с 507,9±28,6 мс до 650,7±64 мс при 300нМ, до 799,5±108,4 мс при 1мкМ и до 883,9±119,1 мс при 3 мкМ), а также снижение амплитуды (с 99,7±2,9 мВ до 74,35±7,27 мВ) и максимальной скорости деполяризации (с 9,77±2,39 В/с до 4,15±0,62 В/с) при 3 мкМ. В летний период ЗМФ в концентрациях 1 и 3мкМ вызывал увеличение ДПД50 (с 773,8±49,2 мс до 1005±104 мс и до 1226,9±154 мс соответственно) и ДПД90 (с 909,4±53,8 мс до 1132±112 мс и до 1360±157 мс), а также снижение амплитуды (с 100,1±2,4 мВ до 86,14±5,56 мВ) и максимальной скорости деполяризации (с 9,88±1,02 В/с до 6,12±0,79 В/с) при 3 мкМ.

Таким образом, в зимний период ЗМФ наиболее опасен для организма наваги, так как даже в небольших концентрациях (300нМ) вызывает изменения электрической активности миокарда.

1. Abramochkin D. V. [и др.]. // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology 2022 58:1. 2023. № 1 (58). С. S44–S51.
3. Haverinen J., Vornanen M. // <https://doi.org/10.1086/590223>. 2009. № 5 (82). С. 468–482.
4. Incardona J. P., Collier T. K., Scholz N. L. // Toxicology and Applied Pharmacology. 2004. № 2 (196). С. 191–205.
5. Yaar S. [и др.]. // Environmental Health Perspectives. 2023. № 11 (131).

## ВАЗОМОТОРНАЯ РОЛЬ ПРОДУЦИРУЕМЫХ NADPH-ОКСИДАЗАМИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Швецова А.А.<sup>1</sup>, Шатеева В.С.<sup>1</sup>, Макуха Ю.А.<sup>1</sup>, Хлыстова М.А.<sup>1</sup>, Борзых А.А.<sup>2</sup>,  
Тарасова О.С.<sup>1,2</sup>, Гайнуллина Д.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Активные формы кислорода (АФК) обладают множеством сигнальных функций в клетках, в том числе принимают участие в регуляции тонуса сосудов. Одним из основных источников АФК в клетках сосудов является NADPH-оксидазный ферментативный комплекс (NOX). Вазомоторная роль продуцируемых NOX АФК исследована для взрослого организма, чего нельзя сказать о периоде раннего постнатального онтогенеза. При этом важно отметить, что механизмы регуляции тонуса сосудов в новорожденный период существенно отличаются от таковых во взрослом возрасте. Таким образом, **целью** исследования стало оценить вклад продуцируемых NOX АФК в регуляцию тонуса артерий в периоде раннего постнатального онтогенеза, а также изучить механизмы их вазомоторного влияния.

Основным объектом исследования была подкожная артерия 10-15-дневных и взрослых самцов крыс Wistar. Исследовали сократительные ответы артерии на агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов метоксамин в изометрическом режиме с использованием системы wire myograph, продукцию супероксидного анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) в данной артерии методом тканевой хемилюминесценции, а также содержание мРНК и белка каталитических субъединиц NOX в ткани артерий методами ПЦР в реальном времени и Вестерн блоттинга, соответственно.

Мы показали, что как базальная, так и стимулированная NADPH продукция  $O_2^{\cdot-}$  значительно выше в артериях крысят по сравнению со взрослыми крысами; пан-ингибитор NOX VAS2870 (10 мкМ) снижал вызванную NADPH продукцию  $O_2^{\cdot-}$  в сосудах крысят. Среди всех изоформ NOX, мРНК каталитической субъединицы второй изоформы (NOX2) была наиболее представлена в сосудах как крысят, так и взрослых крыс. Содержание белка NOX2 было существенно выше в ткани артерий крысят по сравнению со взрослыми животными. В функциональных экспериментах на изолированных сегментах подкожной артерии VAS2870 не оказывал влияния на вызванные метоксамином сократительные реакции артерий взрослых крыс, тогда как значительно снижал их в артериях крысят. Важно отметить, что эффекты VAS2870 в артериях крысят наблюдались и после удаления эндотелия. Селективный ингибитор NOX2 GSK2795039 (10 мкМ) также выраженно ослаблял сократительные ответы артерий крысят. Наконец, эффект VAS2870 сохранялся в присутствии ингибиторов Rho-киназы (Y27632, 3 мкМ), протеинкиназы С (PKC, GF109203X, 10 мкМ) или Src-киназы (PP2, 10 мкМ), но не в присутствии блокатора потенциал-управляемых  $Ca^{2+}$  каналов L-типа (LTCC, нимодипин, 0.1 мкМ).

Таким образом, продуцируемые NOX (преимущественно – NOX2) АФК обладают выраженным проконстрикторным влиянием в подкожной артерии крыс в периоде раннего постнатального онтогенеза, но не во взрослом возрасте, что связано с высоким содержанием этого фермента в сосудах крысят. Механизм проконстрикторного влияния продуцируемых NOX АФК связан с активацией LTCC, но не Rho-киназы, PKC и Src-киназы.

*Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (№ 23-25-00056).*

## РОЛЬ ПОЛОВЫХ РАЗЛИЧИЙ В ЦИТОКИНОВЫХ РЕАКЦИЯХ У СПОРТСМЕНОВ

Швыдченко И.Н.

*Кубанский государственный университет физической культуры,  
спорта и туризма, Краснодар*

*Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар*

Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что умеренные упражнения и в целом физическая активность могут улучшить иммунные функции независимо от пола, тогда как длительные и высокоинтенсивные упражнения временно ухудшают иммунные реакции в большей степени у женщин, чем у мужчин [1]. Считается, что гены, сцепленные с X-хромосомами, гормоны и социальный контекст являются одними из многих факторов, которые способствуют различным иммунным реакциям у мужчин и женщин [2]. Различия в восприимчивости к инфекционным заболеваниям могут быть тесно связаны с экспрессией цитокиновых генов и функцией клеток врожденного иммунитета, таких как нейтрофилы. Показано, что существуют четкие половые различия в биологии нейтрофилов, связанные с ответами на IFN типа I, иммунометаболизмом и статусом их созревания [3]. Цитокины не только участвуют в регуляции иммунного ответа, но и обеспечивают коммуникацию между иммунной, нервной и эндокринной системами, в связи с чем их содержание в крови и характер секреции клетками может служить индикатором различных процессов в организме. Известно, что физическая нагрузка в зависимости от характера, продолжительности и интенсивности активизирует секрецию цитокинов иммунными и мышечными клетками с транзиторным изменением их уровня в плазме крови [5]. В то же время остается недостаточно изученным вопрос обусловленности цитокиновых реакций на физическую нагрузку половыми различиями. **Целью** данного исследования было изучение роли половых различий в цитокиновых реакциях у спортсменов. В исследовании приняли участие 43 спортсмена (23 мужчины и 20 женщин) различной спортивной специализации. Никто из спортсменов не страдал острыми или хроническими заболеваниями и не сообщал о приеме лекарств. От каждого участника было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Концентрацию цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-6, IL-8 и IL-10 в плазме крови и количество цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  в супернатантах после инкубации нейтрофилов периферической крови *in vitro* (20 ч, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) определяли с помощью иммуноферментного анализа. Нейтрофилы инкубировали в присутствии или в отсутствие ЛПС (*Escherichia coli* серотип 055:B5) при конечной концентрации 10 нг/мл. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических моделей. Не было обнаружено половых различий в уровне цитокинов плазмы крови, что согласуется с данными Nieman et al. (2001), которые не выявили разницы в содержании сывороточных цитокинов IL-1RA, IL-6, IL-8 и IL-10 между мужчинами и женщинами даже после тяжелой марафонской нагрузки [4]. В то же время при сравнении цитокин-секретирующей активности нейтрофилов были выявлены статистически значимые различия между спортсменами мужского и женского пола. Так, в супернатанте, полученном от нестимулированных нейтрофилов, у женщин было значительно выше содержание IL-6 ( $P < 0,05$ ). Кроме того, нейтрофилы женщин секретировали больше IL-1RA в ответ на стимуляцию ЛПС в отличие от нейтрофилов мужчин ( $P < 0,05$ ). Можно предположить, что противовоспалительный характер нейтрофильной секреции является одной из причин повышенной восприимчивости женщин спортсменок к острым респираторным инфекциям в период тяжелых нагрузок, однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью выяснить вклад факторов, специфичных для пола, в эти результаты и механизмы, лежащие в их основе. Наша работа имеет несколько ограничений, связанных с тем, что не учитывалась специализация (специфическая адаптация) и тренированность спортсменов, а также цикличность гормонального фона у женщин спортсменок, что может оказывать влияние на характер цитокиновых реакций.

