



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Институт биологии развития  
им. Н.К. Кольцова РАН

Конференция с международным участием

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

посвященная 100-летию со дня рождения  
академика Т.М. Турпаева

23-25 октября 2018 г.

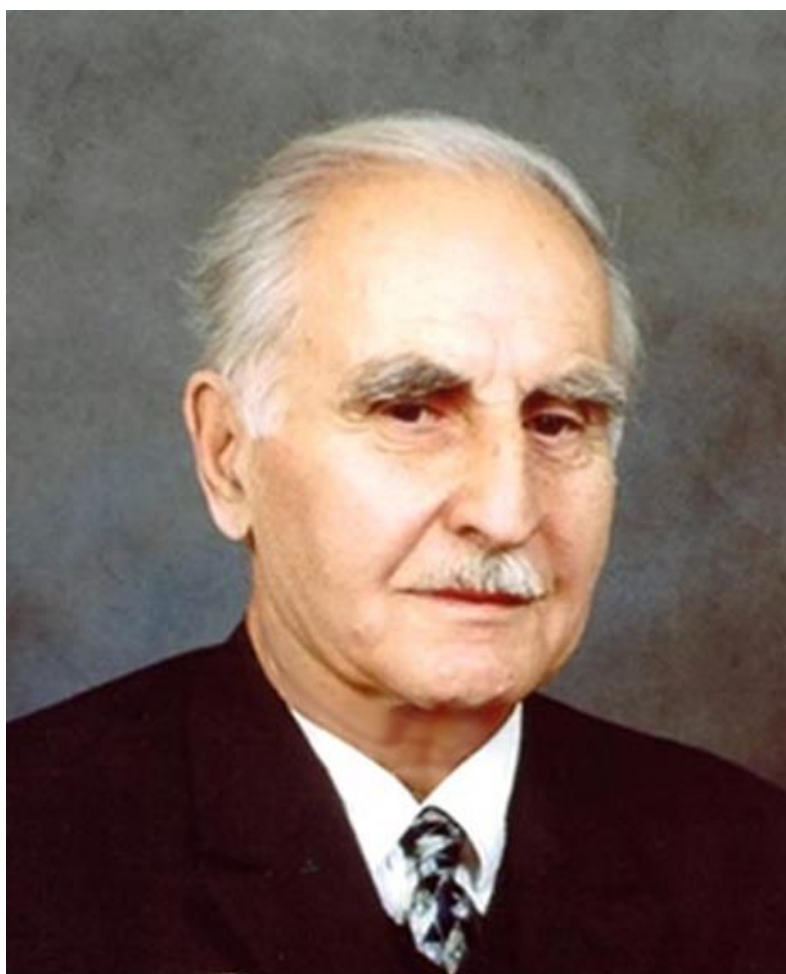
Москва 2018

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Российская академия наук  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН**

---

**Конференция с международным участием  
ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ  
СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ**

**посвященная 100-летию со дня рождения академика Т.М. Турпаева**



**Тигран Мелькумович Турпаев  
1918 – 2003**

**Москва 2018**

**УДК 579.22**

**ББК 28.6**

**М34**

**Материалы конференции с международным участием «Физиология и биохимия сигнальных систем», посвященной 100-летию со дня рождения академика Т.М. Турпаева, Москва, 23-25 октября 2018 г. – Москва: Издательство «Перо», 2018 – 96 с.**

**ISBN 978-5-00122-668-0**

В сборнике представлены материалы научной конференции с международным участием «Физиология и биохимия сигнальных систем», посвященной 100-летию со дня рождения академика Тиграна Мелькумовича Турпаева (1918-2003), которая состоялась 23-25 октября 2018 г. в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Конференция посвящена обсуждению современных представлений о механизмах сигнальных взаимодействий между клетками в норме и при патологии, роли эпигенетических факторов в функциональной пластичности нервных клеток, филогенезу медиаторных взаимодействий, участию медиаторных процессов в индивидуальном развитии животных. В программе конференции выступления ведущих учёных России, ближнего и дальнего зарубежья, а также молодых учёных. Конференция организована Институтом биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-015-20036). Материалы конференции можно найти на сайте ИБР РАН [www.idbras.ru](http://www.idbras.ru)



**ISBN 978-5-00122-668-0**

**(с) Коллектив авторов, 2018**

**(с) ИБР РАН, 2018**

## **ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ**

### **Ткачук В.А., председатель**

акад. РАН, декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, заведующий кафедрой биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова

### **Захаров И.С., зам. председателя**

д.б.н., заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Волина Е.В., отв. секретарь**

к.б.н., старший научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Балабан П.М.**

чл.-кор. РАН, научный руководитель Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

### **Брежестовский П.Д.**

д.б.н., проф., директор по науке Средиземноморского института нейробиологии (Марсель, Франция)

### **Васильев А.В.**

чл.-кор. РАН, директор Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, заведующий кафедрой эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

### **Зефиоров А.Л.**

чл.-кор. РАН, декан лечебного факультета Казанского государственного медицинского университета, заведующий кафедрой нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета

### **Островский М.А.**

акад. РАН, заведующий лабораторией Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, председатель Российского физиологического общества им. И.П. Павлова

### **Сахаров Д.А.**

д.б.н., главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Скребицкий В.Г.**

чл.-кор. РАН, заведующий лабораторией Научного центра неврологии

### **Угрюмов М.В.**

акад. РАН, заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

## **ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ**

### **Захаров И.С., председатель**

д.б.н., заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Авдонин П.В., зам. председателя**

д.б.н., проф., заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Волина Е.В., отв. секретарь**

к.б.н., старший научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Абрамова Е.Б.**

к.б.н., руководитель информационно-аналитического отдела Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Дьяконова В.Е.**

д.б.н., проф. РАН, ведущий научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Гонца В.В.**

заместитель директора Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Зубарев А.Д.**

системный администратор Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Никишин Д.А.**

к.б.н., научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Хабарова М.Ю.**

к.б.н., доц., ученый секретарь Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### **Шмуклер Ю.Б.**

д.б.н., ведущий научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

## ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ

**23 октября – УТРЕННЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатели: В.А. Ткачук, А.В. Васильев)

- 09.30–09.45 **Ткачук В.А.** (*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва*) Вступительное слово академика-секретаря Отделения физиологических наук РАН, председателя Программного комитета конференции
- 09.45–10.00 **Васильев А.В.** (*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*) Вступительное слово директора Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
- 10.00–10.30 **Островский М.А.** (*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва*) 100 лет со дня рождения академика Т.М. Турпаева: наука, война, семья
- 10.30–11.00 **Угрюмов М.В.** (*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*) Интеграционные механизмы в развитии
- 11.00–11.30 **Зефирова А.Л.** (*Казанский государственный медицинский университет, Казань*) Циклические нуклеотиды в процессах регуляции везикулярного цикла
- 11.30–12.00 **Кофе-брейк**
- 12.00–12.30 **Серов О.Л., Лебедев И.Н.** (*Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*) Новые технологии в исследованиях молекулярных механизмов нарушений нейрогенеза у человека, вызванных хромосомными перестройками
- 12.30–13.00 **Балабан П.М.** (*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*) Механизмы модификации памяти
- 13.00–13.30 **Авдонин П.В.** (*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*) Участие двупоровых каналов эндолизосомальных везикул в нейроэндокринной регуляции сердечно-сосудистой системы
- 13.30–14.00 **Минлебаев М.Г.** (*Средиземноморский институт нейробиологии, Марсель, Франция*) Сетевая кортикальная активность в развивающейся соматосенсорной коре

**23 октября – ВЕЧЕРНЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатель: М.В. Угрюмов)

- 15.00–15.30 **Дьяконова В.Е.** (*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*) Как прошлое и настоящее соревнуются за будущее на уровне отдельного нейрона (стр. 33)
- 15.30–16.00 **Алания М.** (*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Тбилиси, Грузия*) Серотонин в нейронных ансамблях, управляющих пищевым поведением у представителей разных групп беспозвоночных
- 16.00–16.30 **Сахаров Д.А.** (*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*) Т.М. Турпаев и зарубежные коллеги, ставшие друзьями
- 16.30–18.30 **Коллеги, ученики.** Выступления, воспоминания

**24 октября – УТРЕННЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатель: П.М. Балабан)

- 10.00–10.30 **Воронежская Е.Е.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Нерцепторные эффекты действия серотонина: роль в физиологических процессах и раннем развитии
- 10.30–11.00 **Гуляева Н.В.** (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва) Зависимая от стресса глюкокортикоидная трансдукция сигнала в мозге: трансляционные аспекты
- 11.00–11.30 **Балезина О.П.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Изменчивость кванта медиатора под действием регуляторных факторов (стр. 20)
- 11.30–12.00 **Раевский В.В.** (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва) Изменение чувствительности нейронов соматосенсорной коры к ацетилхолину и норадреналину у старых крыс (стр. 71)
- 12.00–12.20 **Кофе-брейк**
- 12.20–12.50 **Александрова М.А., Сухинич К.К.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Механизмы клеточных взаимодействий при реконструкции ткани мозга млекопитающих (стр. 15)
- 12.50–13.20 **Скребицкий В.Г.** (Научный центр неврологии, Москва) Пептидергическая модуляция синаптической передачи в гиппокампе
- 13.20–13.50 **Малышев А.Ю.** (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва) Роль гетеросинаптической пластичности в формировании зрительных рецептивных полей корковых нейронов
- 13.50–14.05 **Хузахметова В.Ф., Маломуж А.И.** (Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр РАН", Казань) Участие ГАМК-рецепторов в регуляции секреции нейромедиатора в периферическом синапсе теплокровных, находящихся на разных стадиях постнатального онтогенеза (стр. 86)
- 14.05–14.20 Доклад представителя **ООО «ОПТЭК»**. Микроскопия плоскостного освещения – прогрессивный подход для изучения крупных био-объектов

**24 октября – ВЕЧЕРНЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатель: П.В. Авдонин)

- 15.00–15.30 **Шмуклер Ю.Б., Никишин Д.А.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Трансммиттеры в эмбриогенезе: многообразие функций и сигнальных систем (стр. 91)
- 15.30–16.00 **Акимов М.Г., Ашба А.М., Фомина-Агеева Е.В., Грецкая Н.М., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Безуглов В.В.** (Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; Институт молекулярной генетики РАН, Москва) Эндогенные пептиды и биоэффекторные липиды как нейрозащитные агенты (стр. 14)
- 16.00–16.30 **Лупина Ю.В.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Протеасомные механизмы взаимодействия клеток у животных
- 16.30–16.45 **Муртазина А.Р., Никишина Ю.О., Дильмухаметова Л.К., Сапронова А.Я., Угрюмов М.В.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Взаимная регуляция эндокринных норадреналин-продуцирующих органов в онтогенезе у крыс (стр. 64)

16.45–17.00 **Гайдуков А.Е., Митева А.С., Балезина О.П.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Активация постсинаптических тромбиновых рецепторов PAR1 устойчиво потенцирует размер кванта ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах мышцы за счет ретроградного действия BDNF (стр. 28)

17.00–18.30 **Стендовая сессия**

**25 октября – УТРЕННЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатель: М.А. Александрова)

10.00–10.30 **Дашинимаев Э. Б., Артюхов А.С., Мещерякова Н.В., Василенко Ю.С., Любинец А.А., Воротеляк Е.А.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва; Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва; Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; Российский университет дружбы народов, Москва; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Дисбаланс экспрессии генов в нейронах человека, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток доноров с синдромом Дауна (стр. 31)

10.30–11.00 **Островский М.А.** (Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва) Сравнительная физиология зрения: механизмы адаптации морской и озёрной популяций креветок *Mysis relicta* к различным условиям световой среды

11.00–11.30 **Захаров И.С.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Нейрохимические механизмы переключения поведения

11.30–12.00 **Колесников С.С.** (Пушинский научный центр РАН, Пушкино) Неканонический афферентный синапс вкусовых клеток

12.00–12.30 **Кофе-брейк**

12.30–13.00 **Тарасова О.С., Кирюхина О.О., Гайнуллина Д.К., Панчин Ю.В., Шестопалов В.И.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва; Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва; Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва; Университет Майами, Коралл-Гейблз, Флорида, США) Паннексин 1 в сосудистом русле: взаимодействие с пуринергической сигнальной системой (стр. 81)

13.00–13.15 **Рыжов Ю.Р., Зорина И.И., Баюнова Л.В., Захарова И.О.** (Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург) Влияние инсулина на уровень экспрессии генов про- и антиапоптотических белков Вах и Bcl2 при ишемии и реперфузии мозга крыс (стр. 74)

13.15–13.30 **Лазуткин А.А., Кирьянов Р.А., Минеева О.А., Шуваев С.А., Анохин К.В., Ениколопов Г.Н.** (Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва; Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва; Университет штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, Стоуни Брук, Нью-Йорк, США; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Краткосрочные и долгосрочные эффекты мемантина на пролиферацию клеток в мозге взрослых мышей (стр. 53)

- 13.30–13.45 **Ким А.Р., Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Угрюмов М.В.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва; Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца, Москва) Биохимические и функциональные изменения в глазу как проявление системной деградации нервной системы при паркинсонизме (стр. 43)
- 13.45–14.00 **Тетерина Ю.Д., Бойко А.А., Троянова Н.И., Гречихина М.В., Ажикина Т.Л., Коваленко Е.И., Сапожников А.М.** (Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва) Анализ взаимосвязи экспрессии БТШ70 в популяциях лейкоцитов периферической крови с развитием болезни Паркинсона (стр. 83)
- 14.00–14.15 **Евтеев А.**, компания «**БИОЛАЙН**». Спектральная микроскопия в нейробиологии: многопараметровый анализ фенотипа и функции клеток

**25 октября – ВЕЧЕРНЕЕ ЗАСЕДАНИЕ** (Председатель: Н.В. Гуляева)

- 15.00–15.30 **Подгорный О.В., Итаман Ш., Минеева О.А., Лазуткин А.А., Ениколопов Г.Н.** (Университет штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, Стоуни Брук, Нью-Йорк, США; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва; Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва) Действие мемантина на нейрогенез: на пути к пониманию механизмов, контролирующих «расход» взрослых стволовых клеток в гиппокампе (стр. 70)
- 15.30–16.00 **Кузьмин В.С.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Онтогенез ритмоводителя сердца млекопитающих: общие черты для позвоночных животных и механизмы некоторых предсердных аритмий
- 16.30–17.00 **Алёшина Н.М., Никишин Д.А., Шмуклер Ю. Б.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) Роль серотонина в регуляции женской репродуктивной функции (стр. 17)
- 17.00–17.15 **Чехлов В.В., Абрамова А.Ю., Перцов С.С.** (Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва; Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва) Взаимосвязь изменений цитокинового профиля крови и ноцицептивной чувствительности при хроническом стрессе у крыс с разной поведенческой активностью (стр. 90)
- 17.15–17.30 **Баль Н. В.** (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва) Роль оксида азота в синаптической пластичности
- 17.30–17.45 **Миронова Г.Ю., Авдонин П.П., Цитрина А.А., Авдонин П.В.** (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) Особенности регуляции сокращения сосудов при активации 5-НТ2В рецепторов (стр. 60)
- 17.45–18.30 **Закрытие конференции. Подведение итогов.**