1. Bauza D.E. R., Silveyra P. // *Respir. AMJ*. 2024. V. 2(1). P. 52-59.
2. Fish E.N. // *Nat Rev Immunol*. 2008. V. 8(9). P. 737–744.
3. Gupta S., Nakaboa S., Blanco L.P. et al. // *PNAS*. 2020. V. 117 (28). P. 16481–16491.
4. Nieman D.C., Henson D.A. Smith L.L. et al. // *J. Appl. Physiol*. 2001. V. 91. P. 109-114.
5. Walsh N.P., Gleeson, R.J. Shephard et al. // *Exerc. Immunol. Rev*. 2011. V. 17. P. 6–63.

## СИГНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕССЕНДЖЕРОВ И МЕХАНОСЕНСОРОВ ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ ПРИ ЕЕ ПЕРЕХОДЕ ОТ АКТИВНОСТИ К БЕЗДЕЙСТВИЮ

Шенкман Б.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской Академии Наук, Москва

В экспериментах с вывешиванием задних конечностей и с кратковременной невесомостью при полете по параболе Кеплера у крыс было неоднократно показано драматическое снижение, иногда вплоть до полного подавления, электрической активности камбаловидной мышцы. Временное прекращение тонической активности камбаловидной мышцы приводит к развитию атрофии и атонии мышц, изменению экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина в сторону преимущественной экспрессии быстрых изоформ, дисфункции митохондрий, фиброзу и миостеатозу. Естественным следствием прекращения сократительной активности мышечного волокна является изменение соотношения пуриновых нуклеотидов АТФ/АДФ/АМФ в сторону накопления АТФ, которое было впервые убедительно продемонстрировано в нашей лаборатории в 1–3 сутки вывешивания задних конечностей крысы [Zaripova et al.,2021; Lvova et al.,2023]. Непосредственным результатом накопления АТФ и снижения содержания АМФ в камбаловидной мышце является снижение уровня фосфорилирования АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК), которое было впервые обнаружено в *m. soleus* человека после 3-х суток сухой иммерсии и в *m. soleus* крысы в течение 1–3 суток вывешивания задних конечностей [Vilchinskaya et al.,2015; Mirzoev et al,2016; Vilchinskaya et al.,2017; Chibalin et al.,2018; Вильчинская и др.,2019; Lvova et al.,2023]. Снижение фосфорилирования АМПК может способствовать перестройке системы регуляции белкового обмена и экспрессии ключевых генов. Среди последствий снижения активности АМПК – гиперфосфорилирование эффектора mTORc1 рибосомальной киназы p70S6k, приводящее к увеличению экспрессии E3 убиквитин лигаз [Belova et al.,2019] и к снижению экспрессии pРНК [Rozhkov et al.,2022]. Дефосфорилирование АМПК также способствует ядерной транслокации гистондеацетилазы-4 и снижению транскрипции гена медленного миозина [Vilchinskaya et al.,2017; Paramonova et al.,2021]. Кроме того, накопление АТФ и снижение активности АМПК приводят к снижению экспрессии регуляторов биогенеза и функции митохондрий [Lvova et al.,2023] и к снижению мембранного потенциала, вероятно, вследствие снижения электрогенной активности Na,K-АТФазы [Kravtsova et al., 2018]. Снижение активности АМПК в первые дни бездействия мышцы также сопровождается снижением уровня фосфорилирования нейрональной NO-синтазы и продукции NO [Vilchinskaya et al,2015]. Накопление АТФ и деполяризация мембраны обуславливают открытие паннексиновых каналов, выход молекул АТФ из волокна и активацию пуринэргических рецепторов, приводящую в итоге к увеличенной продукции АФК и к синтезу инозитол-3-фосфата и повышению [Ca<sup>2+</sup>] в миоплазме [Zaripova et al., 2021; Nemirovskaya, Sharlo,2022]. Таким образом, экспериментальные данные подтверждают триггерную роль АТФ-зависимых механизмов в перестройке сигнальных путей постуральной мышцы при переходе от активности к бездействию в условиях реальной или моделируемой невесомости.

Из сказанного видно, что энергосенсорные АТФ-зависимые механизмы также способствуют накоплению ионов кальция в миоплазме при вывешивании задних конечностей [Ingalls et al, 1999]. Пониженная активность АМПК и изменение электрогенности Na,K-

АТФазы [Kravtsova et al., 2019] приводят к снижению мембранного потенциала и могут способствовать интенсивному поступлению ионов кальция в мышечное волокно [Krivoi et al., 2008]. В свою очередь накопление ионов кальция обуславливает активацию кальпаинов и распад цитоскелетных белков, а также развитие дисфункции митохондрий [Powers, 2011].

При переходе от активности к бездействию волокон постуральной мышцы также наблюдаются изменения механосенсорных систем. Уже во время первой недели вывешивания существенно снижаются содержание молекул титина [Shenkman et al, 2002] и интенсивность анаболического ответа на эксцентрические сокращения, что связано с изменением работы механо-активируемых каналов [Tyganov et al, 2019]. Интересно, что при разгрузке снижается экспрессия белка Piezo-1, основного компонента одноименных механо-активируемых каналов [Sergeeva et al, 2024]. Повышение активности актомиозиновых поперечных мостиков эффективно нивелирует это снижение.

Итак, при переходе от активности к бездействию постуральной мышцы наблюдается дефицит одних (NO) и накопление других (АТФ и ионы кальция) метаболических мессенджеров, а также редукция механо-сенсорных систем. Вызванные этими изменениями нарушения работы сигнальных путей приводят к мышечной атрофии, слабости и утомляемости мышц.

*Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.*

## **ПОПЫТКА РАЗРЕШЕНИЯ КОНФЛИКТА МЕЖДУ РАЗНЫМИ ВИДАМИ ВНИМАНИЯ В ИНТЕРФЕЙСАХ МОЗГ-КОМПЬЮТЕР НА ОСНОВЕ СЕНСОМОТОРНЫХ РИТМОВ**

Шишкин С.Л.<sup>1</sup>, Яшин А.С.<sup>1</sup>, Шевцова Ю.Г.<sup>1</sup>, Васильев А.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва*

<sup>2</sup> *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва*

Наиболее распространенным способом подачи команды в неинвазивных интерфейсах мозг-компьютер (ИМК) является представление (воображение) движений, которое подавляет сенсомоторные ритмы электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Однако парализованные люди могут не только представлять, но и пытаться делать движение, что вызывает еще более сильный отклик в ЭЭГ. Попытки выполнения движения, возможно, более эффективны для взаимодействия с ИМК, чем представление движений, в постинсультной реабилитации на основе ИМК [1] и в других приложениях. Это можно объяснить тем, что пользователь ИМК должен отслеживать обратную связь при срабатывании интерфейса, для чего ему нужно направлять внимание на внешние стимулы, в то время как при представлении движений внимание направляется «вовнутрь» (ср. [3]). Для упрощения изучения попыток совершения движений было предложено использовать в качестве их модели квазидвижения – попытки совершения движения, уменьшаемые по специальной методике до исчезновения и движения, и активации мышц, но не эффектов на ЭЭГ [2]. Однако можно было бы предположить, что и при выполнении квазидвижений нужен «внутренний» фокус внимания, и, соответственно, они также неблагоприятны для восприятия внешней информации.

Мы решили проверить гипотезу о том, что квазидвижения больше, чем представление движений, совместимы с задачами, требующими «внешнего» внимания, на примере просаккадной задачи. Мы взяли за основу эксперимент [4], в котором во время выполнения «внутренних задач» испытуемые должны были делать саккаду на целевой стимул, игнорируя дистрактор. В нашем случае в качестве «внутренней задачи» выполняли кинестетическое представление движений и квазидвижения, которым испытуемых обучали по методике [2. 3]. Качество выполнения квазидвижений и представления движений контролировалось опросом, по электромиограмме (ЭМГ) и по ЭЭГ. Если квазидвижения, в сравнении с представлением движений, являются менее «внутренней» задачей, это должно было проявиться в более

высокой точности выполнения просаккадной задачи, а также в субъективно меньших затрачиваемых усилиях, прилагаемых для выполнения совмещенной задачи. В эксперименте приняли участие 25 испытуемых (15 женщин, медиана возраста 23 года).

Представляемые движения оказались незначимо хуже квазидвижений по критериям удержания взгляда до появления цели, попадания взгляда в цель и по субъективной сложности задачи, а медианы субъективных оценок вызываемой задачей усталости практически совпали. Подавление сенсомоторных ритмов без просаккадной задачи было выражено сильнее при квазидвижениях, чем при представлении движений, однако эти различия не усилились при добавлении просаккадной задачи.

Среди отмеченных испытуемыми проблем, мешающих выполнять квазидвижения, выделялись сложность следить за отсутствием напряжения мышц и отсутствие кинестетической обратной связи. Поскольку инструкция создавала у испытуемых представление о том, что квазидвижения были разновидностью обычных движений, при отсутствии обратной связи во время их выполнения им могло казаться, что они что-то делают не так. Эти проблемы могли привести к нивелированию возможного превосходства квазидвижений над мысленным представлением движений. Если это так, то оно все же может быть продемонстрировано при модификации инструкций и протокола обучения квазидвижениям. Особенно важным представляется проведение сравнительного тестирования представления движений и квазидвижений в контуре интерфейса мозг-компьютер с искусственной обратной связью, подаваемой в режиме, приближенном к реальному времени – в этом случае отсутствие естественной обратной связи, возможно, будет компенсировано.

Таким образом, хотя основная гипотеза исследования в текущей версии протокола эксперимента не была подтверждена, при модификации протокола не исключено ее подтверждение. Исследование подтвердило высокий потенциал попыток совершения движений для использования в качестве замены общепринятой методике представления (воображения) движений. Был воспроизведен результат по более высокой способности квазидвижений подавлять альфа-компонент сенсомоторных ритмов ЭЭГ по сравнению с представлением движений, а также показано, что эти различия между квазидвижениями и представлением движений сохраняются при выполнении их совместно с просаккадной задачей.

1. Mansour et al. // Clin. EEG and Neurosci. 2021. V. 53. P. 79-90.
2. Nikulin V.V. et al. // Neuropsychologia. 2008. V. 46. P. 727-742.
3. Vasilyev et al. // Life. 2023. V. 13. Article ID 303.
4. Walcher et al. // PLOS ONE. 2023. V. 18. Article ID e0290322.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Щелчкова Н.А.<sup>1,2</sup>, Лапшин Р.Д.<sup>1</sup>, Архипова Е.В.<sup>1</sup>, Кузьмина Д.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»,  
Нижний Новгород.

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород.

Тенденция к старению населения в разных странах мира побуждает исследовать различные патологические факторы, которые ухудшают состояние здоровья при старении. Старение, в особенности, ускоренное вследствие стрессового воздействия, является серьезным фактором риска для развития системного хронического воспаления, метаболических расстройств, большинство форм рака, и др. [2].

Усугубляющаяся дисрегуляция метаболической сети с возрастом приводит к хроническому снижению активности цепи переноса электронов и угнетению адаптивных

клеточных стрессовых реакций, включая аутофагию, антиоксидантную защиту и деструкцию ДНК. Повышенная секреция многочисленных провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ), хемокинов тесно связана с реактивностью астроцитов и микроглии и развитием нейровоспаления [3].

Однако, воспалительные цитокины активируясь при инсулинорезистентности, модулируют передачу сигнала инсулина посредством серинового фосфорилирования IRS-1 и снижая экспрессию GLUT-4, тем самым уменьшая поступление глюкозы в клетки ГМ, где действие инсулина связано с правильным ростом и развитием нейронов и их выживанием.

**Цель:** изучить маркеры воспаления и инсулинорезистентности в головном мозге крыс разного возраста.

Объектом исследования послужили самцы белой лабораторной крысы линии Wistar разных возрастных групп из вивария ЦНИЛ ИФМ ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. Испытуемые животные были разделены на 3 возрастные группы: молодые (3 месяца, n=10), зрелые (12 месяцев, n=10) и пожилые (24 месяца, n=4).

Животных декапитировали, изымали головной мозг, на льду выделяли кору больших полушарий (КБП), помещали КБП в пробирку с ледяным фосфатно-солевым буфером для избавления от излишков крови и мозговых оболочек. После скальпелем иссекали ткань на мелкие кусочки и гомогенизировали в ледяном фосфатном буфере с помощью пестикового гомогенизатора Порттера в соотношении 1:10. Полученные гомогенаты центрифугировали в течение 5 минут при 10000 $\times$ g и аликвоты хранили при температуре  $\leq -80^{\circ}\text{C}$  в до выполнения исследования.

В работе применялись коммерческие ИФА наборы фирмы Cloud-Clone Corp, Китай для определения: инсулина, глюкагона, глюкагон-подобного пептида, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8.

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием программ Microsoft Office Excel 2019 и GraphPad Prism 8. Анализ полученных данных производили непараметрическими методами статистики (критерий Манна-Уитни). Различия между группами считались достоверными при значениях  $p < 0,05$ .

Определение провоспалительных факторов показало статистически значимое увеличение концентрации TNF $\alpha$  в группе животных возрастом 12 месяцев на 45% и на 37% у животных 24 месяцев относительно показателей группы животных 3 месяца. Между группами 12 и 24 месяца статистических отличий не выявлено. Аналогичная динамика обнаружена и для TGF $\beta$ . Показано многократное увеличение содержания фактора роста в гомогенате головного мозга с возрастом. По уровню ИЛ-6, ИЛ-8 достоверных отличий между исследуемыми группами не обнаружено.

Изучение регуляторных молекул в КБП показал многократное снижение концентрации инсулина у животных 12 и 24 месяцев относительно значений трехмесячных животных. Причем уровень глюкагона и глюкагон-подобного пептида у животных разного возраста статистически не изменялся.

Таким образом, у животных при хронологическом старении (12 и 24 месяцев) показано хроническое вялотекущее нейровоспаление по уровню провоспалительных цитокинов на фоне дисрегуляции инсулинзависимых процессов.