## СТЕНДОВЫЕ СООБЩЕНИЯ

- А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов.** Взаимосвязь между ноцицептивной чувствительностью и цитокиновым статусом крови у крыс после антигенного воздействия (стр. 12)
- П.В. Авдонин, И.Л. Жарких, А.Д. Надеев, П.П. Авдонин, Г.Ю. Миронова, Н.В. Гончаров.** Синергизм в действии лигандов 5-HT<sub>1B</sub>- и 5-HT<sub>2B</sub>-рецепторов на обмен ионов кальция в эндотелиальных клетках пупочной вены человека (стр. 13)
- А.А. Акишина, Р.О. Черезов, М.С. Слезингер, О.Б. Симонова, Б.А. Кузин, Ю.Е. Воронцова.** Модуляция транскрипции генов-мишеней арил-гидрокарбонового рецептора человека (стр. 15)
- В.С. Алексеева, А.А. Бородинова.** Роль метилирования и ацетилирования гистонов в регуляции транскрипции генов атипичных протеинкиназ и фосфатаз (стр. 16)
- В.В. Андрианов, Т.Х. Богодвид, Х.Л. Гайнутдинов.** Эффекты серотонина и его нейротоксического аналога на формирование условных оборонительных рефлексов у улитки (стр. 18)
- А.С. Базян.** Медиаторные и модуляторные системы мозга, эмоционально насыщенная когнитивная карта (стр. 19)
- А.В. Байрамов, Г.В. Ермакова, А.Г. Зарайский.** Секретируемые белки семейства podgip в раннем развитии переднеголовных структур бесчелюстных позвоночных (стр. 20)
- А.А. Бахмет, Е.В. Коплик, С.В. Ключкова.** Лимфоидные образования селезенки и паховых лимфатических узлов у крыс с различной прогностической устойчивостью в условиях эмоционального стресса с предварительным введением олигопептидов (стр. 21)
- В.Г. Башкатова.** Нейромедиаторные системы мозга и оксид азота в генезе амфетаминовой нейротоксичности (стр. 22)
- П.О. Богачева, О.П. Балезина.** Эндогенный кальцитонин ген-родственный пептид как регулятор размера кванта медиатора в зрелых и новообразованных моторных синапсах мыши (стр. 23)
- Т.Х. Богодвид, А.Н. Головченко, В.В. Андрианов, Х.Л. Гайнутдинов.** Оксид азота и возбудимость командных нейронов виноградной улитки (стр. 23)
- Д.В. Богуславский, И.С. Захаров.** Особенности протеасомальной активности в нервной системе виноградной улитки (стр. 24)
- О.В. Бойко.** Нейрональная холинергическая система и внутриклеточная передача сигнала в амнионе куриного эмбриона (стр. 25)
- С.И. Бойков, Ю.Д. Степаненко, Д.А. Сибаров, Н.Н. Шестакова, С.М. Антонов.** Роль натрий-кальциевого обменника в действии амитриптилина на NMDA-рецепторы (стр. 26)
- Б.А. Болдышев, М.И. Межеричкий, Д.Д. Воронцов, В.Е. Дьяконова.** Серотонин и принятие решения в условиях неопределенности у моллюска (стр. 26)
- А.А. Бородинова, М.А. Кузнецова.** Консервативность механизмов эпигенетического контроля генов атипичных протеинкиназ в нейронах разных популяций (стр. 27)
- Х.Л. Гайнутдинов, В.В. Андрианов, Т.Х. Богодвид, А.Х. Винарская, И.Б. Дерябина, Л.Н. Муранова, Д.И. Силантьева.** Отличие ответов командных нейронов виноградной улитки у обученных и интактных животных на аппликацию серотонина и антагониста серотониновых рецепторов метиотепина (стр. 29)
- М.А. Грудень, В.С. Кудрин.** Особенности нейрохимического континуума мозга при действии амилоидогенных структур белка  $\alpha$ -синуклеина у стареющих мышей (стр. 30)
- Е.К. Гуревич.** Механизмы регуляции синаптической пластичности (стр. 30)
- К.В. Деркач, В.М. Бондарева, И.Б. Сухов, А.О. Шпаков.** Совместное интраназальное введение С-пептида и инсулина восстанавливает гипоталамический сигналинг и метаболические показатели у диабетических крыс (стр. 32)

- И.Б. Дерябина, Л.Н. Муранова, Х.Л. Гайнутдинов.** Реконсолидация контекстуальной памяти после напоминания у виноградной улитки зависит от серотонина (стр. 33)
- О.И. Ерлыченкова, Н.В. Баль, А.Х. Винарская, Е.А. Чеснокова, Л.А. Урошлев, П.М. Балабан, П.М. Колосов.** Регуляция экспрессии генов в культуре нейронов с помощью оксида азота (стр. 34)
- С.А. Ерохина, М.А. Стрельцова, П.А. Кобызева, Е.И. Коваленко.** Контактные взаимодействия с клетками-мишенями, опосредованные мембраносвязанным IL-21, важны для активации IFN $\gamma$ -продуцирующих NK-клеток (стр. 35)
- Б.В. Журавлев, Е.В. Борисова, А.П. Безуглый, Е.П. Муртазина.** Взаимодействие пентагастрина и моноаминов в контроле пищевого поведения (стр. 36)
- Т.С. Замолодчикова, Е.В. Свирщевская.** Белки клеточной адгезии и катепсин G в регуляции гомеостаза и защитных реакций в кишечном эпителии (стр. 36)
- И.С. Захаров, Д.В. Богуславский.** Особенности дифференциальной экспрессии белка предшественника в нейронах виноградной улитки *Helix lucorum* L. (стр. 37)
- Е.И. Захарова, З.И. Сторожева, М.Ю. Монаков, А.М. Дудченко.** Функции обучения и памяти утрачивают дофаминергические механизмы на отдаленном критическом сроке хронической гипоперфузии мозга (стр. 38)
- А.Б. Зюзина, А.Х. Винарская, П.М. Балабан.** Эпигенетическая регуляция консолидации памяти у виноградной улитки (стр. 39)
- В.О. Иванова, Н.В. Баль, П.М. Балабан.** Влияние оксида азота на вклад ампа рецепторов в проводимость синапсов на апикальных и базальных дендритах нейронов гиппокампа (стр. 40)
- В.П. Иванова.** Сравнительный анализ биологической активности коротких пептидов с общим структурным ядром (стр. 40)
- Д.А. Ивлиев, Н.Ю. Ивлиева.** Участие модуляторных систем базальных ганглиев в инструментальной условно-рефлекторной деятельности (стр. 41)
- Т.С. Калинина, Н.В. Кудряшов, В.И. Мельникова, А.А. Куршин, О.А. Харченко, К.К. Сухинич, Е.Г. Ивашкин, Е.Е. Воронежская.** Уровень материнского серотонина на предимплантационных стадиях развития имеет решающее значение для формирования тревожного и депрессивного поведения у потомства (стр. 42)
- А.А. Квичанский, М.В. Волобуева, Ю.С. Спивак, А.П. Большаков.** Оценка вклада мРНК из нерезидентных клеток в общий пул мРНК цитокинов гиппокампа и оболочек головного мозга крысы (стр. 43)
- И.В. Ковязина, А.Н. Ценцевицкий.** Влияние норадреналина на параметры синаптической передачи в нервно-мышечном синапсе мышцы при разных режимах стимуляции двигательного нерва (стр. 44)
- Л.М. Кожевникова, И.Ф. Суханова.** Влияние возраста на рецепторопосредованные механизмы регуляции сократимости кровеносных сосудов и миокарда (стр. 45)
- С.А. Козырев, С.В. Солнцева, В.П. Никитин.** Ингибиторы синтеза белка индуцируют как нарушение памяти, так и ее восстановление (стр. 46)
- А.А. Колачева, М.В. Угрюмов.** Синтез дофамина в период гибели дофаминергических нейронов nigростриатной системе, индуцированной МФТП (стр. 46)
- М.В. Коновалова, Б.Ц. Шагдарова, Е.В. Свирщевская.** Противоспаечное действие разнозаряженных полисахаридов (стр. 47)
- Е.В. Коплик, Л.А. Ключева, К.А. Васянина.** Сосудисто-нейрональные изменения сенсомоторной коры головного мозга крыс с различной поведенческой активностью в условиях моделирования внутримозгового кровоизлияния (стр. 48)
- Е.В. Корнеева, А.А. Тиунова, Л.И. Александров, Т.Б. Голубева.** Влияние изменения пренатальной зрительной афферентации на активацию нейронов, вызванную оборонительным поведением у птенцов мухоловки-пеструшки (стр. 49)
- Т.А. Коршунова, И.С. Захаров.** Нейрохимическая среда определяет локомоторную программу моллюска *Clione limacina* (стр. 49)

- С.А. Кривопапов, Б.Г. Юшков.** Амплитудный анализ аудиогенного эпилептиформного припадка крыс линии Крушинского-Молодкиной (стр. 50)
- И.В. Кубасов, П.Ф. Вдовкин, М.Г. Добрецов.** Трансформация внеклеточно регистрируемых потенциалов действия интактных кардиомиоцитов периинфарктной зоны сердца крысы (стр. 51)
- А.Ю. Куртова, Т.С. Пронина, Л.К. Дильмухаметова, М.В. Угрюмов.** Фенотипические особенности дофамин-продуцирующих нейронов у крыс в онтогенезе (стр. 52)
- Е.В. Лукьянов, А.А. Бородинова, М.А. Кузнецова, А.П. Большаков.** Linc RNA AABR07050652.1-201 регулирует экспрессию протеинкиназ PKCz/PKMz (стр. 54)
- Н.В. Лифанцева, С.Н. Воронова, В.И. Мельникова.** Моноаминергическая система в развивающемся тимусе (стр. 54)
- А.В. Мальцев, Н.В. Баль, П.М. Балабан.** Участие NO в ингибировании долговременной потенциации в гиппокампе, вызванном блокадой синтеза белка (стр. 55)
- Ю.С. Медникова, А.В. Рогаль, Н.В. Пасикова.** Эффективность регуляторов спонтанной активности при увеличении температуры мозга (стр. 56)
- Л.В. Мезенцева, С.С. Перцов.** Особенности проявления хиральности показателей микроциркуляции в постнатальном онтогенезе крыс (стр. 57)
- А.Ф. Мещеряков, Е.В. Коплик, Е.В. Борисова.** ACTH<sub>4-10</sub> и CRH в нейронных механизмах устойчивости к стрессорным воздействиям (стр. 58)
- Э.Р. Мингазов, С.А. Сурков, А.И. Стурова, В.Е. Блохин, Н.М. Грецкая, В.В. Безуглов, М.В. Угрюмов.** Оценка нейропротекторных свойств N-докозагексаеноилдофамина на модели *in vitro* болезни Паркинсона (стр. 59)
- О.А. Минеева, А.А. Лазуткин, Г.Н. Ениколопов.** Отростчатые nestin- и GFAP-позитивные клетки в нейрогенной зоне гиппокампа (стр. 60)
- А.С. Митева, И.А. Акутин, О.П. Балезина, А.Е. Гайдуков.** Кальций-кальмодулин-зависимый механизм потенцирования синаптической передачи при активации P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-рецепторов у мышей, нокаутных по гену паннексина-1 (стр. 61)
- Е.В. Михайлова, К.В. Деркач, А.О. Шпаков, И.В. Романова.** Взаимодействие серотониновой и лептиновой систем в мозге крыс при диетиндуцированном ожирении (стр. 62)
- И.Ю. Морина, И.В. Романова.** Морфофункциональное состояние орексинергической системы мозга крыс с эпилепсией различного генезиса (стр. 63)
- Л.Н. Муранова, Х.Л. Гайнутдинов.** Влияние доноров NO и блокатора NO-синтазы на выработку условного оборонительного рефлекса у улитки (стр. 64)
- М.В. Нечаева, Т.А. Алексеева, П.В. Авдонин.** Влияние Trans-NED19 на сердечный ритм куриного зародыша на ранних стадиях развития (стр. 65)
- Е.Р. Никитина, И.В. Миндукшев, К.А. Васильева, С.Г. Петунов, А.И. Кривченко.** Применение противоопухолевых препаратов изменяет статус тромбоцитов (стр. 66)
- Е.Р. Никитина, И.В. Миндукшев, С.П. Гамбарян, А.И. Кривченко.** Степень дезагрегации тромбоцитов зависит от времени добавки илопроста (стр. 67)
- Д.А. Никишин, Ю.Б. Шмуклер.** Специфические эффекты серотонергических и дофаминергических лигандов на деления дробления у морского ежа *Paracentrotus lividus* (стр. 68)
- М.В. Николаев, М.С. Комарова.** Влияние антагонистов глутаматных ионотропных рецепторов на функциональные свойства нейронов коры (стр. 69)
- И.Г. Панова, Р.А. Полтавцева, Ю.В. Сухова, Т.Ю. Иванец, А.С. Татиколов, Г.Т. Сухих.** Мочевая кислота – антиоксидант в стекловидном теле глаза в пренатальном развитии человека (стр. 69)
- А.Л. Риппа, Э.С. Чермных, Е.А. Воротеляк.** Роль транскляминазы 3 в морфогенезе эпидермиса и волосяного фолликула (стр. 72)
- И.В. Романова, А.Л. Михрина, Л.О. Савельева.** Влияние AGRP 25-51 на дофамин- и норадренергические нейроны мозга (стр. 73)