1. Dakic T., Jevdjovic T., Lakic I. // Int J Mol Sci. 2023. Vol. 24 (7). 6586.
2. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., et al. // Cell. 2023 Jan 19;186(2):243-278.
3. McHugh D, Gil J. // J Cell Biol. 2018 Jan 2;217(1):65-77. doi: 10.1083/jcb.201708092. Epub 2017 Nov 7.

## СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАРДИОМИОЦИТОВ ИЗ МИОКАРДИАЛЬНЫХ РУКАВОВ ГРУДНЫХ ВЕН МОРСКИХ СВИНОК

Бутова К.А., Мячина Т.А., Симонова Р.А., Кочурова А.М., Хохлова А.Д., Копылова Г.В.,  
Щепкин Д.В.

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

Миокардиальные рукава легочных вен (ЛВ) являются основным источником эктопической активности и предсердных аритмий [3]. Механическая активность кардиомиоцитов влияет на сопряжение возбуждения с сокращением сердца [2], однако механическая функция кардиомиоцитов ЛВ не изучена. Мы сравнили динамику длины саркомера в механически ненагруженных одиночных кардиомиоцитах из ЛВ и левого предсердия (ЛП) в сердце морской свинки. Для объяснения особенностей сокращения кардиомиоцитов мы сравнили фосфорилирование основных белков саркомера в миокарде ЛВ и ЛП.

Эксперименты проводились в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента. Отдельные кардиомиоциты из ЛП и ЛП были изолированы методом перфузии по Лангедорфу [3]. Длина, ширина и площадь поверхности кардиомиоцитов измерялись на снимке кардиомиоцитов с помощью системы IonOptix (IonOptix Corporation, США) и программного обеспечения FIJI ImageJ (National Institutes of Health, США). Изменения длины саркомера (SL) во время сокращений регистрировались с частотой 1 Гц с помощью системы IonOptix [1]. Фосфорилирование сердечного миозин-связывающего белка С (сMyBP-C), регуляторной легкой цепи миозина (RLC), тропонина Т (TnT) и тропонина I (TnI) оценивалось с помощью гель-электрофореза с окрашиванием ProQ Diamond и SYPRO Ruby (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Мы обнаружили, что сократительные характеристики кардиомиоцитов из PV и LA не различались между собой. Как в кардиомиоцитах LA, так и в PV абсолютные и относительные значения амплитуды укорочения саркомера положительно коррелировали с максимальной скоростью укорочения саркомера. В кардиомиоцитах LA как абсолютная, так и относительная амплитуда укорочения саркомера увеличивалась с увеличением его длины. Напротив, в кардиомиоцитах PV мы не обнаружили этой корреляции. Фосфорилирование сMyBP-C в PV и LA не отличилось, в то время как фосфорилирование RLC было примерно в 1,7 раза ниже в PV, чем в LA ( $p = 0,0065$ ). В PV фосфорилирование TnT было примерно в 1,4 раза выше ( $p = 0,0130$ ), а фосфорилирование TnI ( $p = 0,0043$ ) было примерно в 2,0 раза ниже по сравнению с LA. Более низкие уровни фосфорилирования RLC в PV могут быть причиной сниженной длинно-зависимой активацией силы в PV по сравнению с LA. Различия LA и PV в уровнях фосфорилирования TnT и TnI могут оказывать сложные эффекты на сократимость PV и LA кардиомиоцитов. Более низкий уровень фосфорилирования TnI может привести к нарушению длинно-зависимой активации миофиламентов в кардиомиоцитах PV.

Форма кардиомиоцитов важна для сократительной функции и зависит от деформации миокарда. В кардиомиоцитах PV мы не обнаружили корреляции между морфометрическими параметрами и амплитудой укорочения саркомера, что делает их более чувствительными к перегрузке объемом, чем кардиомиоциты LA. Эти особенности и электрофизиологические свойства миокарда PV могут способствовать возникновению и развитию фибрилляции предсердий.

*Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-24-00356.*

1. Butova X., Myachina T., Simonova R. et al. // Front Cardiovasc Med. 2023. V. 10. P. 1203093.
2. Lee Y., Cansız B., Kaliske M. // Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2022. V. 25. P. 1767–1783.
3. Roux N., Havet E., Mertl P. // Surg. Radiol. Anat. 2004. V. 26. P. 285–289.

## СЕРОВОДОРОД КАК НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ МОЛЕКУЛА В МОДЕЛИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ У КРЫС

Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.

*Казанский федеральный университет, Казань*

Эмбриональные и перинатальные патологии являются растущим фактором поведенческих, двигательных, когнитивных дисфункций, проявляющиеся у новорожденных. Одной из таких патологий, вызывающей не только кратковременные и долговременные изменения у потомства является пренатальная гипергомоцистеинемия (ГГЦ), возникающая вследствие нарушения метаболизма гомоцистеина (ГЦ) и его накопления в тканях организма. Дисфункции эндотелия являются одним из факторов токсического действия гомоцистеина, который приводит к нарушению целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) мозга, как у экспериментальных животных, так и у людей. Метаболизм гомоцистеина связан с образованием сероводорода ( $H_2S$ ) через реакцию транссульфирования при участии ферментов цистатион- $\beta$ -синтазы и цистатион- $\gamma$ -лиазы. Известно, что в физиологических концентрациях  $H_2S$  может оказывать цитопротекторное действие при поражениях сердечно-сосудистой системы, ЦНС и почек, связанных с ГГЦ. В связи с этим, в настоящей работе было проанализированы механизмы функциональных нарушений проницаемости ГЭБ мозга крыс в модели пренатальной ГГЦ и возможность предотвращения этих нарушений с использованием низких доз доноров  $H_2S$  в течении беременности. Для создания пренатальной ГГЦ самки крыс в период беременности получали высокие концентрации метионина (7 г/кг). Потомство делилось на следующие группы: контроль; животные с пренатальной ГГЦ; с введением доноров  $H_2S$  (NaHS или N-ацетилцистеин, NAC) во время беременности в контроле (K-NaHS/NAC) и при ГГЦ (ГГЦ-HS). С использованием биохимических методов исследования оценивали проницаемость ГЭБ, уровень метаболита NO и провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6), а также активность лактатдегидрогеназы в плазме и митохондриального комплекса-I в клетках мозга крыс с пренатальной ГГЦ и в группе ГГЦ-HS.

Проницаемость ГЭБ оценивали по экстравазации Evans blue (EV) в гомогенате клеток мозга крыс в возрасте 1.5, 6 и 12 месяцев после рождения. В контрольной группе крыс с возрастом наблюдалось небольшое увеличение концентрация EV в мозге. У крыс с пренатальным ГГЦ проницаемость ГЭБ в возрасте 1.5 месяцев была в ~15 раз выше по сравнению с контролем и с возрастом снижалась, но в возрасте 12 месяцев оставалась выше по сравнению с контролем. Таким образом, высокие уровни гомоцистеина во время беременности вызывают долгосрочное нарушение целостности ГЭБ мозга. У потомства в группах K-NaHS/NAC проницаемость ГЭБ достоверно не изменялась по сравнению с контрольной группой. Введение NaHS или NAC во время беременности самкам крыс с ГГЦ восстанавливало проницаемость ГЭБ их потомства. В группе ГГЦ-HS/NAC уровень EV в мозге был значительно снижен по сравнению с уровнем EV в группе ГГЦ животных.

В следующей серии экспериментов проанализировали действие гомоцистеин тиолактона - токсичный метаболита гомоцистеина на проницаемость ГЭБ мозга. Подкожное введение DL-гомоцистеина тиолактона крысам в возрасте 1.5 месяца значительно увеличивало проницаемость ГЭБ крыс по сравнению с контролем. Предварительное введение ингибитора НМДА рецепторов - МК-801 или доноров  $H_2S$  -NaHS/NAC предотвращало увеличение проницаемости ГЭБ мозга крыс. Нарушение проницаемости ГЭБ часто ассоциируется с усилением окислительного/нитрозативного стресса и нейровоспаления. Поэтому в следующей серии экспериментов оценивали уровень нитрозативного стресса и воспаления, активность лактатдегидрогеназы (LDH) и митохондриального комплекса - I (МС-I) у крыс групп ГГЦ и ГГЦ-HS. Уровни нитритов, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 и активность LDH были значительно повышены, а активность МС-I снижена у крыс с пренатальной ГГЦ. В тоже время в группе ГГЦ-HS наблюдалось восстановление уровень провоспалительных цитокинов, нитритов и активность комплекса дыхательной цепи в клетках мозга, а также активность LDH в сыворотке крови.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что высокий уровень гомоцистеина в пренатальный период развития мозга крыс приводил к нарушению проницаемости ГЭБ, как в пренатальной модели ГГЦ, так и после острого введения DL-гомоцистеина тиолактона. Введение доноров H<sub>2</sub>S во время беременности оказывало протекторное действие на проницаемость ГЭБ за счет регуляции воспалительных реакций, нитрозативного стресса, митохондриальной активности и сохранения функций эндотелиальных клеток.

*Работа выполнена при поддержке РФФ № 20-15-00100.*

## **ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ МИГРЕНИ У КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ**

Яковлева О.В., Богатова К.С.

*Казанский федеральный университет, Казань*

Мигрень — распространенное хроническое невровазкулярное заболевание, сопровождающееся тошнотой, светобоязнью, аллодинией и другими неприятными ощущениями [2, 4]. Повышенный уровень гомоцистеина вызывает эндотелиальную дисфункцию и окислительный стресс, которые могут быть вовлечены в патогенез мигрени [3]. Кортикальная распространяющаяся депрессия (CSD) — это медленно распространяющаяся волна деполяризации нейронов и глиальных клеток, которая является потенциальным фактором головной боли [3]. Использование повторного CSD может помочь ответить на важные вопросы о сенсорных, фобических и когнитивных дисфункциях у крыс, которые могут сопровождать хроническую мигрень.

Исследование проводилось на самцах крыс Wistar (5–7 месяцев), рожденных от самок, получавших контрольную (n = 14) или метиониновую диету (hHCY, n = 10). Модель хронической мигрени была сформирована CSD, вызванной повторяющимся нанесением KCl (1 M) на твердую мозговую оболочку через день в течение 9 дней. Исследование тревожности и светобоязни проводили в тестах «темно-светлая камера», «открытое поле». Механическую чувствительность оценивали с помощью нитей фон Фрея до (базальный ответ) и через 2 часа после введения KCl/NaCl. Содержание малонового диальдегида и активность глутатионпероксидаз в тканях мозга крыс измеряли спектрофотометрическим методом.

Начальный порог механической чувствительности в контрольной группе составил  $23.2 \pm 1.6$  г/мм<sup>2</sup> (n = 14). В группе hHCY (n = 10) начальный порог механической чувствительности был значительно ниже –  $14.2 \pm 1.2$  г/мм<sup>2</sup> (p < 0,05). Использование аппликаций KCl для формирования CSD привело к снижению порогов механической чувствительности у животных обеих групп. В группе hHCY базальная чувствительность значительно увеличилась на 6-й день эксперимента, а в контрольной группе лишь на 9-й день. Применение NaCl в обеих группах не изменило механические пороги.

Начальные поведенческие реакции в тестах «темно-светлая камера», «открытое поле» в группах значительно различались. В группе hHCY груминговое поведение, количество пройденных квадратов были выше, тогда как время, проведенное в центре открытого поля, время в светлой камере, количество выглядываний было ниже по сравнению с контролем, что указывает на более высокую тревожность крыс. В контрольной группе усиление тревожности наблюдали лишь после третьей аппликации KCl, в то время как в группе hHCY уже первое введение KCl усиливало тревожность и светобоязнь животных.

Окислительный стресс считается одним из основных повреждающих факторов при гипергомоцистеинемии и мигрени [1, 3]. Содержание малонового диальдегида в тканях мозга крыс не изменялось после моделирования хронической мигрени, но активность глутатионпероксидаз в тканях мозга снижалась у крыс группы hHCY.

Таким образом, мы показали, что пренатальная гипергомоцистеинемия вызывает у крыс тревожность и повышенную механическую чувствительность, способствует быстрому

развитию светобоязни и аллодинии при моделировании хронической мигрени, а также усилению оксидативного стресса.

*Поддержано РФФ № 20-15-00100.*

1. Арутюнян А.В., Козина Л.С., Арутюнян В.А. // Ж. акуш. и жен. болезн. 2010. V 59 (4). P.16-20.
2. Dodick, D.W. Migraine. // Lancet. 2018. V.391(10127). P.1315–1330.
3. Gerasimova, E., et al. // Biomolecules. 2022. V.12(5). Article 735. 16 p.
4. Wenshuang, Ma, Zuowei, Li. // Guangming Journal of Chinese Medicine. 2024. V.39(2). P.272-275.