- Е.Ю. Рыбакова, И.Л. Жарких, П.В. Авдонин.** Избирательное подавление антагонистом NAADP действия норадреналина на тонус аорты крысы (стр. 73)
- В.В. Сафандеев, М.В. Угрюмов.** Оценка функциональной недостаточности nigростриатной дофаминергической системы на досимптомной стадии болезни Паркинсона (стр. 75)
- Е.В. Свирщевская, Е.В. Матушевская, О.Д. Коцарева.** Экспрессия аутоантигенов пузырьчатки в поджелудочной железе (стр. 76)
- Д.А. Сибаров, Е.Э. Погужельская, С.М. Антонов.** Значение липидных плотиков для кальций-зависимой десенситизации NMDA рецепторов (стр. 77)
- Н.А. Симонова, А.Ю. Малышев.** Гетеросинаптическая пластичность, вызванная внутриклеточной тетанизацией пирамидных нейронов неокортекса, зависит от расположения синапсов на дендритном древе (стр. 77)
- И.В. Смирнов, М.А. Волгушев, А.Ю. Малышев.** Роль гетеросинаптической пластичности в формировании зрительных рецептивных полей корковых нейронов (стр. 78)
- В.Е. Соболев, В.И. Шмурак, Н.В. Гончаров.** Динамика экспрессии M1-холинорецепторов в головном мозге крысы в двух моделях острого отравления параоксоном (стр. 79)
- С.В. Солнцева, С.А. Козырев, В.П. Никитин.** Особенности участия ДНК-метилтрансфераз в механизмах сохранения, нарушения и восстановления памяти условной пищевой аверсии (стр. 80)
- Е.О. Тарасова, А.Е. Гайдуков, О.П. Балезина.** Кальпаин в кальций-зависимой регуляции выброса ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах мыши (стр. 80)
- М.А. Терпиловский, А.Д. Надеев, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, Н.В. Гончаров.** Концепция цитотоксической мощности веществ (стр. 82)
- С.М. Толпыго, Л.В. Лагутина.** Белково-пептидные комплексы ангиотензинов: дифференцированное участие в сигнальных процессах (стр. 84)
- С.К. Труфанов, П.В. Авдонин.** Роль двупоровых каналов в рецепторозависимой регуляции кальциевого обмена в гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов (стр. 84)
- Е.С. Фёдорова, П.П. Авдонин, Е.Ю. Рыбакова, А.А. Цитрина, П.В. Авдонин.** Участие NAADP и кальциевых каналов эндолизосом в регуляции ритма сокращений изолированного сердца моллюска *Helix pomatia* (стр. 85)
- А.Н. Ценцевичский, И.В. Ковязина.** Активация K-АТФ каналов модулирует действие АТФ на нейросекрецию в нервно-мышечном синапсе лягушки (стр. 87)
- А.А. Цитрина, Е.Б. Цитрин, И.Л. Жарких, Г.Ю. Миронова, Е.Ю. Рыбакова, П.П. Авдонин, Н.В. Гончаров, П.В. Авдонин.** Влияние лигандов 5-HT<sub>1B</sub>- и 5-HT<sub>2B</sub>-рецепторов на экзоцитоз фактора Виллебранда эндотелиальными клетками (стр. 88)
- Т.А. Чернов, Е.К. Секретова, М.Ю. Хабарова, Е.Е. Воронежская.** Фармакологическое переключение нейрональной специфичности: последствия для реализации локомоторной программы у личинок пресноводных гастропод (стр. 89)
- Д.Б. Чудаков, Г.В. Фаттахова, Е.И. Каширина, А.М. Сапожников, Е.В. Свирщевская.** Предрасположенность к аллергии I типа ассоциирована с особенностями барьерных тканей (стр. 91)
- А.О. Шпаков, К.В. Деркач, В.Н. Сорокоумов, И.О. Захарова, И.В. Романова.** Разработка ингибиторов протеинфосфотириозин-фосфатазы 1, производных 4-оксо-дигидроциннолина, и их влияние на метаболические и гормональные показатели у крыс с ожирением (стр. 92)

## ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ\*\*

### ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НОЦИЦЕПТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ И ЦИТОКИНОВЫМ СТАТУСОМ КРОВИ У КРЫС ПОСЛЕ АНТИГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

А.Ю. Абрамова<sup>1,2</sup> \*, С.С. Перцов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им.

А.И. Евдокимова, Москва

\*e-mail: nansy71@mail.ru

В настоящее время имеются доказательства, свидетельствующие о роли цитокинов в патогенезе болевых синдромов. Продукция этих сигнальных молекул является неотъемлемой составляющей иммунного ответа, связанного с распознаванием иммунокомпетентными клетками сходных структурных компонентов различных патогенов – патоген-ассоциированных молекулярных паттернов. Такими структурами являются, в частности, липополисахариды (ЛПС) грамотрицательных бактерий, применяемые в экспериментах на животных для изучения механизмов ноцицепции.

Целью исследования явилось выявление корреляционных зависимостей между показателями ноцицепции и уровнем цитокинов в крови крыс при антигенном воздействии посредством внутрибрюшинного введения ЛПС.

Для построения корреляционных матриц у особей разных групп были использованы следующие числовые данные: пороги вокализации крыс в ответ на электрокожное раздражение хвоста (показатель эмоционального компонента ноцицепции) и латентные периоды реакции отведения хвоста при светотермальной стимуляции (показатель перцептуального компонента ноцицепции) в исходном состоянии и в разные временные периоды после введения ЛПС; концентрация цитокинов в сыворотке крови. Корреляционный анализ внутригрупповых связей между исследуемыми показателями проводили с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена.

Статистически значимые внутригрупповые взаимосвязи между ноцицептивными порогами и концентрацией цитокинов в крови крыс выявлены лишь на 7-е сутки после внутрибрюшинного введения ЛПС (в отличие от 1-суток после инъекции). В указанный период после антигенной стимуляции обнаружены обратные корреляционные связи латентного периода реакции отведения хвоста животных с содержанием противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  в периферической крови. У этих крыс наблюдались отрицательные корреляции между концентрацией противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и фоновыми показателями ноцицепции: ИЛ-4 и латентным периодом реакции отведения хвоста, ИЛ-10 и порогом вокализации.

По-видимому, формирование на поздней стадии после введения ЛПС тесных взаимосвязей между эмоциональным и перцептуальными компонентами ноцицептивной чувствительности и иммунными процессами вносит вклад в реализацию системной реакции организма на антигенное воздействие. Полученные результаты дополняют данные о взаимосвязи индивидуальной иммунной реактивности и характера болевых реакций у млекопитающих.

---

\*\* Английская версия тезисов опубликована в журнале *Neurochemical Journal*, 2018, Vol. 12, No. 4, DOI: 10.1134/S1819712418040050.

## **СИНЕРГИЗМ В ДЕЙСТВИИ ЛИГАНДОВ 5-HT1В- И 5-HT2В-РЕЦЕПТОРОВ НА ОБМЕН ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПУПОЧНОЙ ВЕНЫ ЧЕЛОВЕКА**

П.В. Авдонин<sup>1</sup>\*, И.Л. Жарких<sup>2</sup>, А.Д. Надеев<sup>3</sup>, П.П. Авдонин<sup>1</sup>, Г.Ю. Миронова<sup>1</sup>,  
Н.В. Гончаров<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва

<sup>3</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург

\*e-mail: pvavdonin@yandex.ru

В эндотелиальных клетках кровеносных сосудов экспрессируются серотониновые рецепторы 5-HT1В- и 5-HT2В-типов. Для отдельных видов кровеносных сосудов показано, что их активация приводит к расслаблению. Сигнальные механизмы, лежащие в основе физиологических эффектов данных рецепторов, не ясны. Целью работы было изучение характера действия агонистов 5HT1В- и 5HT2В рецепторов на обмен ионов кальция в эндотелиальных клетках.

Объектом исследования были эндотелиальные клетки, выделенные из пупочной вены человека (HUVES). Установлено, что агонисты 5HT1В-рецепторов CGS12066В и 5HT2В-рецепторов BW723С86 вызывают увеличение  $[Ca^{2+}]_i$  в HUVES, действуя по разным механизмам. Подъём  $[Ca^{2+}]_i$  в HUVES в ответ на CGS12066В не зависит от внешнего кальция, снимается при загрузке клеток хелатором ВАРТА и не подавляется ингибитором фосфолипазы С U73122, тогда как ответ на BW723С86 почти полностью устраняется ингибитором фосфолипазы С и его вторая фаза снижается при удалении ионов кальция из внеклеточной среды. Ингибитор депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$  ВТР2 резко замедляет кинетику вызываемого BW723С86 увеличения  $[Ca^{2+}]_i$ , но не изменяет реакцию эндотелиальных клеток на CGS12066В. Мы обнаружили, что при одновременном действии CGS12066В и BW723С86 кальциевый сигнал существенно выше суммы приростов  $[Ca^{2+}]_i$ , наблюдаемых при действии каждого из агонистов по отдельности. Синергизм имеет место даже в условиях, когда CGS12066В сам не поднимал уровень  $[Ca^{2+}]_i$  в HUVES. Из других лигандов 5-HT1В рецепторов способность вызывать подъём  $[Ca^{2+}]_i$  и усиливать кальциевый сигнал BW723С86 проявляли антагонисты метиотепин и SB224289, обладающий свойствами инвертированного агониста. Эффект SB224289 сам вызывал сильный рост  $[Ca^{2+}]_i$  и на его фоне сигнал от BW723С86 также резко усиливался. Прямые агонисты 5-HT1В рецепторов суматриптан, золмитриптан и CP 94253 сами не вызывают подъём  $[Ca^{2+}]_i$  и не усиливают эффект BW723С86. Инкубация HUVES с коклюшным токсином не устраняет подъём  $[Ca^{2+}]_i$  в ответ на CGS12066В и не снимает эффект синергизма. Это свидетельствует против участия в данных реакциях сопряженных с 5-HT1В рецепторами  $G_i$ -белков. Основываясь на полученных данных мы предполагаем, что в эндотелиальных клетках происходит функциональное взаимодействие 5-HT1В- и 5-HT2В-рецепторов, которое инициируют лиганды рецепторов 5-HT1В, запускающие альтернативный независимый от  $G_i$ -белка сигнальный путь.

*Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00417.*

## **ЭНДОГЕННЫЕ ПЕПТИДЫ И БИОЭФФЕКТОРНЫЕ ЛИПИДЫ КАК НЕЙРОЗАЩИТНЫЕ АГЕНТЫ**

М.Г. Акимов<sup>1\*</sup>, А.М. Ашба<sup>1</sup>, Е.В. Фомина-Агеева<sup>1</sup>, Н.М. Грецкая<sup>1</sup>, Л.А. Андреева<sup>2</sup>, Н.Ф. Мясоедов<sup>2</sup>, В.В. Безуглов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

<sup>2</sup> *Институт молекулярной генетики РАН, Москва*

\*e-mail: akimovmike@gmail.com

Различные патологии центральной нервной системы, как хронические (нейродегенерация), так и острые (инсульты и травматические повреждения), являются одной из важных проблем современной биомедицины. Возникающие в этих условиях повреждения головного мозга, с одной стороны, существенно снижают качество жизни пациента, а с другой – осложняют его жизнедеятельность как полноценного мыслящего существа. В этом контексте поиск новых способов терапии патологий ЦНС, как за счет внешних воздействий, так и за счет активизации систем самого организма, является высоко актуальным. При этом о роли эндогенных низкомолекулярных биорегуляторов – пептидов и биоактивных липидов – в патологических условиях известно крайне мало, хотя при повреждении тканей генерация этих веществ должна быть существенной.

Цель настоящей работы – установить возможное нейрозащитное действие эндогенных регуляторных пептидов семейства глипролинов, эндогенных регуляторных липидов семейства эндоканнабиноидов и их взаимодействие друг с другом в процессах нейропротекции.

В качестве модели нами выбрана распространенная человеческая линия нейронального происхождения SH-SY5Y. В качестве вариантов защитного действия проверяли стимуляцию роста (МТТ-тест при инкубации 5 дней), защиту от химической гипоксии (CoCl<sub>2</sub>), окислительного стресса (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и паркинсонического токсина MPP<sup>+</sup>, также с помощью МТТ-теста. Кроме того, было проверено действие веществ на дифференцировку клеток, индуцированную 20 мкМ полностью-транс-ретиноевой кислотой (морфологический анализ через 1 и 2 дня инкубации).

Установлено, что из набора пептидов KKRRPGP, HFEWPGP и 5-оксо-Arg-Pro только последний стимулировал пролиферацию клеток на 100% с пиком активности при 1 мкМ. Пептид KKRRPGP стимулировал рост клеток только на 10% с пиком активности при 0,1 мкМ, HFEWPGP был практически неактивен. Из набора липидов DHA-DA, AA-EA, AA-CPA, AA-SER (амиды жирных кислот с дофамином, этаноламином, циклопропиламином и серином, соответственно) первый оказался токсичен для клеток или не стимулировал пролиферацию, остальные стимулировали рост на 10 (AA-CPA), 20% (AA-EA) и 30% (AA-SER) с пиком активности при 0,1 мкМ. В работе также была обнаружена активность упомянутых липидов и пептидов в моделях защиты от гипоксии и окислительного стресса.

Полученные данные позволяют предположить, что данные эндогенные вещества, образуясь, как известно из данных литературы, в том числе и в стрессовых условиях, могут быть компонентами природной системы защиты нейронов в стрессовых условиях.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 17-00-00109-КОМФИ, 17-00-00105-КОМФИ, 17-00-00104-КОМФИ).*

## **МОДУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ АРИЛ-ГИДРОКАРБОНОВОГО РЕЦЕПТОРА ЧЕЛОВЕКА**

А.А. Акишина, Р.О. Черезов, М.С. Слезингер, О.Б. Симонова, Б.А. Кузин,  
Ю.Е. Воронцова\*

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

\*e-mail vjul83@mail.ru

Арил-гидрокарбонный рецептор (Aryl hydrocarbon receptor, AHR), является лиганд-зависимым транскрипционным фактором, сохранившим в ходе эволюции свои структурные и функциональные особенности. Гены-мишени AHR играют ключевую роль в детоксикации, в регуляции процессов развития и поддержания гомеостаза эукариот. Среди целевых генов AHR много онкогенов, поэтому актуально исследовать возможность модулирования их транскрипцией на фоне повышенной экспрессии AHR.

Высокий консерватизм AHR человека позволил нам исследовать его функции *in vivo*, используя дрозофил, трансформированных человеческим геном *AHR*, и на клеточных культурах (HEK293, клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека, и Sus\fp2, культура опухолевых клеток глиобластомы человека). В качестве экзогенных лигандов-агонистов AHR человека мы использовали индирубин и индол-3-карбозол, способных повышать активность AHR человека.

Результаты наших экспериментов неожиданно показали способность экзогенных лигандов-агонистов не только повышать, но и понижать уровень транскрипции целевых генов AHR. Мы предположили, что отсутствие ожидаемого увеличения транскрипции некоторых генов-мишеней AHR вызвано эпигенетическим сайленсингом. Данная гипотеза была подтверждена в экспериментах с использованием ингибиторов гистоновой деацетилазы HDAC и на дрозофилах с нулевой мутацией гена метил-трансферазы *Pc*.

В результате был открыт новый механизм эпигенетического контроля экспрессии генов-мишеней AHR. Это открытие служит основанием для коррекции существующих концепций о механизме активации целевых генов AHR, большинство из которых является онкогенами. Поскольку экзогенные лиганды AHR и ингибиторы эпигенетических модификаторов часто используются в качестве фармацевтических противоопухолевых препаратов, результаты нашей работы необходимо учитывать при разработке новых комбинаций терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

*Данное исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 18-34-00162 мол-а, № 16-04-00829-а и раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2018-0001.*

## **МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ РЕКОНСТРУКЦИИ ТКАНИ МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

М.А. Александрова\*, К.К. Сухинич

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

\*e-mail: mariaaleks@inbox.ru

Ткани мозга млекопитающих практически не восстанавливаются вследствие отсутствия механизмов, поддерживающих регенерацию. Однако у многих видов животных в ЦНС обнаружены нейральные стволовые клетки (НСК) и покоящиеся клетки предшественники. Используя разные механизмы, оба типа клеток продуцируют новые нервные и глиальные клетки способные интегрироваться в дефинитивные нейронные сети, однако, их репаративный потенциал недостаточен для восстановления мозга при травме или нейродегенерации. Большие интегративные возможности проявляют малодифференцированные



нейральные клетки (из эмбрионального мозга, из ЭСК или ИПСК), трансплантированные в область повреждения. За последние годы разработан ряд подходов с использованием регенеративного потенциала нейральных клеток предшественников с целью сохранения ткани мозга после травмы и при нейродегенеративных процессах. В настоящее время можно выделить несколько стратегий: активация эндогенных НСК; создание новых нейрогенных ниш путем трансплантации клеток предшественников из НСК, ЭСК, ИПСК; поддержка выживания и миграции трансплантированных клеток трофическими факторами, сигнальными регуляторами; разработка методов прямого репрограммирования глиальных клеток ЦНС. Особое место занимает трансплантация малодифференцированных нейральных предшественников, исследование интеграции которых выявило огромный пластический потенциал дефинитивного мозга. Наши работы показали взаимодействия дифференцированных клеток мозга мышей с трансплантированными клетками неокортикальных прогениторов, несущими GFP, их миграцию, дифференцировку и рост волокон. Возможность эпигенетической регуляции дифференцировки неокортикальных клеток обнаружена в трансплантатах от эмбрионов 14.5 сут, где выявлены катехоламинергические нейроны, не характерные для зрелого неокортекса. Известно, что клетки трансплантатов переживают благодаря выделяемым факторам, которые снижают локальное воспаление, подавляют активность макрофагов и модулируют астроглиальную реакцию. Нейрональные предшественники в травмированном мозге дифференцируются в зрелые нейроны и функционально интегрируются в нервные сети хозяина. В ряде исследований на морфологическом и функциональном уровне показано прецизионное воссоздание зрительных нейронных связей между трансплантированными клетками и мозгом реципиента. Эти данные имеют важное теоретическое значение, поскольку расширяют наши представления о границах пластичности дефинитивного мозга млекопитающих.

*Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН по теме № 0108-2018-0004.*

## **РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ И АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ГИСТОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ И ФОСФАТАЗ**

В.С. Алексеева, А.А. Бородинова

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

e-mail: veromax3@gmail.com

Транскрипция генов *de-novo* лежит в основе механизмов формирования и хранения памяти. Эпигенетические модификации, в частности, ацетилирование и метилирование гистонов, могут регулировать транскрипцию генов, однако конкретные молекулярные мишени данных эпигенетических модификаций недостаточно охарактеризованы.

В данной работе мы исследовали возможность эпигенетической регуляции экспрессии генов атипичных протеинкиназ (*Prkci*, *Prkcz*) и фосфатаз (*Ppp1ca*, *Ppp3ca*), продукты которых являются одними из ключевых регуляторов пластичности и памяти. Эксперименты проводили на первичных культурах кортикальных нейронов, которые инкубировали с неселективным ингибитором гистондеацетилаз, трихостатином А (TSA, 100 нМ), или блокатором гистонметилтрансферазы G9a, BIX 01294 (BIX, 4 мМ). Используя ChIP-PCR метод, мы обнаружили рост ацетилирования гистонов H3K9 в промоторных областях всех исследуемых генов после инкубации с TSA (19 ч). Ацетилирование гистонов в промоторной области гена *Prkci* коррелировало с увеличением количества соответствующих транскриптов (PKCi). Мы показали, что обработка нейронов TSA

сопровождалась изменением транскрипции мультипромоторного гена *Prkcz*: снижением активности 3'-промотора и уменьшением количества соответствующего нейрон-специфичного продукта РКМζ, а также увеличением активности 5'-промотора и наработкой РКСζ, в норме продуцируемой в мозге в следовых количествах. Экспрессия генов фосфатаз *Prp1ca* и *Prp3ca* не изменялась в наших условиях. Таким образом, ремоделирование хроматина, вызванное ацетилированием гистонов, может облегчать транскрипцию генов, но не является достаточным фактором для запуска экспрессии генов.

Далее мы определили, что активность гистонметилтрансферазы G9a, стимулирующей образование репрессорной метки H3K9me<sub>2</sub>, не является критичной для регуляции транскрипции исследуемых атипичных протеинкиназ и фосфатаз, поскольку инкубация культур нейронов с VIX (1, 4, 16 ч) не выявила ожидаемых изменений уровня мРНК всех исследуемых генов. Таким образом, экспрессия атипичных протеинкиназ, но не фосфатаз, может зависеть от уровня ацетилирования гистонов. С другой стороны, метилирование гистонов, опосредованное G9a, не является ключевым регулятором транскрипции для всех исследуемых генов.

Работа поддержана Программой Российской Академии Наук и грантом Российского научного фонда (№14-25-00072).

### **ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТЕРА СЕРТОНИНА SERT (SLC6A4) В ЯИЧНИКЕ МЫШИ**

Н.М. Алёшина<sup>1,2</sup>\*, Д.А. Никишин<sup>1,2</sup>, Ю.Б. Шмуклер<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

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

\*e-mail: ninalyoshina@gmail.com

Серотонин (5-НТ) – классический нейротрансмиттер, обладающий широким спектром функций вне нервной системы, в частности, в контроле процессов развития. В женской репродуктивной системе серотонин обнаружен в матке и яйцеклетках, а также в яичнике, где он осуществляет регуляцию стероидогенеза и созревания ооцитов. Однако вопрос об источнике серотонина в яичнике остается мало изученным. Особый интерес в рамках данного исследования представляет экспрессия и функциональная активность транспортера серотонина Sert (Slc6a4), осуществляющего захват серотонина из внеклеточной среды.

Методом ОТ-ПЦР установлено, что мРНК гена *Sert* экспрессируется в яичнике, в том числе в фолликулярных клетках и ооцитах на разных стадиях фолликулогенеза. Иммуноокрашивание срезов яичника антителами против Sert выявило, что транспортер локализуется в овариальных фолликулах, причем в гораздо большей степени иммунореактивность представлена в ооцитах. Таким образом, в яичнике экспрессируется мембранный транспортер серотонина.

Для того чтобы выявить активность захвата экзогенного серотонина в яичнике, опытной группе мышей производили подкожные инъекции 5-НТ (25 мг/кг) в течение пяти дней. Увеличение интенсивности уровня иммуноокрашивания произошло во всех компартментах яичника, в том числе фолликулах и яйцеклетках, что подтверждается методом ВЭЖХ. Это говорит о том, что в яичниках происходит активный захват экзогенного 5-НТ из русла кровотока, по всей вероятности, с участием мембранного транспортера Sert. При культивировании изолированных преантральных фолликулов *in vitro* в присутствии серотонина в физиологической концентрации (1 мМ) было показано накопление серотонина в ооцитах, но не в фолликулярных клетках. При добавлении селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина

(10 мМ) накопления не произошло, что подтверждает специфичность мембранного транспорта.

Таким образом, выявлена экспрессия специфического мембранного транспортера серотонина Sert в яичнике, и его функциональная активность в ооцитах преантральных фолликулов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-34-60250 мол\_а\_дк и гранта Президента Российской Федерации МК-1304.2017.4. в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2018-0003.*

### **ЭФФЕКТЫ СЕРТОНИНА И ЕГО НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО АНАЛОГА НА ФОРМИРОВАНИЕ УСЛОВНЫХ ОБОРОНИТЕЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОВ У УЛИТКИ**

В.В. Андрианов<sup>1</sup> \*, Т.Х. Богодвид<sup>1,2</sup>, Х.Л. Гайнутдинов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Поволжская государственная академия физической культуры, спорта и туризма, Казань

\*e-mail: slava\_snail@yahoo.com

Одна из наиболее интригующих комплексных функций мозга – это его способность хранить информацию, полученную в опыте, и вспоминать большую его часть. Именно память является таким механизмом сохранения и/или воспоминания этой информации. На процесс формирования долговременной памяти существенное влияние может оказывать нейромодуляция. Одним из таких нейромодуляторов в простой нервной системе моллюсков является серотонин (5-НТ). 5-НТ является одним из широко распространенных и хорошо изученных медиаторов нервной системы. Установлено, что у моллюсков 5-НТ является необходимым медиатором для выработки условных оборонительных рефлексов. Кроме хорошо известной роли 5-НТ как медиатора в синаптической передаче было показано, что он может выполнять интегративные функции при выделении его во внеклеточную среду. Большое количество экспериментов выполнены с использованием аппликации 5-НТ для получения клеточных аналогов обучения. С другой стороны для исследования роли серотонинергической системы в формировании поведения применяется нейротоксический аналог серотонина 5.7-дигидрокситриптамин (5.7-DHT), который ведет к истощению 5-НТ.

Поэтому было проведено исследование роли серотонина в механизмах обучения у виноградной улитки с применением нейротоксина 5.7-DHT и предшественника синтеза серотонина 5-гидрокситриптофана (5-НТР). Для экспериментов в качестве объекта была выбрана виноградная улитка. Выбатывали условные оборонительные рефлекс на постукивание по раковине и аверзии на пищу. Для создания дефицита 5-НТ применялся его нейротоксический аналог 5.7-DHT в дозе 20 мг/кг веса. Найдено, что инъекция 5.7-DHT за неделю до начала обучения нарушает выработку условного рефлекса. Способность к обучению восстанавливается через 2 недели после применения нейротоксина. Ежедневные инъекции серотонина или предшественника его синтеза 5-НТР перед сеансом обучения ускоряли выработку условного рефлекса. Инъекции физиологического раствора по той же схеме не приводили к изменению скорости обучения. В то же время инъекция 5-НТР на фоне дефицита 5-НТ, созданного 5.7-DHT, возвращала способность животных к обучению. Полученные результаты позволяют высказать предположение о необходимости 5-НТ для процесса формирования долговременной памяти у виноградной улитки.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).*

## **МЕДИАТОРНЫЕ И МОДУЛЯТОРНЫЕ СИСТЕМЫ МОЗГА, ЭМОЦИОНАЛЬНО НАСЫЩЕННАЯ КОГНИТИВНАЯ КАРТА**

А.С. Базян

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*  
e-mail: bazyan@mail.ru

Описываются иерархические сети мозга, которые формируются синаптическими – глутаматными и ГАМК системами и функционируют на основании алгебраической суммации. Поведение реализуется на основании соматотопии сенсомоторной коры и стриатума. Глутаматный сигнал из коры приходит на ГАМК нейроны стриатума. Из стриатума сигнал переходит на внутренние и внешние ядра бледного шара, и далее на черную субстанцию. Здесь сигнал делится на три части: первая часть, через таламокортикальные сети возвращается в кору и повторно активизирует стриатум; вторая часть сигнала, индуцирует поведение через ретикулярные ядра; третья часть, через несинаптические моноаминергические (МА) системы, запускает мезо-кортико-лимбические структуры. МА системы в среднем мозге интегрируются друг с другом и контролируют эмоционально мотивированное поведение. В основе такого поведения лежит возникновение потребности, мотивации и эмоций. Потребность формируется пищевыми, питьевыми и сексуальными центрами гипоталамуса. Лептин, грелин, гормоны сытости и голода, формируют потребность есть. Объем воды и осмолярность контролируется уретическим гормоном вазопресинном, формирует потребность пить. Вазопресин, окситоцин, тестостерон, эстроген, прогестерон формируют сексуальную потребность. Рецепторы перечисленных гормонов экспрессируются в дофаминергических (ДА) нейронах. Взаимодействие этих рецепторов с ДА системой формируют пищевую, питьевую и сексуальную мотивацию. Интегрирующей структурой является прилежащее ядро, ГАМК терминали которой формируют мотивационный сигнал в вентральных частях ядер бледного шара. Здесь сигналы из вентральных и дорзальных ядер бледного шара встречаются и индуцируют целенаправленное эмоционально мотивированное поведение, которое удовлетворяет или не удовлетворяет потребность и мотивацию. Удовлетворение потребности и мотивации индуцирует эмоционально положительные состояния. Неудовлетворенная потребность усиливает мотивацию и индуцирует эмоционально отрицательное состояние. Это оценочная функция эмоций, которая индуцирует целенаправленное поведение. Но целенаправленное поведение невозможно без когнитивной карты мозга. Нейроны места, времени, мониторинга и координатной сетки гиппокампа и энторинальной коры, интегрируются со зрительной, слуховой и обонятельной системами мозга и формируют когнитивную карту мозга. Интеграция гиппокампа с мезо-кортико-лимбическими структурами формирует эмоционально насыщенную когнитивную карту мозга, которая реализует целенаправленное эмоционально мотивированное поведение и формирует контекст окружающей среды.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программ РАН и РФФИ, проект № 17-29-01005-офи\_м.*

## **СЕКРЕТИРУЕМЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА NOGGIN В РАННЕМ РАЗВИТИИ ПЕРЕДНЕГОЛОВНЫХ СТРУКТУР БЕСЧЕЛЮСТНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ**

А.В. Байрамов\*, Г.В. Ермакова, А.Г. Зарайский

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва

\*e-mail: andrbayr@gmail.com

Бесчелюстные являются наиболее древней группой ныне живущих позвоночных, у которой впервые в эволюции появляется дифференцированный конечный мозг, впоследствии развившийся в структуры, обеспечивающие высшую нервную деятельность у животных и человека. Молекулярные механизмы формирования конечного мозга активно изучаются в современной биологии развития. Исследование начальных стадий эволюции этих процессов может быть очень информативно для понимания особенностей их реализации в более высокоорганизованных группах животных, включая человека.

Секретируемые белки семейства *Noggin* являются важнейшими регуляторами клеточной дифференцировки и раннего развития зародышей позвоночных, обладая способностью регулировать активность внутриклеточных TGF-beta и Wnt сигнальных каскадов, играющих ключевые роли в клеточной дифференцировке и развитии головных структур. Семейство генов *Noggin* позвоночных включает три гена, описанные у представителей многих классов животных: *Noggin1*, *Noggin2* и *Noggin4*, паттерны экспрессии и функциональные свойства которых различаются.

В контексте изучения механизмов появления в эволюции и развития структур переднего мозга, бесчелюстные и, в частности, миноги являются уникальным объектом в силу своей эволюционной древности и нами проводятся исследования у этих животных особенностей экспрессии и функциональных свойств сигнальных белков, описанных у высших позвоночных в качестве ключевых регуляторов раннего развития центральной нервной системы. Ранее нам удалось обнаружить и клонировать кДНК одного из ключевых регуляторов развития переднего мозга позвоночных – гена *Anf* у трех видов миног, что явилось важным подтверждением выдвинутой гипотезы о связи появления у позвоночных генов класса *Anf* с возникновением у них конечного мозга.

В ходе исследования генов *Noggin*, мы обнаружили у миног четыре гена этого семейства, которые по аминокислотным последовательностям, а также предварительным результатам анализа динамики и пространственных паттернов экспрессии, гомологичны трем генам *Noggin* других классов позвоночных. Полученные предварительные данные указывают на то, что секретируемые белки *Noggin* представляют собой консервативный сигнальный механизм, возникший на самых ранних этапах эволюции позвоночных и играющий важнейшую роль в развитии переднеголовных структур этих животных. В ближайшей перспективе мы планируем исследование функциональных особенностей обнаруженных у миног генов *Noggin*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-04-00015).*

## **ИЗМЕНЧИВОСТЬ КВАНТА МЕДИАТОРА ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕГУЛЯТОРНЫХ ФАКТОРОВ**

О.П. Балежина

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

e-mail: balezina@mail.ru

«Квантом медиатора» называют порцию медиатора, запасаемую внутри одной везикулы и высвобождаемую при экзоцитозе везикулы из терминалей синапсов. Электрофизиологическим проявлением действия кванта медиатора на

постсинаптическую мембрану являются т.н. миниатюрные постсинаптические потенциалы, обозначаемые в нервно-мышечных синапсах как миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП).