## СПИСОК АВТОРОВ

- Аббасова К.Р. (с. 96, 206)  
Абдыева А.А. (с. 5)  
Абзалетдинова Г.Ф. (с. 135)  
Абрамичева П. А. (с. 6)  
Абрамочкин Д.В. (с. 213)  
Абрамов А.А. (с. 7)  
Абрамова О.В. (с. 9, 202)  
Абрарова Г.Ф. (с. 10, 51, 192)  
Абрашитов Г. Н. (с. 11)  
Авдонин П.В. (с. 12)  
Авдонин П.П. (с. 12)  
Аверина О.А. (с. 13)  
Агладзе К.И. (с. 204)  
Азаров Я.Э. (с. 15, 121, 205)  
Айрапетов М.И. (с. 76, 140, 150, 190)  
Алешин В.А. (с. 16, 41)  
Алиева Я.А. (с. 115, 191)  
Алипер А.Т. (с. 17)  
Амахин Д.В. (с. 69, 175)  
Ананьев А.С. (с. 170)  
Андреев А.И. (с. 18)  
Андреева И.Г. (с. 19)  
Аникина Т.А. (с. 79)  
Анисенко А.Н. (с. 160)  
Антонец Ю.Я. (с. 20, 90)  
Антонова О.А. (с. 117)  
Артемьева М.М. (с. 116)  
Артюхов А.В. (с. 16)  
Архипова Е.В. (с. 219)  
Астахова Л.А. (с. 136)  
Бабкова А.Р. (с. 122)  
Бажанова О.А. (с. 13)  
Байдакова Г.В. (с. 13)  
Багриновцева Т.М. (с. 111)  
Балботкина Е.В. (с. 21, 28)  
Балезина О.П. (с. 22, 192)  
Бардина М.В. (с. 109)  
Барыкин Е.П. (с. 202)  
Безбрязов А.В. (с. 135)  
Белашевская А.О. (с. 24)  
Белогорцева В.Д. (с. 25)  
Белопольская М.В. (с. 102)  
Белых Е.С. (с. 48)  
Бельдия Е.А. (с. 20, 27, 90, 94)  
Бельчиков В. (с. 50, 89)  
Беляков Г.В. (с. 28)  
Беркмуш-Антипова А.М. (с. 29, 123)  
Берникова О.Г. (с. 121, 205)  
Бершицкий С.Ю. (с. 20, 27, 30, 90, 94, 95, 129)  
Бибииков Н.Г. (с. 31)  
Бикмурзина А.Е. (с. 32)  
Биличенко А.С. (с. 33)  
Богатова К.С. (с. 223)  
Богачева П.О. (с. 35, 155, 192)  
Богданов Р.Р. (с. 163)  
Богоцкой К.А. (с. 66)  
Боков Р.О. (с. 36)  
Бонарцев А.П. (с. 37)  
Бондаренко Н.А. (с. 39)  
Борзых А.А. (с. 40, 52, 215)  
Борисова Н.Р. (с. 16, 41)  
Бородачева Ю.В. (с. 194)  
Бородинова А.А. (с. 111)  
Брындина И.Г. (с. 159)  
Булгакова Л.Р. (с. 182)  
Буркова Н.В. (с. 87)  
Бурцев А.Р. (с. 109)  
Бурых Э.А. (с. 42)  
Бурячковская Л.И. (с. 117)  
Бутова К.А. (с. 44, 128, 174, 221)  
Вавилов Н.Е. (с. 40)  
Валихов М.П. (с. 202)  
Ванеев А.Н. (с. 202)  
Васильев А.Н. (с. 45, 55, 104, 123, 152, 218)  
Вахрушев Н.С. (с. 46)  
Введенский В.Л. (с. 47)  
Велегжанинов И.О. (с. 48)  
Вепхвадзе Т.Ф. (с. 40, 153)  
Верхлютов В.М. (с. 47)  
Вильчинская Н.А. (с. 36, 122)  
Воинова В.В. (с. 37)  
Войтенко Д.А. (с. 50)  
Волков А.В. (с. 37)  
Волкова А.А. (с. 56)  
Воскресенская О.Г. (с. 188)  
Вотинова В.О. (с. 156)  
Гайдуков А.Е. (с. 51)  
Гайнуллина Д.К. (с. 52, 215)  
Галдобина Д.А. (с. 53)  
Галкин И.И. (с. 109)  
Галкина С.В. (с. 54)  
Ганин И.П. (с. 55)  
Гафурова Ч.Р. (с. 144)  
Герасимов А.А. (с. 126)  
Герцен О.П. (с. 156, 208)  
Гиниатуллин А.Р. (с. 144)  
Глазова Н.Ю. (с. 126)  
Глазова Т.Д. (с. 55)  
Горбачева Л.Р. (с. 5, 56)  
Голованов Ф.Ю. (с. 29)  
Голованова Л.Е. (с. 19)  
Гонотков М.А. (с. 121)  
Гончаренко Д. И. (с. 70)  
Горбунов А.С. (с. 101)  
Граф А.В. (с. 16, 41)  
Гривенников И.А. (с. 65)  
Григорьева О.О. (с. 13)  
Груббэ М.Е. (с. 205)  
Груздев Г.А. (с. 11, 58)  
Грязнова М.О. (с. 175)  
Гумерова А.И. (с. 59)  
Гуриелидзе Л.М. (с. 60)  
Гурина О.И. (с. 202)  
Гуртовой К.Г. (с. 47)  
Гусакова В.С. (с. 161, 168)  
Гусакова С.В. (с. 161, 168)  
Гусев О.А. (с. 36)  
Гущин Е. (с. 161)  
Давыдова М.П. (с. 61)  
Дамянович И. (с. 17)  
Дегтярева А.С. (с. 62, 212)  
Дегтярь А.С. (с. 64)  
Дейкин А.В. (с. 109)  
Джаватханова М.Р. (с. 117)  
Джандарова Т.И. (с. 120)  
Джем А. (с. 180)  
Джем А.П. (с. 167)  
Джуманиязова И.Х. (с. 213)  
Дмитриева С.А. (с. 59)  
Добрякова Ю.В. (с. 111)  
Долотов О.В. (с. 65)  
Дружинина А.А. (с. 66)  
Дубынин В.А. (с. 64)  
Егоров Ю.В. (с. 67)  
Егорова Т.В. (с. 109)  
Емельянова Е.А. (с. 5)  
Ергина Ю.Л. (с. 69)  
Ереско С.О. (с. 76, 140, 150, 190)  
Ермишкин В.В. (с. 117)

- Жедяев Р.Ю. (с. 40)  
 Жиганов Л.С. (с. 194)  
 Жигулина М.А. (с. 208)  
 Журавский С.Г. (с. 25)  
 Зайцев А.В. (с. 69, 175)  
 Зайцев Д.В. (с. 152)  
 Зайцева Н.В. (с. 152)  
 Закирьянова Г.Ф. (с. 144)  
 Заклязьминская Е.В. (с. 185)  
 Зарипова К.А. (с. 69)  
 Захарова А.Н. (с. 80)  
 Зверев А.А. (с. 70, 211)  
 Згода В.Г. (с. 40)  
 Зефиоров Т.Л. (с. 71, 72, 79)  
 Зиятдинова Н.И. (с. 71, 72)  
 Зозюля С.А. (с. 188)  
 Золотарев В.И. (с. 73)  
 Золотарева А.Д. (с. 73)  
 Зорина З.А. (с. 149)  
 Зоркина Я.А. (с. 9, 202)  
 Зоров Д.Б. (с. 6)  
 Зорова Л.Д. (с. 6)  
 Зотова П.А. (с. 13)  
 Зубков Е.А. (с. 9, 202)  
 Зыбин М.А. (с. 75)  
 Иванов С.А. (с. 25)  
 Иванова Г.Е. (с. 115)  
 Иванова Т.С. (с. 71)  
 Ивановская Е.В. (с. 50)  
 Игнатова П.Д. (с. 76, 190)  
 Иконникова Е.С. (с. 77)  
 Илиева Т.М. (с. 176)  
 Иноземцев А. Н. (с. 58, 91)  
 Инюшкин А.Н. (с. 78)  
 Инюшкина Е.М. (с. 78)  
 Искаков Н.Г. (с. 79)  
 Кабиольский И.А. (с. 64)  
 Калинина Н.И. (с. 201)  
 Калинина О.В. (с. 46)  
 Калмыкова П.А. (с. 158)  
 Камкина О.В. (с. 33, 73)  
 Капилевич Л.В. (с. 80)  
 Капирулин И.А. (с. 87)  
 Каплан А.Я. (с. 29, 55, 82, 104, 115, 123, 152, 191)  
 Карагяур М.Н. (с. 13)  
 Каретникова Е.С. (с. 83)  
 Карпов А.А. (с. 46)  
 Карпов А.В. (с. 85)  
 Карпухина О.В. (с. 58, 91)  
 Карпушев А.В. (с. 124)  
 Кархов А.М. (с. 86, 109, 160)  
 Карчков Д.А. (с. 92)  
 Кирюхина О.О. (с. 146)  
 Киселева А.Д. (с. 87)  
 Киселёва М.Д. (с. 87)  
 Климанова Е.А. (с. 138)  
 Клименко Е.С. (с. 124)  
 Клинова С.В. (с. 156, 208)  
 Клишова Е.А. (с. 19)  
 Ковалева Л.О. (с. 166)  
 Коваленко С.Г. (с. 88, 204)  
 Кожемякина Р. В. (с. 157)  
 Козаева Л.П. (с. 116)  
 Кокаева З.Г. (с. 167)  
 Колесникова И.С. (с. 89)  
 Копылова Г.В. (с. 20, 27, 30, 90, 94, 128, 221)  
 Корнеева З.Ю. (с. 55)  
 Коробкина Ю. Д. (с. 125)  
 Королев А.Г. (с. 91)  
 Кост Н.В. (с. 188)  
 Костарева А.А. (с. 46)  
 Кострюков П.А. (с. 139)  
 Котельникова А.В. (с. 198)  
 Котенев А.В. (с. 141)  
 Котихина Е.Е. (с. 92)  
 Кочурова А.М. (с. 20, 27, 90, 94, 128, 221)  
 Кошелев В.Б. (с. 203)  
 Кручинина Д.К. (с. 87)  
 Куанаева Р.М. (с. 202)  
 Кубасова Н.А. (с. 95)  
 Кужугет С.М. (с. 96)  
 Кузьмин В.С. (с. 7, 86, 160)  
 Кузьмина Д.М. (с. 219)  
 Кузьмина Е.А. (с. 191)  
 Кулебякин К.Ю. (с. 201)  
 Купцова А.М. (с. 71)  
 Куропаткина Т.А. (с. 116)  
 Курочкина Н.С. (с. 153)  
 Куртова Е.Е. (с. 5)  
 Курьянова Е.В. (с. 98)  
 Кутина А.В. (с. 28, 100)  
 Кушнир Е.А. (с. 102)  
 Лакомкин В.Л. (с. 7)  
 Лапшин Р.Д. (с. 219)  
 Ласукова Т.В. (с. 101)  
 Латанов А.В. (с. 75, 138, 194, 195, 196)  
 Лебедев М.А. (с. 115)  
 Лебедева Е.А. (с. 121)  
 Лебедева Е.А. (с. 161, 168)  
 Лебедева И.С. (с. 141, 180)  
 Левицкая Н.Г. (с. 126, 173)  
 Леднев Е.М. (с. 40, 153)  
 Ленина О.А. (с. 145)  
 Леонова Е.И. (с. 28)  
 Лехницкая П.А. (с. 178)  
 Ли В. (с. 118)  
 Лимонов Е.В. (с. 103)  
 Литвинова А.С. (с. 163)  
 Ловать М.Л. (с. 102)  
 Лопатина Е.В. (с. 151)  
 Лопина О.Д. (с. 138)  
 Любашина О.А. (с. 151)  
 Люкманов Р.Х. (с. 77)  
 Макаров А.Д. (с. 103)  
 Маковская А.Е. (с. 45, 104)  
 Максимов Г.В. (с. 106)  
 Максимов П.В. (с. 17)  
 Максимова Е.М. (с. 17, 106)  
 Макуха Ю.А. (с. 215)  
 Маломуж А.И. (с. 108, 131, 144, 145)  
 Малородова Т.Н. (с. 109)  
 Мальшев А.Ю. (с. 111)  
 Мальцев В.П. (с. 111)  
 Мамедова Д.И. (с. 139)  
 Мансур Н. (с. 72)  
 Манченко Д. М. (с. 11, 126)  
 Марков А.Г. (с. 32, 83, 113, 162)  
 Марков Д.Д. (с. 65)  
 Мартьянов А.А. (с. 169)  
 Марыльцева Ю.Н. (с. 158)  
 Маслова М.В. (с. 16, 41)  
 Маслюков П.М. (с. 114)  
 Матюшенко А.М. (с. 20, 27, 30, 90, 94, 129)  
 Махновский П.А. (с. 40, 153)  
 Медведев О.С. (с. 116)  
 Медведева А.С. (с. 115, 191)  
 Медведева Н.А. (с. 116)  
 Мелькумянц А.М. (с. 117)  
 Мельников А.А. (с. 77, 118)  
 Мидзяновская И.С. (с. 165)  
 Милашечкина Е.А. (с. 120)  
 Милованова К.Г. (с. 80)  
 Минигалиева И.А. (с. 156, 208)  
 Миннебаева Е.В. (с. 121)  
 Мирзоев Т.М. (с. 122)  
 Мирошников А.А. (с. 29, 123, 191)  
 Митькевич В.А. (с. 202)