В работе использовали микроэлектродную регистрацию МПКП диафрагмы и мышцы голени мышей для выявления возможных быстрых изменений размеров квантов медиатора ацетилхолина (АХ) при активации тромбиновых рецепторов PAR1-типа, либо действию нейротрофинов – кальцитонин ген родственного пептида (КГРП) и мозгового фактора роста – BDNF. Впервые обнаружено быстрое – в течение 30-60 минут – увеличение амплитуды МПКП до 25-30% - при аппликации КГРП (0,01-1 мкМ), предотвращавшееся везамиколом – блокатором накачки АХ в везикулы. Выявлена «волна» постактиваационного прироста амплитуды МПКП на 25% – в течение 10-15 минут – вслед за тетанической (2 мин, 40 Гц) синаптической активностью. Прирост амплитуды МПКП предотвращался блокадой рецепторов КГРП, действием везамикола и рианоидина – блокатора рианоидиновых рецепторов.

Впервые выявлен достоверный и стойкий прирост амплитуды МПКП на 25% при аппликации на диафрагмальную мышцу и ее тромбиновые рецепторы тромбина либо избирательного агониста тромбиновых рецепторов PAR1-типа – гексапептида TRAP6. Этот прирост был не чувствителен к блокаде ПКС, но предотвращался блокадой фермента PKA и везамиколом. Получены доказательства в пользу того, что активация мышечных PAR1-рецепторов вызывает высвобождение эндогенного BDNF из мышцы, его дальнейшее ретроградное пресинаптическое рецепторное действие, которое приводит к увеличению размеров кванта АХ. Аппликация экзогенного BDNF также вызывала прирост амплитуды МПКП на 25-30%, аналогичный действию TRAP6, а блокада рецепторов BDNF предотвращала действие как экзогенного BDNF, так и потенцирующие эффекты TRAP6 в отношении амплитуды МПКП. Таким образом, в периферических моторных синапсах впервые обнаружена возможность быстрых изменений размеров квантов АХ на пресинаптическом уровне под действием эндогенных регуляторных факторов - нейротрофинов КГРП, BDNF и тромбина.

*Работа поддержана грантом РФФИ N 16-04-00554а.*

### **ЛИМФОИДНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ И ПАХОВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ОЛИГОПЕПТИДОВ**

А.А. Бахмет<sup>1</sup>\*, Е.В. Коплик<sup>2</sup>, С.В. Клочкова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*  
\*e-mail: anastasbakhmet@mail.ru

Исследована микротопография лимфоидных образований селезенки, паховых лимфатических узлов (ПЛУ) 164 крыс линии Вистар в условиях эмоционального стресса (ЭС) с различным типом индивидуальной стрессоустойчивости. На 14 сутки после воздействия ЭС у крыс, как прогностически устойчивых, так и предрасположенных к воздействию острого ЭС в паракортикальной зоне ПЛУ отмечается повышение плотности расположения клеток на единицу площади в 1,8 и 1,4 раза (соответственно), по сравнению с контрольной группой животных ( $p < 0.05$ ). Предварительное введение крысам ПВДС или Семакса снижает число малых лимфоцитов и уменьшает процессы деструкции в ПАЛМ селезенки и центрах размножения ПЛУ (через 1 час, на 3 и 14 сутки после стрессорного воздействия). Это свидетельствует о способности олигопептидов уменьшать

неблагоприятное влияние одночасовой эмоциональной нагрузки на макрофаго-пролиферативные и деструктивные процессы в функционально активных зонах селезенки и ПЛУ у крыс, предрасположенных к стрессу. Изменения микро топографии лимфоидных структур в селезенке и ПЛУ через 1 час, на 3 и 14 сутки после стрессорного воздействия, оказываются более выраженными, чем у стресс-устойчивых крыс, что говорит о значении индивидуальной устойчивости к стрессорным факторам в реализации реакции на эмоциональную нагрузку. Таким образом, введение олигопептидов ингибирует макрофаго-пролиферативные и деструктивные процессы в изученных органах.

## **НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ СИСТЕМЫ МОЗГА И ОКСИД АЗОТА В ГЕНЕЗЕ АМФЕТАМИНОВОЙ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ**

В.Г. Башкатова

*Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва  
e-mail: v.bashkatova@nphys.ru*

В настоящее время проблема наркотической зависимости приобрела особую актуальность и стала одной из главных медико-социальных проблем современной России. При этом, в молодежной среде все большее распространение получают амфетаминоподобные стимуляторы. Механизм действия психомоторных стимуляторов принято связывать, в первую очередь, с активацией дофаминергической нейротрансдачи, однако в последние годы показано, что важную роль при этом могут играть другие нейромедиаторные системы мозга, а также нейрональный мессенджер нового поколения оксид азота (NO). Целью работы явилось изучение участия глутаматергической и холинергической систем мозга, а также NO в механизмах нейротоксичности, обусловленной воздействием амфетамина. Эксперименты были выполнены на крысах-самцах линии Спрэг-Дуули в Университете г. Инсбрука (Австрия). Генерацию NO регистрировали прямым количественным методом электронного парамагнитного резонанса. Высвобождение нейротрансмиттеров ацетилхолина, аденозина и нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата, аспартата, ГАМК) в стриатуме измеряли методом ВЭЖХ/ЭД с применением внутримозгового микродиализа. Выявленное усиление генерации NO в стриатуме и коре мозга крыс наблюдалось после субхронического введения амфетамина (5 мг/кг, в/б, 4 раза, каждые 2 часа). Показано, что амфетамин вызывал увеличение уровня ацетилхолина в диализате более чем в 4 раза по сравнению с базальным уровнем. Выявлено также выраженное усиление высвобождения аспартата и ГАМК из стриатума мозга крыс, которым вводили амфетамин по сравнению с уровнем этих аминокислот в контрольной группе животных. Антагонист метаботропных глутаматных рецепторов 5-ого подтипа 2-метил-6-(фенилэтил) пиридин (MPEP) полностью предупреждал усиление выброса ацетилхолина и, в значительной степени, предотвращал повышение генерации NO, вызываемое введением амфетамина. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о существенном вкладе метаботропных глутаматных рецепторов 5-ого подтипа, холинергической системы и нейронального мессенжера NO в механизмы нейротоксических эффектов амфетамина. Полученные данные позволили выявить новые мишени для коррекции нейротоксических эффектов амфетаминоподобных психостимуляторов.

*Автор выражает глубокую благодарность проф. Атинеосу Филиппу, который являлся одним из авторов идеи данной работы, а также магистрам Татьяне Черных и Микаэле Краус за техническую помощь в выполнении экспериментов.*

## **ЭНДОГЕННЫЙ КАЛЬЦИТОНИН ГЕН-РОДСТВЕННЫЙ ПЕПТИД КАК РЕГУЛЯТОР РАЗМЕРА КВАНТА МЕДИАТОРА В ЗРЕЛЫХ И НОВООБРАЗОВАННЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

П.О. Богачева\*, О.П. Балезина

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

\*e-mail: untergang@inbox.ru

Кальцитонин ген-родственный пептид (КГРП) – нейропептид, запасаемый в электронноплотных везикулах моторных нервных окончаний, откуда он может высвобождаться путем экзоцитоза при высокочастотной активности аксонов. В нервно-мышечных синапсах хорошо изучены постсинаптические эффекты КГРП, однако мало известно о его пресинаптическом действии. В данной работе изучали изменения параметров спонтанной секреции ацетилхолина (АХ) в зрелых и новообразованных синапсах (формируемых в ходе реиннервации мышцы), вызываемые действием эндогенно высвобождаемого КГРП, и возможные механизмы этих изменений. Использовали стандартный микроэлектродный метод отведения миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) в изолированном нервно-мышечном препарате *m. EDL* мышцы до и после интенсивной стимуляции нерва (30 Гц, 2 мин).

Как в зрелых, так и в новообразованных синапсах в интервалах 20-30 минут после длительного раздражения нерва наблюдалась кратковременная «волна» увеличения средней амплитуды МПКП на 30%. Этот эффект предотвращался конкурентным блокатором рецепторов КГРП, укороченным пептидом КГРП<sub>8-37</sub>. Посттетаническая потенциация амплитуды МПКП, обусловленная высвобождением эндогенного КГРП, предотвращалась везамиколом (ингибитором везикулярного транспортера АХ) и Н89 (ингибитором протеинкиназы А), что говорит о пресинаптическом действии пептида, направленном на увеличение размера кванта АХ.

Высвобождение эндогенного КГРП и развитие его потенцирующих спонтанную секрецию АХ эффектов предотвращалось риаудином (блокатором риаудиновых рецепторов) и GF 109203X (ингибитором протеинкиназы С), что свидетельствует о необходимости участия депонированного кальция для экзоцитоза из синаптических окончаний электронноплотных везикул, содержащих КГРП, и участия протеинкиназы С в этом процессе.

Таким образом, впервые удалось показать, что при интенсивной активности нервно-мышечных синапсов возможно зависимое от депонированного кальция высвобождение эндогенного КГРП и его ауторегуляторное действие, мишенями которого являются пресинаптические структуры. Действуя на свои специфические рецепторы, эндогенный КГРП может запускать в нервных терминалях зрелых и новообразованных синапсов каскад реакций, приводящий к увеличению размера кванта АХ.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00554а.*

## **ОКСИД АЗОТА И ВОЗБУДИМОСТЬ КОМАНДНЫХ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

Т.Х. Богодвид<sup>1,2</sup>\*, А.Н. Головченко<sup>1</sup>, В.В. Андрианов<sup>1</sup>, Х.Л. Гайнутдинов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Поволжская государственная академия физической культуры, спорта и туризма, Казань

\*e-mail: tat-gain@mail.ru

Открытие способности клеток млекопитающих к синтезу свободного радикала оксида азота (NO) стимулировало огромные усилия исследователей к изучению роли NO во всех областях биологии и медицины. Однако, несмотря на то, что на



сегодняшний день накопилось огромное количество данных о сигнальных мишенях оксида азота, однозначное мнение на этот счет отсутствует. NO является внутри- и межклеточным посредником, выполняющим различные сигнальные функции, его молекула синтезируется в ответ на физиологическую потребность в клетке из L-аргинина с участием NO-синтазы (NOS), активирующейся увеличением содержания ионов  $Ca^{2+}$ . NO-синтезирующие нейроны обнаружены также и в нервной системе беспозвоночных, в том числе моллюсков. Показано, что NO у них играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы. Обнаружено, что NO координирует ряд поведенческих программ у моллюсков, найдено, что NO участвует в процессах обучения и памяти. NO контролирует также пластические свойства нейронов.

Поэтому целью данной работы было исследование эффектов донора NO и неспецифического блокатора NO-синтазы L-NAME на электрические характеристики командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки. Для экспериментов была выбрана виноградная улитка *Helix lucorum*, нервная система которой хорошо описана. Анализ электрических характеристик проводили на командных нейронах оборонительного рефлекса LPa3 и RPa3. Измерения проводили с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов сопротивлением 3-10 МоМ. Исследовали эффекты аппликации (в течение 30 мин) блокатора NO-синтазы L-NAME и нитропруссид натрия (SNP) - донора NO (в концентрациях  $10^{-4}$  моль/л), в раствор, омывающий препарат интактных улиток, на мембранный и пороговый потенциал командных нейронов. В экспериментах найдено, что аппликация донора NO SNP в концентрации  $10^{-4}$  моль/л в раствор, омывающий препарат интактных улиток, вызывает нарастающую гиперполяризацию мембраны командных нейронов на 5.5 мВ к 10-й минуте. Аппликация L-NAME в концентрации  $10^{-4}$  моль/л вызывала постепенное снижение в течение 30 мин мембранного потенциала с  $-60.2 \pm 0.8$  мВ до  $-55.4 \pm 1.7$  мВ. Через 30 мин мембранный потенциал становился стабильным. Изменений порога генерации потенциала действия при этом не наблюдалось.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).*

## **ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕАСОМАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

Д.В. Богуславский\*, И.С. Захаров

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

e-mail: boguslavsky@rambler.ru

У многоклеточных основную роль в протеолизе в клетках выполняют протеасомы. Организация нервной системы моллюсков *Helix lucorum* дает возможность анализировать установление функциональных связей и формирование нейрональных сетей в индивидуальном развитии, а также их переформирование у взрослых особей. Исследована возрастная динамика содержания альфа субъединиц протеасом LMP в ганглиях виноградной улитки *Helix lucorum* L. на ранних стадиях онтогенеза. Измерение протеасомальной активности показало, что данный показатель намного выше в церебральном ганглии, чем в остальных ганглиях улитки. Об этом также свидетельствуют результаты иммуногистохимического анализа whole-mount препаратов и вестерн-блоттинг лизатов отдельных ганглиев с использованием антител к альфа-субъединицам протеасом. Присутствие большого количества протеасом в церебральных ганглиях, по-видимому, связано с высоким уровнем нейрогенеза в процеребруме.

На первом этапе исследовалась связь между возрастом ювенильных улиток с количеством протеасом в центральной нервной системе. На изолированной ЦНС

ювенильных улиток разного возраста: 2, 4, 6 и 8 недель была проведена иммуногистохимия. Наибольшая иммунофлуоресценция антител к альфа субъединице протеасом наблюдалась у двухнедельных улиток в процеребруме и в подглоточном комплексе ганглиев. На втором этапе исследований была поставлена задача подтвердить наивысшую протеасомальную активность в процеребруме относительно других ганглиев. В процеребруме, как известно, происходит активный нейрогенез, возможно коррелирующий с высокой активностью протеасом. Были получены осветленные гомогенаты подглоточного комплекса ганглиев и процеребрума (часть церебрального ганглия) *Helix aspersa* в которых наблюдалась наибольшая иммунофлуоресценция. Динамику хемотрипсинподобной (ХПА) и каспазаподобной (КПА) активностей протеасом в осветленных гомогенатах образцов определяли по гидролизу флуорогенных олигопептидов Suc-LLVY-AMC и Z-LLG-AMC, соответственно. Наивысшая активность каспазы наблюдалась в процеребруме. Для оценки содержания альфа субъединиц регуляторов протеасом в осветленных гомогенатах образцов был использован метод Вестерн-блоттинга. Увеличенное количество альфа субъединиц регуляторов протеасом обнаружено в церебральном ганглии, в состав которого входит процеребрум.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, №17-04-01827а, и программы Президиума РАН № 41 «Фундаментальные исследования для разработки медицинских технологий», раздел Государственного задания № 0108-2018-0008.*

## **НЕНЕЙРОНАЛЬНАЯ ХОЛИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА И ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА В АМНИОНЕ КУРИНОГО ЭМБРИОНА**

О.В. Бойко

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва  
e-mail: olga.boiko@idbrus.ru*

Исследовали механизмы холинергической регуляции в неиннервированном амнионе куриного эмбриона. Проведена фармакологическая идентификация холинергических рецепторов амниона. Показано, что сократительная активность амниона, вызванная холинергическими агонистами, опосредуется  $M_3$ -холинорецепторами. Для специфических  $M$ -антагонистов порядок холинолитической активности ( $-\log IC_{50}$ ) в отношении реакции на карбахолин (КБХ) составил: 4-DAMP ( $M_3$ ) – 8.29 > тропикамид ( $M_4$ ) – 6.97 > пирензепин ( $M_1$ ) – 5.85 > метоктрамин ( $M_2$ ) – 5.63.