- Михайлова В.Б. (с. 124)  
 Мишуков А.А. (с. 54, 125)  
 Мищенко Д.В. (с. 204)  
 Молчанова А.И. (с. 51)  
 Моничева А.А. (с. 126)  
 Морозова А.Ю. (с. 9, 202)  
 Москаленко В.А. (с. 92)  
 Мухутдинова К.А. (с. 144)  
 Мячина Т.А. (с. 44, 128, 174, 221)  
 Набиев С.Р. (с. 30, 129, 156, 208)  
 Напалков Д.А. (с. 143, 163)  
 Науменко В.С. (с. 157)  
 Наумова С.М. (с. 130)  
 Невский Е.С. (с. 131)  
 Невский Е.С. (с. 170)  
 Недогреева О.А. (с. 139)  
 Недорезова Р.С. (с. 135)  
 Немировская Т.Л. (с. 69, 132)  
 Ненашева А.В. (с. 85, 148)  
 Непряхина Н.П. (с. 133)  
 Неретина Т.В. (с. 142)  
 Нечаева М.В. (с. 12)  
 Нигматуллина Р.Р. (с. 135)  
 Никитина Л.В. (с. 129, 156, 208)  
 Николаев Г.М. (с. 138)  
 Николаев Т.И. (с. 79)  
 Николаева Д.А. (с. 136)  
 Никонова М.И. (с. 137)  
 Новикова Е.А. (с. 152)  
 Новикова М.А. (с. 138)  
 Нуруллин Л.Ф. (с. 145)  
 Обухова Т.С. (с. 130)  
 Овечкин А.О. (с. 15, 205)  
 Овчинникова В.О. (с. 139)  
 Одношивкина Ю.Г. (с. 144)  
 Омельченко М.А. (с. 141, 180)  
 Омелюхина Д.В. (с. 159)  
 Орехова Е.В. (с. 130)  
 Орлов Л.И. (с. 140)  
 Орлов О.И. (с. 36, 40)  
 Орлова М.А. (с. 40)  
 Орловская А.А. (с. 150)  
 Осипов Г.В. (с. 92)  
 Осипова А.А. (с. 111)  
 Очнева А.Г. (с. 9, 202)  
 Павленко Е.В. (с. 109)  
 Павлов А.В. (с. 141, 180)  
 Павлова Н.С. (с. 142)  
 Павловский Ф.Н. (с. 143, 163)  
 Пантелеев М.А. (с. 54, 169)  
 Парщикова Ю.В. (с. 10)  
 Патраханов Е.А. (с. 109)  
 Пятявина О.И. (с. 173)  
 Певзнер И. Б. (с. 6)  
 Перепелкина О.В. (с. 149)  
 Пермьяков О.А. (с. 13)  
 Петров А.М. (с. 108, 144)  
 Петров К.А. (с. 145)  
 Петрова Д.А. (с. 115)  
 Печкова М.Г. (с. 146)  
 Пигарев И.Н. (с. 31)  
 Пискаев А.А. (с. 148)  
 Плотников Е.Ю. (с. 6)  
 Поварнина П. Ю. (с. 58)  
 Подъячева Е.Ю. (с. 25)  
 Позднякова Н.В. (с. 101)  
 Позняк Л.А. (с. 210)  
 Покидько А.Б. (с. 152)  
 Покровский М.В. (с. 109)  
 Полетаева И.И. (с. 149, 189)  
 Полоусов В.Д. (с. 150)  
 Поляков Ю.И. (с. 151)  
 Пономарев И.И. (с. 40)  
 Пономарев Т.Д. (с. 152)  
 Пономарева А.А. (с. 59)  
 Попов В.С. (с. 201)  
 Попов Д.В. (с. 40, 153)  
 Поселянинов А.С. (с. 205)  
 Постникова Т.Ю. (с. 69)  
 Потапова Д.А. (с. 35, 155)  
 Поташникова Д.М. (с. 160)  
 Потоскуева Ю.К. (с. 156)  
 Правикова П.Д. (с. 157)  
 Приймак А.В. (с. 13)  
 Проничев И.В. (с. 158)  
 Просвирнин А.В. (с. 7)  
 Проскурина Е.Ю. (с. 69)  
 Протопопов В.А. (с. 159)  
 Пульцина К.И. (с. 210)  
 Пустовит О.Б. (с. 160)  
 Пшемьский М.А. (с. 161, 168)  
 Разговорова И.А. (с. 162)  
 Ратманова П.О. (с. 163)  
 Ребик А.А. (с. 165)  
 Ревенко С.В. (с. 103)  
 Решетникова А.А. (с. 189)  
 Роаа Дийб (с. 204)  
 Родина А.С. (с. 33)  
 Романова И.Д. (с. 24)  
 Россомахин Р.А. (с. 166)  
 Рубина К.А. (с. 60)  
 Руденко А.Ю. (с. 13)  
 Рудько О.И. (с. 167)  
 Рукавишников И.В. (с. 40)  
 Рыбак А.В. (с. 48)  
 Рыбакова Е.Ю. (с. 12)  
 Рыбкин А.В. (с. 92)  
 Рысова Е.Е. (с. 48)  
 Рязанцева Е.Ю. (с. 78)  
 Сабиров Т. В. (с. 70)  
 Савицкий В.С. (с. 102)  
 Самигуллин Д.В. (с. 145)  
 Сарычева Н.Ю. (с. 64)  
 Сафарова А.Ш. (с. 168)  
 Свешникова А.Н. (с. 50, 54, 89, 125, 169)  
 Свиринов Е.П. (с. 45)  
 Свитко С.О. (с. 170)  
 Себенцова Е.А. (с. 173)  
 Седов А.С. (с. 143)  
 Седякина Е.Н. (с. 15)  
 Секунов А.В. (с. 159)  
 Семенович Д. С. (с. 6)  
 Сергеева К.В. (с. 122)  
 Сергиев П.В. (с. 13)  
 Серков А.Н. (с. 53, 172)  
 Сибгатуллина Г.В. (с. 145)  
 Сидоренко Д.А. (с. 69)  
 Симакина Д.К. (с. 89)  
 Симоненко С.Д. (с. 52, 173)  
 Симонова Р.А. (с. 44, 128, 174, 221)  
 Синельников М.М. (с. 168)  
 Синяк Д.С. (с. 175)  
 Сиротина Н.С. (с. 176)  
 Ситдикова Г.Ф. (с. 170, 177, 187, 222)  
 Скуратова К.А. (с. 178)  
 Славина М.Ю. (с. 89)  
 Славущкая М.В. (с. 141, 180)  
 Сломинский П.А. (с. 143)  
 Смирнов И.В. (с. 111)  
 Смирнов И.П. (с. 153)  
 Смирнов Л.А. (с. 92)  
 Смирнов Р.О. (с. 92)  
 Смирнова А.А. (с. 62, 182, 209, 212)  
 Смирнова М.П. (с. 111)