Нифедипин (0.1–1 мкМ), блокатор потенциалзависимых  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа, блокирует спонтанные и вызванные КБХ ритмические сокращения амниона, а также тоническую реакцию на гиперкалиевый раствор. Тоническая реакция на КБХ в норме и на фоне калиевой контрактуры полностью нифедипином не устраняется. Тапсигаргин (2 мкМ, 20 мин), ингибитор эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз и активного захвата кальция, снижает тоническую реакцию на КБХ на 40%. Высвобождение  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных кальциевых депо в амнионе эффективно блокируется U73122 (5 мкМ), ингибитором фосфолипазы C. Следовательно, в опосредовании КБХ-вызванных сокращений амниона куриного эмбриона участвует система высвобождения кальция через  $IP_3$ -чувствительные рецепторы саркоплазматического ретикулума. Кроме того, рианодин (10 мкМ), блокатор рианодиновых рецепторов, снижает тоническую реакцию амниона на КБХ до 36% от контроля. Таким образом, КБХ вызывает сократительные реакции в амнионе куриного эмбриона, опосредуемые  $M_3$ -холинорецепторами и ионами  $Ca^{2+}$ , входящими через потенциалуправляемые каналы L-типа и мобилизуемыми из внутриклеточных запасов через  $IP_3$  и рианодиновые рецепторы.

Исследовали возможное включение кальциевых каналов Т-типа в реализацию сократительных реакций амниона. Блокаторы Т-каналов мибефрадил и NNC 55-0396 вызывали дозозависимое торможение сократительной активности амниона, вызванной КБХ, превышая по эффективности действие нифедипина. Нифедипин (0,1-1мкМ) и NCC 55-0396 (0,1-5 мкМ) взаимно усиливали реакции друг друга: нифедипин, введенный на фоне действия NCC55-0396, потенцировал вызванное NCC 55-0396 торможение и наоборот.

*Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0002.*

### **РОЛЬ НАТРИЙ-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕННИКА В ДЕЙСТВИИ АМИТРИПТИЛИНА НА NMDA-РЕЦЕПТОРЫ**

С.И. Бойков, Ю.Д. Степаненко\*, Д.А. Сибаров, Н.Н. Шестакова, С.М. Антонов  
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург  
\*e-mail: juli@unixway.org

Известно, что некоторые трициклические антидепрессанты, в частности amitriptilin, являются ингибиторами натрий-кальциевого обменника (NCX), а также ингибиторами N-метил-D-аспартат чувствительных рецепторов глутамата (NMDAR). NMDAR подвержены кальций-зависимой десенситизации в результате накопления внутриклеточного кальция при длительном воздействии агонистов на рецептор. Ранее нами показано, что натрий кальциевый обменник (NCX) играет ключевую роль в процессе кальций-зависимой инактивации NMDA-рецепторов. В данной работе исследована зависимости влияния amitriptilina на NMDA рецепторы от уровня вне и внутриклеточного кальция, а также от работы натрий-кальциевого обменника. Изучение концентрационных зависимостей блокирования рецептора amitriptilinom, при разных концентрациях внеклеточного кальция выявило кальций-зависимое ингибирование, что говорит об усилении кальций-зависимой десенситизации NMDAR за счет подавления исследуемыми веществами работы натрий-кальциевого обменника. При этом в небольших концентрациях amitriptilina усиливал кальций-зависимую инактивацию рецепторов путем ингибирования натрий-кальциевого обменника. В высоких концентрациях наблюдали прямую потенциал-зависимую блокаду amitriptilinom канала NMDA рецептора, которая не зависела от кальция.

*Поддержано РФФИ 18-015-00023. Выполнено в рамках госзадания АААА-А18-118012290427-7.*

### **СЕРТОНИН И ПРИНЯТИЕ РЕШЕНИЯ В УСЛОВИЯХ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ У МОЛЛЮСКА**

Б.А. Болдышев<sup>1</sup>, М.И. Межерицкий<sup>2</sup>, Д.Д. Воронцов<sup>2</sup>, В.Е. Дьяконова<sup>2</sup>\*

<sup>1</sup> Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, Москва

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

\*e-mail: dyakonova.varvara@gmail.com

Для исследования эффектов серотониновой системы на принятие решения прудовиком использовали ранее описанное поведение на стеклянной поверхности в градиенте освещения. Оно включает две хорошо различающиеся фазы: 1 – медленное вращение; 2 – интенсивная локомоция в выбранном направлении.

Предпосылкой для изучения эффектов серотониновой системы на данной модели стали результаты, продемонстрировавшие, что предварительная интенсивная локомоция, сопровождающаяся повышением синтеза серотонина, ускоряет принятие решения в данной ситуации, сокращая первую фазу поведения и количество поворотов и ускоряя локомоцию и наступление второй фазы.

Применяли метаболический предшественник серотонина 5-гидрокситриптофан (5-НТР; 0.1 мМ), повышающий выработку серотонина, серотонин (5-НТ, 0.1мМ; 10 мкМ; 1 мкМ) и антагонист 5-НТ<sub>2А</sub> рецепторов кетансерин (10 мкМ).

Полученные результаты подтвердили данные о влиянии двигательной активности на принятие решения. У улиток, находившихся в новой водной среде и двигавшихся активнее, чем улитки в привычной среде обитания, наблюдалось достоверное сокращение первой поисковой фазы, проявившееся в уменьшении количества поворотов и латентного периода принятия решения о направлении движения.

Инкубация улиток в 5-НТР сократила латентный период начала движения и время достижения границы арены. Сходный эффект вызвал и 5-НТ, увеличивая скорость движения и сокращая время достижения виртуальной границы, но не уменьшая количества вращений в первой фазе. Улитки, инкубированные в кетансерине, имели тенденцию к снижению поворотов в первой фазе, достоверно позже принимали решение о направлении движения и отличались низкой скоростью локомоции.

На основании этих данных мы делаем вывод о том, что активация серотониновой системы не объясняет полностью эффекты двигательной нагрузки. Серотонин ускоряет развитие сложной поведенческой программы, предназначенной для предотвращения витальной ситуации, в целом, но не оказывает существенного влияния на структуру поведения (соотношение первой и второй фазы поведения на стекле).

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, №17-04-01827а, 17-29-07029 и Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0002. Выражаем благодарность Маше Ромм и Никите Скаковскому за помощь.*

## **КОНСЕРВАТИВНОСТЬ МЕХАНИЗМОВ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ГЕНОВ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ В НЕЙРОНАХ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ**

А.А. Бородинова\*, М.А. Кузнецова

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

\*e-mail: borodinova.msu@mail.ru

Известно, что обучение сопровождается увеличением уровня ацетилирования гистонов в областях мозга, задействованных в данном виде обучения. Эти эпигенетические модификации стимулируют ремоделирование хроматина, которое может быть сопряжено с определенным паттерном экспрессии генов. До недавнего времени исследование эпигенетической регуляции генов атипичных протеинкиназ (аPKCs), белковые молекулы которых играют ключевую роль в регуляции синаптической пластичности и памяти, не проводилось.

В данной работе мы попытались ответить на вопрос, является ли эпигенетическая регуляция генов *Prkci* и *Prkcz*, кодирующих аPKCs, уникальной для нейронов разных популяций. Используя метод количественного ПЦР, был проведен сравнительный анализ экспрессии генов аPKCs в первичных культурах кортикальных и гиппокампальных нейронов крысы при инкубации их с ингибитором гистондеацетилаз, трихостатином А (TSA, 100 нМ). Короткая инкубация (2 часа) нейронов с TSA не приводила к статистически значимым изменениям транскрипционной активности исследуемых генов (n=4 в каждой группе). Однако, при длительной обработке ингибитором (19 часов) уровень экспрессии гена *Prkci*, кодирующего протеинкиназу Ci (PKCi), увеличивался практически в 2 раза как в нейронах коры (n=8), так и в гиппокампальных нейронах (n=7-8). Параллельно с этим происходило изменение наработки транскриптов PKC $\zeta$  и PKM $\zeta$ , которые считываются с 5' и 3' альтернативных промоторов гена *Prkcz*, соответственно. Мы показали, что после обработки TSA

количество мРНК нейрон-специфичной изоформы РКМ $\zeta$  снижалось примерно в 2,2 раза в нейронах коры (n=6) и в 1,9 раза в культурах гиппокампа (n=7-8) по сравнению с контролем. Примечательно, что продукция транскриптов РКС $\zeta$ , которая в норме встречается в мозге в следовых количествах, увеличивалась почти в 20 раз в культурах кортикальных (n=7-8) и гиппокампальных нейронов (n=5-8). Таким образом, при увеличении степени ацетилирования гистонов в нейронах коры и гиппокампа, по-видимому, происходит перераспределение роли промоторов гена *Prkcz*. Полученные данные также подтверждались в аналогичных сериях экспериментов, выполненных с другим блокатором гистондеацетилаз, бутиратом натрия (5 мМ).

Таким образом, мы получили экспериментальные свидетельства в пользу консервативности механизмов эпигенетического контроля атипичных протеинкиназ в разных популяциях нейронов.

*Работа поддержана Программой Российской Академии Наук и грантом Российского научного фонда (№14-25-00072)*

### **АКТИВАЦИЯ ПОСТСИНАПТИЧЕСКИХ ТРОМБИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ PAR1 УСТОЙЧИВО ПОТЕНЦИРУЕТ РАЗМЕР КВАНТА АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ ЗА СЧЕТ РЕТРОГРАДНОГО ДЕЙСТВИЯ BDNF**

А.Е. Гайдуков\*, А.С. Митева, О.П. Балезина

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

\*e-mail: gaydukov@gmail.com

PAR (Protease-Activated Receptors) – семейство G-белок-связанных рецепторов из 4 типов (PAR1-4). Ранее было выявлено наличие PAR1 на постсинаптических мембранах моторных синапсов.

В данной работе исследовали механизмы изменений спонтанной и вызванной секреции ацетилхолина (АХ) при активации мышечных PAR1 пептидом-агонистом TRAP6 (1 мкМ) или тромбином в низкой концентрации (1 нМ). В моторных синапсах диафрагмы мыши с помощью внутриклеточных микроэлектродов регистрировали миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) и вызванные стимуляцией нерва многоквантовые потенциалы концевой пластинки (ПКП).

Впервые показано, что активация не имеющих пресинаптической локализации PAR1 вызывает устойчивое увеличение амплитуд постсинаптических потенциалов на 20-30%. С помощью анализа квантового состава ПКП и ингибирования везикулярного транспорта АХ везамиколом было выявлено, что прирост амплитуд МПКП и ПКП обеспечивается за счет возрастания размера кванта АХ на пресинаптическом уровне. Нейротрофический фактор мозга (BDNF) вызывал эффект, сходный с наблюдаемым при активации PAR1 с помощью TRAP6 или тромбина. Везамикол предотвращал прирост амплитуд МПКП под действием BDNF (1 нМ). При блокировании пресинаптических TrkB-рецепторов BDNF с помощью ANA12 активация PAR1 не приводила к возрастанию амплитуд МПКП. Ингибирование фосфолипазы C (PLC) предотвращает потенцирующее действие на размер кванта АХ активаторов PAR1, но не BDNF. При заблокированной протеинкиназе A (PKA) как активаторы PAR1, так и BDNF утрачивали способность увеличивать амплитуду МПКП.

Таким образом, выявлено, что в основе увеличения размера кванта АХ при активации PAR1 в моторных синапсах лежит сигнальный каскад, начинающийся на постсинаптическом, и заканчивающийся на пресинаптическом уровне моторного синапса. Предполагается, что активация мышечных PAR1 вызывает PLC-опосредованное высвобождение нейротрофина BDNF в качестве ретроградного сигнализатора. Его действие на пресинаптические TrkB-рецепторы

запускает каскад с участием РКА, приводящий в конечном итоге к увеличению размера кванта АХ.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00554а*

**ОТЛИЧИЕ ОТВЕТОВ КОМАНДНЫХ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ У ОБУЧЕННЫХ И ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ НА АППЛИКАЦИЮ СЕРТОНИНА И АНТАГОНИСТА СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ МЕТИОТЕПИНА**

Х.Л. Гайнутдинов<sup>1</sup>\*, В.В. Андрианов<sup>1</sup>, Т.Х. Богодвид<sup>1,2</sup>, А.Х. Винарская<sup>3</sup>,  
И.Б. Дерябина<sup>1</sup>, Л.Н. Муранова<sup>1</sup>, Д.И. Силантьева<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Поволжская государственная академия физической культуры, спорта и туризма, Казань

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

\*e-mail: kh\_gainutdinov@mail.ru

Существует большое количество исследований, демонстрирующих необходимость серотонина (5-НТ) для формирования у моллюсков условных оборонительных рефлексов. В последнее время развивается концепция о том, что важнейшую роль в механизмах памяти у моллюсков играет внесинаптическая передача 5-НТ. Кроме хорошо известной роли 5-НТ как медиатора было показано, что он может выполнять интегративные функции при выделении его во внеклеточную среду. Долголетние исследования привели проф. Д.А. Сахарова к убеждению, что динамическими флюктуациями содержания нейроактивных молекул (прежде всего 5-НТ) в локальной межклеточной среде определяются физиологические свойства и рецепторный профиль индивидуальных нейронов. Показано также, что значительное количество 5-НТ может выделяться во внесинаптическую среду при долговременной синаптической активности. Одним из участков воздействия 5-НТ являются внесинаптические 5-НТ-рецепторы.

Исходя из выше изложенного, нами было проведено исследование реакции серотониновых рецепторов командных нейронов LPa3 и RPa3 виноградной улитки на аппликацию 5-НТ и метиотепина (МЕТ), который является антагонистом рецепторов 5-НТ первого типа. Выработывали условный оборонительный рефлекс на постукивание по раковине. Далее исследовали реакции нейронов LPa3 и RPa3 на аппликацию (в течение 30 мин) следующих веществ в раствор, омывающий препарат интактных и обученных улиток: 5-НТ, 5-гидрокситриптофана (5-НТР), предшественника синтеза серотонина, МЕТ; все в концентрации  $4 \times 10^{-5}$  М/л. Регистрировали мембранный потенциал ( $V_m$ ) и пороговый потенциал ( $V_t$ ). Было найдено, что аппликации 5-НТ, 5-НТР вызывают значительное уменьшение  $V_m$  интактных и обученных улиток, но не вызывают изменений  $V_t$  интактных улиток. Однако они вызывают возрастание  $V_t$  обученных улиток. МЕТ в контрольной группе приводит к уменьшению  $V_m$  нейронов LPa3 и RPa3 и его увеличение до первоначального уровня при последующей аппликации серотонина. У обученных животных МЕТ также приводит к уменьшению  $V_m$ , но последующая аппликация серотонина не меняет  $V_m$ . Результаты показывают, что ответы командных нейронов на экстраклеточную аппликацию 5-НТ, 5-НТР и МЕТ изменяются после ассоциативного обучения. Можно предположить, что обучение приводит к изменениям в состоянии серотониновой системы.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).*

## ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОХИМИЧЕСКОГО КОНТИНИУМА МОЗГА ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИЛОИДОГЕННЫХ СТРУКТУР БЕЛКА $\alpha$ -СИНУКЛЕИНА У СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ

М.А. Грудень<sup>1\*</sup>, В.С. Кудрин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова, Москва

\*e-mail: mgruden@mail.ru

Современные представления о том, что в основе развития синуклеопатий лежат гиперпродукция и нарушение конформации белка  $\alpha$ -синуклеина ( $\alpha$ -син) диктуют дальнейшее изучение влияния агрегатов  $\alpha$ -син на основные процессы, лежащие в основе интегративной деятельности мозга. Целью данной работы явилось изучение содержания и обмена основных нейромедиаторов в различных церебральных структурах в условиях хронического интраназального введения токсических амилоидогенных олигомеров и фибрилл  $\alpha$ -син стареющим мышам. В работе использовали самцов мышей C57BL/6 (n=36) 12-ти месячного возраста, которым интраназально вводили в течение 14-ти дней физиологический раствор либо растворы олигомеров или фибрилл  $\alpha$ -син, полученных и охарактеризованных *in vitro*, в суммарной дозе 0.48 мг/кг. После тестирования показателей двигательной активности в модели «Открытое поле», животных декапитировали и выделяли на холоду церебральные структуры: черную субстанцию мозга, стриатум, гиппокамп и фронтальную кору. Методом ВЭЖХ определяли в данных структурах содержание нейромедиаторов и их метаболитов. Документированы новые и приоритетные данные об особенностях метаболизма основных нейромедиаторных систем в различных отделах мозга и статусе двигательной активности стареющих мышей в условиях хронического влияния амилоидогенных форм белка  $\alpha$ -син. Обнаружено достоверное снижение содержания дофамина и повышения уровня его метаболитов, а также увеличение концентрации норадреналина, серотонина и его метаболита при действии олигомеров  $\alpha$ -син в черной субстанции мозга, но не стриатуме. Отмечено повышение концентрации дофамина в черной субстанции мозга с одновременным повышением его гиппокампальной концентрации в условиях введения фибриллярных структур  $\alpha$ -син. Композиционная смесь фибрилл с олигомерными агрегатами  $\alpha$ -син значительно повышала уровни дофамина в черной субстанции мозга, норадреналина в стриатуме, но снижала содержание медиатора в гиппокампе. Полученные результаты углубляют представления о молекулярных основах патогенеза хронических прогрессирующих заболеваний – синуклеопатий, а также нейрохимических механизмах их развития, вызванных влиянием токсических амилоидогенных структур белка  $\alpha$ -синуклеина.

### МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

Е.К. Гуревич

Московский государственный медико-стоматологический университет им.

А.И. Евдокимова, Москва

e-mail: elizaveta\_gurevich@mail.ru

Нейропластичность – это способность головного мозга изменяться и адаптироваться за счет структурно-функциональных реорганизаций, происходящих на разных уровнях. Одним из видов таких изменений является синаптическая пластичность. Основными механизмами синаптической пластичности является спраутинг аксонов, синаптогенез и изменения в самих синапсах. Например, изменение количества глутаминовых AMPA-рецепторов на постсинаптической мембране, регулирующих токи  $Ca^{2+}$ . Было показано, что высокий уровень AMPA-

рецепторов может поддерживаться, при наличии активных атипических протеинкиназ, что приводит к усилению постсинаптических токов. При кратковременной выраженной активации синапса, запускаются и другие каскадные реакции активация протеинкиназ. Протеинкиназы регулируют передачу сигналов внутри клетки, метаболические пути и пути сигнальной трансдукции путем фосфорилирования белков-ферментов (например, кальций-связывающего белка – кальмодулина). При достаточно длительном повышении концентрации рКА, молекула проникает в ядро, где фосфорилирует факторы транскрипции. Кроме этого показана роль внеклеточной сигнал-регулируемой киназы (ERK-сигнальный путь) в механизмах синаптической пластичности. Так может регулироваться «сила синапса», т.е. способность отвечать на возбуждение в зависимости от его силы, длительности и характеристик предшествующего импульса. Важную роль в вышеперечисленных процессах играет глиальное окружение нейронов. Так, астроциты принимают участие в нейрогенезе и миграции нейронов, поддерживают синаптогенез, в том числе и путем выделения холестерина. Последний способствует поддержанию долговременной потенциации способствуя положительной аллостерической модуляции NMDA-рецепторов. Кроме того, он необходим для формирования синаптических пузырьков. Так же астроциты способны регулировать передачу сигнала путем захвата из межсинаптической щели глутамата и  $Ca^{2+}$  за счет белков-переносчиков. Стимуляцию и поддержание роста нейронов, а также усиление передачи усиливают нейротрофины, например, BDNF (brain-derived neurotrophic factor).

Таким образом, синаптическая пластичность обеспечивается за счет морфологических, структурных и биохимических изменений.

### **ДИСБАЛАНС ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В НЕЙРОНАХ ЧЕЛОВЕКА ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДОНОРОВ С СИНДРОМОМ ДАУНА**

Э.Б. Дашинимаев<sup>1,2</sup> \*, А.С. Артюхов<sup>2,3</sup>, Н.В. Мещерякова<sup>2,4</sup>, Ю.С. Василенко<sup>1,2</sup>,  
А.А. Любинец<sup>3</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный

<sup>4</sup> Российский университет дружбы народов, Москва

<sup>5</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

\*e-mail: dashinimaev@gmail.com

Синдром Дауна (СД), вызываемый хромосомными aberrациями 21-й хромосомы (как правило, трисомия) - самая распространенная геномная патология человека. Спектр нарушений развития организма при СД чрезвычайно широк – нарушения когнитивного развития, врожденные пороки сердца, предрасположенность к миелоидному лейкозу или болезни Альцгеймера. Для изучения механизмов возникновения данных патологий и поиска способов их компенсации, необходима разработка адекватных клеточных моделей *in vitro*, поскольку изучение *in vivo* часто затруднено из-за недоступности тканей (например, тканей сердца или головного мозга). Использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) для данных целей весьма актуально, поскольку их можно дифференцировать *in vitro* в клетки любого типа ткани. В наших исследованиях мы получили несколько линий ИПСК с трисомией 21-й хромосомы (T21), дифференцировали их в нейроны и показав в частности, что они воспроизводят в клеточной культуре ранние этапы болезни Альцгеймера. При



помощи анализа транскриптомных данных, мы убедились в наличии дисбаланса экспрессии генов в нейронах с T21 по сравнению со здоровым контролем, который выражается в среднем увеличении экспрессии генов по всему геному. Также мы проанализировали дисбаланс экспрессии генов в культурах ИПСК и фибробластов T21 клеток в сравнении со здоровым контролем, нашли ряд дифференциально экспрессированных генов общих для всех трех типов клеток и подтвердили данные при помощи количественного ПЦР в реальном времени.

*Работа была поддержана грантом Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» № 0108-2018-0010*

### **СОВМЕСТНОЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ С-ПЕПТИДА И ИНСУЛИНА ВОССТАНАВЛИВАЕТ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЙ СИГНАЛИНГ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДИАБЕТИЧЕСКИХ КРЫС**

К.В. Деркач\*, В.М. Бондарева, И.Б. Сухов, А.О. Шпаков

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

*\*e-mail: derkatch\_kira@list.ru*

С-пептид проинсулина, продуцируемый в результате процессинга молекулы проинсулина в панкреатических  $\beta$ -клетках, является важнейшим регулятором нервной и эндокринной систем, контролирует микроциркуляцию и воспалительные процессы. Его эффекты реализуются как вследствие специфического взаимодействия с рецептором GPR146, так и в результате усиления действия инсулина, который способен образовывать с С-пептидом олигомерные функционально активные комплексы. Поскольку при сахарном диабете 2-го типа (СД2) отмечается дефицит инсулина и С-пептида в ЦНС вследствие нарушения их транспорта через гематоэнцефалический барьер, мы предположили, что одним из путей нормализации функций мозга и энергетического гомеостаза при СД2 может стать комбинированное центральное введение инсулина и С-пептида. Для проверки этого изучали влияние совместного интраназального введения инсулина (ИИ, 23 мкг/крысу) и С-пептида (ИСП, 12 мкг/крысу) в течение 7 суток самцам крыс Wistar с неонатальной моделью СД2, который вызывали инъекцией стрептозотоцина (70 мг/кг) пятисуточным крыскам, что приводило к развитию у них СД2 в трехмесячном возрасте. При введении ИИ+ИСП отмечали ослабление гипергликемии, улучшение толерантности к глюкозе, повышение чувствительности к инсулину, восстановление показателей липидного обмена, а также нормализацию Thr<sup>308</sup>- и Ser<sup>473</sup>-фосфорилирования Akt-киназ, основных компонентов инсулинового сигналинга, и частичное восстановление регуляторных эффектов агонистов D2-дофаминовых, 1В-серотониновых и МК4-меланокортиновых рецепторов на активность аденилатциклазной системы в гипоталамусе диабетических крыс. Монотерапия ИИ также приводила к улучшению метаболических и гормональных показателей, но была менее эффективной в сравнении с комбинацией ИИ+ИСП. Обработка ИСП на изучаемые показатели влияла слабо. Таким образом, совместное введение ИИ+ИСП приводит к частичному восстановлению глюкозного гомеостаза и энергетического обмена у крыс с СД2, и в основе этого, как мы полагаем, лежит нормализации активности гипоталамических сигнальных систем.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№ 18-015-00144).*

## **РЕКОНСОЛИДАЦИЯ КОНТЕКСТУАЛЬНОЙ ПАМЯТИ ПОСЛЕ НАПОМИНАНИЯ У ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ ЗАВИСИТ ОТ СЕРОТОНИНА**

И.Б. Дерябина\*, Л.Н. Муранова, Х.Л. Гайнутдинов  
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань  
\*e-mail: ira-kan@yandex.ru

При переходе памяти из кратковременной формы в долговременную она является достаточно неустойчивой сразу после получения новой информации, но становится стабильной со временем. Для этого перехода (консолидации памяти) требуется новый синтез белков. Напоминание запускает процесс повторной консолидации памяти, которая также нуждается в белковом синтезе. Такой процесс назвали реконсолидацией. Серотонин (5-НТ) является одним из широко распространенных и хорошо изученных медиаторов нервной системы. К настоящему времени накопился большой экспериментальный материал, свидетельствующий о связи функционирования серотонинергической системы со способностью к обучению. Большое количество экспериментов выполнены с использованием аппликации 5-НТ для получения клеточных аналогов обучения. Для исследования роли серотонинергической системы в формировании поведения применяются нейротоксические аналоги серотонина, например 5.7-дигидрокситриптамин (5.7-DHT), который вызывает истощение 5-НТ. В поведенческих экспериментах было показано, что воздействие нейротоксином 5.7-DHT не меняет оригинальную память, но ведет к ее нарушению после повторной реактивации. Одним из препаратов, который вызывает истощение серотонина в мозге, является блокатор триптофан гидроксилазы р-хлорфенилаланин (р-ХФА).

Нами было проведено исследование роли 5-НТ в контекстуальном обусловливании при формировании условного обстановочного рефлекса (УР) и его реконсолидации с использованием 5.7-DHT и р-ХФА. Выбатывали УР, когда животные различали тестовые сигналы, примененные в разных ситуациях (на шаре и плоской поверхности). УР считался сформированным, если реакция на шаре (контекст обучения) значительно превышала таковую на плоской поверхности. На следующий день, после тестирования, подтверждающего обучение, улиток помещали на 20 мин на шар, что служило напоминанием, а затем блокировали биосинтез белка инъекцией анизомицина в дозе 0,4 мг на улитку. Для исследования роли 5-НТ в реконсолидации и ее нарушении улиткам инъецировали 5.7-DHT в дозе 20 мг/кг веса или р-ХФА в дозе 0,2 мг/г веса за 3 дня до напоминания обстановки. Если выработка УР проводилась с предъявлением 3-х стимулов в день, то уже на следующий день после напоминания, сопровождаемого блокадой синтеза белка и истощением 5-НТ, реакция на условный стимул на шаре снижалась в 2 раза, а на 2-й день тестирования - в 3 раза. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости 5-НТ для процесса реконсолидации памяти на примере виноградной улитки.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).*

## **ИНТЕНСИВНАЯ ЛОКОМОЦИЯ АКТИВИРУЕТ НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРЕАДАПТАЦИИ К НОВОЙ СРЕДЕ?**

В.Е. Дьяконова  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва  
e-mail: dyakonova.varvara@gmail.com

Большой интерес у физиологов, психологов и клиницистов вызывает влияние двигательной активности на поведение и когнитивные функции человека и

животных в норме и при патологиях. Чем больше накапливается данных, тем более интересным и специфическим выглядит паттерн ее эффектов, удивительно сходный у представителей далеких в эволюционном отношении видов. Создается впечатление, что настал момент, позволяющий сформулировать гипотезу и критерии для ее проверки в отношении эффектов интенсивной локомоции и их нейрохимических механизмов.

Мы предполагаем, что моторная нагрузка вызывает активацию биологических механизмов преадаптации к новой среде, и что нейрохимическая основа этих механизмов в значительной степени эволюционно-консервативна. К числу механизмов такой преадаптации мы относим активацию агрессии (конкурентоспособности репродуктивных и когнитивных функций). Новая среда означает высокую неопределенность и низкую прогнозируемость событий. И то и другое снижает шансы на выживание и поэтому даже избыточная преадаптация к возможному попаданию в новые условия представляется биологически оправданной.

Снижение прогноза на продолжительность выживания самой особи будет способствовать ускоренному использованию ее репродуктивного потенциала. Кроме того, повышение разнообразия за счет увеличения численности потомства является известным механизмом преадаптации к неопределенности. Не исключено, что помимо активации полового поведения, увеличения численности потомства, может быть обнаружена и более высокая дисперсия среди потомков особей с опытом интенсивной локомоции, особенно в отношении поведенческих стратегий.

Если активация когнитивных функций в ответ на повышение уровня двигательной активности, действительно, часть биологической преадаптации к новизне, то мы должны ожидать вполне конкретные проявления в когнитивном поведении. А именно, ускоренное забывание старого и запоминание нового; облегчение принятия решения, повышение уверенности (confidence); снижение контекст-зависимости поведения и повышение целенаправленности. Два вторых тезиса объясняются высокой «зашумленностью» новой среды, затрудняющей принятие решения и достижение цели.