- Смирнова О.В. (с. 142, 176, 181, 184)  
Снежкова Ю.В. (с. 25)  
Снигирева Е.Д. (с. 181, 184)  
Соболев В.И. (с. 199)  
Соболева Е.Б. (с. 175)  
Соколов И.А. (с. 6)  
Соколова М.Г. (с. 186)  
Соколова О.С. (с. 185)  
Соловьева О.Н. (с. 41)  
Сорокин Д.В. (с. 87)  
Сорокина Д.М. (с. 187)  
Спиридонова Н.А. (с. 156)  
Стаханова А.А. (с. 188)  
Степаничев М.Ю. (с. 139)  
Строганова Т.А. (с. 45)  
Ступин В.О. (с. 98)  
Супонева Н.А. (с. 77)  
Сурина Н.М. (с. 189)  
Сурменев Р.А. (с. 37)  
Сурменева М.А. (с. 37)  
Суханова Д.Д. (с. 76, 190)  
Сушкова Д.Н. (с. 109)  
Сыров Н.В. (с. 29, 115, 123, 191)  
Сысоева В.Ю. (с. 60)  
Тавлеева М.М. (с. 48)  
Тагиров К.М. (с. 16)  
Тарасова Е.О. (с. 10, 192)  
Тарасова О.С. (с. 66, 146, 215)  
Терешкина Е.Б. (с. 173)  
Терещенко Л.В. (с. 194, 195)  
Тимошенко Р.В. (с. 202)  
Тимошина Ю.А. (с. 196)  
Тихонов Д.Б. (с. 197)  
Ткачук В.А. (с. 201)  
Толмачева Е.А. (с. 198)  
Томилова А.О. (с. 153)  
Томиловская Е.С. (с. 36, 40)  
Томский А.А. (с. 143)  
Торопова Я.Г. (с. 25)  
Трахтман П.Е. (с. 89)  
Третьякова В.Д. (с. 210)  
Трофимова А.М. (с. 69)  
Труфанов С.К. (с. 12)  
Труш В.В. (с. 199)  
Трясучев А.В. (с. 98)  
Туртикова О.В. (с. 36)  
Тыганов С.А. (с. 36, 69)  
Тюрин-Кузьмин П.А. (с. 201)  
Ушаков В.Л. (с. 210)  
Ушакова В.М. (с. 9, 202)  
Фадюкова О.Е. (с. 203)  
Федоров Д.А. (с. 138)  
Федоров Н.С. (с. 108, 144, 145)  
Федорова А.А. (с. 162)  
Федорова Е.С. (с. 12)  
Федорова Т.Н. (с. 196)  
Федотова И.Б. (с. 189)  
Филатова Т.С. (с. 213)  
Фролова Ш.Р. (с. 88, 204)  
Хазиев А.Н. (с. 144)  
Хейло Т.С. (с. 117)  
Хлыстова М.А. (с. 52, 215)  
Хоменко П.В. (с. 205)  
Хохлова А.Д. (с. 44, 128, 174, 221)  
Худякова Н.А. (с. 133)  
Хухарева Д.Д. (с. 52)  
Цатурян А.К. (с. 95)  
Цветкова А.С. (с. 205)  
Ценцевицкий А.Н. (с. 144)  
Цыба Е.Т. (с. 206)  
Цыбина А.Е. (с. 156, 208)  
Чеплакова М.А. (с. 209)  
Черных А.А. (с. 48)  
Чернышев Б.В. (с. 210)  
Чершинцева Н.Н. (с. 211)  
Чехонин В.П. (с. 202)  
Чечехин В.И. (с. 201)  
Чибисова Е.В. (с. 212)  
Шавуров В.А. (с. 186)  
Шайдуллов И.Ф. (с. 187)  
Шайдуллова К.С. (с. 170)  
Шамсиев И.Д. (с. 194)  
Шамшура А.В. (с. 213)  
Шарло К.А. (с. 36, 69)  
Шатеева В.С. (с. 215)  
Швецова А.А. (с. 52, 215)  
Швыдченко И.Н. (с. 216)  
Шевцова Ю.Г. (с. 218)  
Шеин В.Е. (с. 181, 184)  
Шелепин Е.Ю. (с. 178)  
Шелепин К.Ю. (с. 178)  
Шенкман Б.С. (с. 36, 122, 217)  
Шепелёв Е.И. (с. 51)  
Шепталинка С.С. (с. 167)  
Шестакова М.В. (с. 153)  
Шиленко Л.А. (с. 46)  
Шишкин С.Л. (с. 45, 218)  
Шубина М.Ю. (с. 109)  
Шурупова М.А. (с. 75)  
Шушарина Н.Н. (с. 29)  
Щелчкова Н.А. (с. 219)  
Щепкин Д.В. (с. 20, 27, 30, 44, 90, 94, 128, 221)  
Яковлев А.В. (с. 166, 222)  
Яковлев Л.В. (с. 29, 115, 123, 191)  
Яковлева О.В. (с. 223)  
Якупова Э.И. (с. 153)  
Ямпольская Д.С. (с. 129)  
Яшин А.С. (с. 218)  
Craig R. (с. 95)  
Ferenczi M.A. (с. 95)  
Krejci E. (с. 145)  
Padrón R. (с. 95)