Часть предложенных критериев для проверки уже находит экспериментальное подтверждение. В частности, показаны эффекты интенсивной локомоции на принятие решения, облегчение забывания и запоминания, агрессию, активацию полового поведения, есть данные, свидетельствующие о консервативном участии моноаминов в обеспечении этих эффектов у далеких видов. По остальным пунктам мы ведем либо планируем эксперименты с использованием беспозвоночных нейробиологических объектов, насекомых и моллюсков.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ №17-04-01827а, 17-29-07029, Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0002*

## **РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ С ПОМОЩЬЮ ОКСИДА АЗОТА**

О.И. Ерлыченкова<sup>1</sup>, Н.В. Баль<sup>2\*</sup>, А.Х. Винарская<sup>2</sup>, Е.А. Чеснокова<sup>2</sup>,  
Л.А. Урошлев<sup>2,3</sup>, П.М. Балабан<sup>2</sup>, П.М. Колосов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Российский национальный исследовательский медицинский университет им.  
Н.И. Пирогова, Москва*

<sup>2</sup> *Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

<sup>3</sup> *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва*

\*e-mail: bal\_nv@mail.ru

Оксид азота - это газовый трансмисмиттер в нервной системе, обеспечивающий внутри- и межклеточную коммуникацию между различными типами клеток в

мозге. Основным источником оксида азота в мозге являются NO-синтазы, при этом основные эффекты происходят как с помощью каскада NO-гуанилатциклаза-цГМФ-PKG, так и с помощью нитрозилирования и транснаитрозилирования белков. В настоящее время накапливаются данные о том, что оксид азота участвует в эпигенетической регуляции экспрессии генов в нервной системе, например, с помощью цГМФ-зависимого фосфорилирования ядерного белка CREB, путем нитрозилирования гистондеацетилазы HDAC2. В ряде работ было показано, что оксид азота регулирует экспрессию ранних генов при активации нейронов на уровне белка. Однако существует мало данных о том, экспрессия каких генов регулируется оксидом азота на уровне транскриптома.

В ходе эксперимента мы заблокировали в культуре нейронов гиппокампа крысы (15-16 день *in vitro*) синтез оксида азота на 80 минут с помощью блокатора NO-синтазы L-NAME (200 мкМ), после чего собрали пробы РНК для проведения полногеномного секвенирования и последующего биоинформатического анализа. Анализ данных показал, что при блокаде NO-синтазы наблюдается тенденция к увеличению экспрессии рибина (*LOC257642*, rRNA promoter binding protein) и снижению экспрессии генов *Igf2*, *A2M* и других. Последующий анализ с помощью цифровой ПЦР показал тенденцию к снижению экспрессии гена *A2M* ( $p=0,09$ ) после 80 минут блокады, но не после 6 часов, где экспрессия не отличается от контроля. Для гена *Igf2* достоверных различий в настоящее время обнаружено не было. Однако, последнее может быть связано с очень низкой экспрессией гена *Igf2* в культуре и сильным разбросом между экспериментами. Дальнейшие исследования и анализ других генов-кандидатов необходимы для понимания, какие изменения транскриптома происходят при блокаде NO-синтазы и какие эпигенетические механизмы лежат в основе этих изменений.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-25-00072-П.*

**КОНТАКТНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С КЛЕТКАМИ-МИШЕНЯМИ,  
ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫМ IL-21, ВАЖНЫ ДЛЯ  
АКТИВАЦИИ IFN $\gamma$ -ПРОДУЦИРУЮЩИХ НК-КЛЕТОК**

С.А. Ерохина\*, М.А. Стрельцова, П.А. Кобызева, Е.И. Коваленко  
Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва

\*e-mail: sonya.erokhina@gmail.com

Функциональная активность НК-клеток, важнейшего компонента врожденного иммунитета, регулируется большим набором растворимых цитокинов, а также контактными взаимодействиями с потенциальными клетками-мишенями. IL-21, один из активирующих НК-клеточных регуляторов, является перспективным компонентом среды для наращивания НК-клеток *in vitro* с целью использования в клеточной иммунотерапии. В задачи работы входило изучение особенностей ответа НК-клеток на стимуляцию с использованием мембраносвязанного IL-21, экспрессируемого в НК-клеточных мишенях – клетках линии K562 (K562-mbIL-21).

Нами было показано, что использование именно клеток K562-mbIL-21 в комбинации с IL-2, но не растворимого IL-21 в комбинации с немодифицированными клетками K562 и IL-2, приводило к индукции экспрессии НК-клетками маркера активации HLA-DR. Полученные HLA-DR<sup>+</sup> НК-клетки характеризовались увеличенной продукцией IFN $\gamma$  и высокой пролиферативной активностью. При этом, на взаимодействие с K562-mbIL-21 лучше отвечали менее дифференцированные НК-клетки CD57<sup>-</sup>NKG2A<sup>+</sup>NKG2C<sup>-</sup>, доминировавшие в культуре после нескольких дней стимуляции IL-2/K562-mbIL-21. Таким образом, использование мембраносвязанных цитокинов индуцирует интенсивную

активацию НК-клеток за счет участия межклеточных взаимодействий, но лишь субпопуляций на определенной стадии развития и активации.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-15-00309.*

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПЕНТАГАСТРИНА И МОНОАМИНОВ В КОНТРОЛЕ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ**

Б.В. Журавлев<sup>1</sup>, Е.В. Борисова<sup>2</sup>, А.П. Безуглый<sup>3</sup>, Е.П. Муртазина<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, Москва

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии, Москва

\*e-mail: e.murtazina@nphys.ru

Экспериментальное исследование посвящено механизмам взаимодействия пентагастрина и моноаминов (норадреналина и дофамина) на уровне одиночных нейронов латерального гипоталамуса кроликов при мотивации голода и при насыщении. Химическая чувствительность нейронов латерального гипоталамуса голодных и сытых животных к пентагастрину и медиаторам, норадреналину и дофамину была исследована с использованием индексов, которые позволяют оценить структурно-функциональную организацию импульсный поток нервных клеток. Было продемонстрировано, что нейроны латерального гипоталамуса обладают различной химической чувствительностью в присутствии пищевой мотивации и во время удовлетворения соответствующей потребности. Микроионтофорез пентагастрина изменяет чувствительность клеток у голодных животных в более высокой степени к дофамину, чем к норадреналину, в отличие от противоположной картины у сытых животных. Предполагается, что пентагастрин является фактором, инициирующим пищевое мотивационное возбуждение, в то время как норадреналин поддерживает его на определенном уровне до получения полезного результата животным, когда дофаминергические механизмы, участвующие в процессе насыщения, присоединяются к норадренергическим. Кроме того показано, что введение альфа-1 и бета адреноблокаторов на фоне пентагастрина изменяет импульсную деятельность нейронов латерального гипоталамуса кроликов с характерного для голодного состояния паттерна на активность, характерную для пищевого насыщения. Таким образом можно полагать, что пентагастрин и моноамины оказывают взаимное модулирующие влияния на активность нейронов в зависимости от исходной пищевой мотивации и ее удовлетворения. Исследования нейрохимических механизмов взаимодействий пептидов и моноаминов в пищевом поведении могут способствовать пониманию регуляторных систем, участвующих в мотивационных возбуждениях и процессах насыщения, нарушение которых могут приводить к патологическим явлениям, например к гиперфагии или анорексии.

### **БЕЛКИ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ И КАТЕПСИН G В РЕГУЛЯЦИИ ГОМЕОСТАЗА И ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ В КИШЕЧНОМ ЭПИТЕЛИИ**

Т.С. Замолодчикова<sup>1\*</sup>, Е.В. Свирцевская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

\*e-mail: tatyana zam@yandex.ru

Белки клеточной адгезии играют роль в сохранении целостности кишечного эпителия и участвуют в регуляции эпителиальной функции, поддержании

тканевого гомеостаза и модуляции иммунного ответа. Кадгеринины - интегральные мембранные гликопротеины I типа, образуют межклеточные адгезионные контакты (Е-кадгерин) и десмосомы (десмоглеины (ДСГ)). Обладая сенсорными свойствами, кадгеринины способны воспринимать и транслировать клеточные сигналы. Сериновая протеаза нейтрофилов катепсин G (Кат G) участвует в регуляции иммунного ответа и может взаимодействовать с кадгеринами. Ранее мы показали, что Кат G синтезируется эпителиоцитами кишечных желёз - клетками Панета, секретирующими в просвет кишки бактерицидные факторы. С целью определения потенциальной возможности Кат G взаимодействовать с белками клеточной адгезии кишечного эпителия, мы провели иммунофлуоресцентное исследование биопсии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СОДПК) методом конфокальной микроскопии с использованием антител к ДСГ 1-3, Е-кадгерину и Кат G человека. Показано присутствие ДСГ 2 в области контакта базолатеральной мембраны эпителиоцитов кишечных ворсинок и кишечных желёз (крипт) с базальной мембраной. Связывание ДСГ 2-специфических антител наблюдали также в базальной области клеток Панета, там же регистрировали Кат G -специфическую флуоресценцию.

ДСГ 1 и ДСГ 3 не были обнаружены в исследуемых образцах. При воспалении (дуоденит) Кат G-позитивные гранулоциты присутствуют в составе инфильтрата, а свободные Кат G-содержащие гранулы различимы под базальной мембраной в верхушечной области ворсинки вблизи зоны локализации ДСГ 2. Участвующий в образовании десмосом ДСГ 2 может быть мишенью для нейтрофильных протеаз, в том числе и Кат G, при прохождении нейтрофилами эпителиального слоя. Связывание Е-кадгерин-специфических антител наблюдали вблизи базолатеральной мембраны энтероцитов и бокаловидных клеток, а также во внутриклеточном пространстве клеток Панета, что указывает на синтез этого белка клетками Панета и/или его возможную роль во внутриклеточной сигнализации. Известно, что Кат G способствует усилению межклеточных контактов, участвуя в образовании комплекса Е-кадгерин-катенин.

Таким образом, колокализация кадгерининов и Кат G в эпителии СОДПК свидетельствует о возможности их взаимодействия при участии в регуляции тканевого метаболизма, интеграции процессов внутри- и межклеточной сигнализации, модификации и поддержании барьерных свойств эпителия при развитии защитного и/или патологического процессов.

### **ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ПРЕДШЕСТВЕННИКА В НЕЙРОНАХ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ *Helix lucorum* L.**

И.С. Захаров\*, Д.В. Богуславский

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

\*e-mail: iszakharov@yandex.ru

В париетальных ганглиях виноградной улитки описаны две пары симметричных гигантских интернейронов, сходным образом участвующих в оборонительном поведении. Эти клетки имеют развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, свойственный секреторным клеткам. Ранее было обнаружено несколько препептидов, синтезируемых в гигантских интернейронах: FMRF, HCS2 и HCS1, - причем последний выявляется только в двух клетках - LPa3 и RPa3. Ранее была описана первичная структура гена HCS1, который кодирует белок длиной 100 аминокислот, содержащий N-концевой гидрофобный лидерный пептид. Предположительно продукт этого гена представляет собой секретиремый белок - нейропептид или фактор роста. Кроме LPa3 и RPa3 в церебральных ганглиях обнаружен относительно крупный симметричный нейрон MtC 6, в котором экспрессируется ген HCS1. Учитывая, что

у экспрессирующих ген HCS1 клеток LPa3 и PPa3 обнаружены некоторые особенности привыкания мембраны, мы провели детальное изучение экспрессии HCS1 при различных воздействиях. Мы выполнили гибридизацию *in situ* на пяти группах изолированной ЦНС виноградной улитки (по три в каждой). Первую (контрольную) группу инкубировали трое суток в физиологическом растворе, вторую и третью (опытные) в том же растворе, но с добавлением  $MgCl_2$ . На ЦНС третьей группы в течение десяти часов апплицировали серотонин (модель оборонительного поведения). Концентрация серотонина в физиологическом растворе была  $10^{-5}$  в течение 30 мин. Четвертая опытная группа повторяла третью, но ЦНС инкубировали в растворе без  $MgCl_2$ . Пятая опытная группа – представляла собой модель оборонительного поведения *in vivo*. В течение трех дней по два раза в день животным инъецировали серотонин по 100 мкл  $10^{-3}$  на 10 гр. веса (в среднем по 400 мкл).

В результате было показано, что в экспрессии гена HCS1 в командных нейронах прослеживается так называемая down-регуляция, когда ген слабо экспрессируется в отсутствие определенного типа поведения. Максимальная экспрессия HCS1 происходит лишь при оборонительном поведении или в состоянии его фармакологической имитации.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, №17-04-01827а, и программы Президиума РАН № 41 «Фундаментальные исследования для разработки медицинских технологий», раздел Государственного задания № 0108-2018-0008.*

### **ФУНКЦИИ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ УТРАЧИВАЮТ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НА ОТДАЛЕННОМ КРИТИЧЕСКОМ СРОКЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОПЕРФУЗИИ МОЗГА**

Е.И. Захарова<sup>1</sup> \*, З.И. Сторожева<sup>2</sup>, М.Ю. Монаков<sup>1</sup>, А.М. Дудченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, Москва

\*e-mail: zakharova-ei@yandex.ru

Одна из насущных проблем при ишемических поражениях мозга – это коррекция отдаленных когнитивных дисфункций. В условиях хронической гипоперфузии мозга (двухсторонняя перевязка сонных артерий, модель 2VO), у крыс на критическом сроке 6-7 дней (7д) проявляются нарушения обучения и памяти. Ранее мы показали, что холинергические синаптические связи, характерные для когнитивных функций в норме, на сроке 7д 2VO утрачиваются и возникают новые.

В тех же условиях мы исследовали дофаминергическую (ДА) синаптическую организацию функций обучения и памяти (мгновенная, рабочая и долговременная) на пространственной обстановочной модели обучения в водном лабиринте Морриса. Через 6-7 дней 2VO крыс начинали обучать и через 2-3 дня после окончания тренировок брали в нейрхимический эксперимент. В субфракциях синаптических мембран неокортекса и гиппокампа оценивали активность тирозингидроксилазы (ТГ) маркера ДА нейронов.

В контрольной группе (ложнооперированные) крысы были разделены на квартили по когнитивным способностям. В норме было выявлено как в неокортексе, так и в гиппокампе: преобладание негативных ДА влияний у крыс верхней квартили (самые способные) и позитивных у крыс нижней квартили (самые неспособные); противоположно направленные ДА влияния на функцию у крыс верхней и нижней квартилей, обусловленные различиями в мощности ДА влияний или организации функции.

На сроке 7д 2VO были нарушены все исследованные когнитивные функции, что выразилось в исчезновении крыс верхнего квартиля при выполнении всех функций, кроме рабочей памяти, и доминировании крыс нижнего квартиля. При этом ДА связи с функциями полностью исчезли, вероятно, в результате дегенерации или реорганизации синапсов.

Таким образом, выявлены особенности ДА влияний неокортекса и гиппокампа на функции обучения и памяти у крыс с разными когнитивными способностями в норме, равно как исчезновение этих влияний на сроке 7д 2VO. Данные подкрепляют гипотезу о нейрональной реорганизации когнитивных функций при хронической гипоперфузии мозга и актуальность поиска нейромедиаторных систем, поддерживающих когнитивные способности в патологических условиях.

### **ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ У ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

А.Б. Зюзина\*, А.Х. Винарская, П.М. Балабан

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

\*e-mail: lucky-a89@mail.ru

Ацетилирование гистонов представляет собой важный эпигенетический механизм, приводящий к изменению активности генов и влияющий на формирование памяти. В то время как роль ацетилирования широко исследована на позвоночных, значительно меньшее количество работ выполнено на беспозвоночных. В нашем исследовании мы изучили влияние ингибитора гистондеацетилаз бутирата натрия (БН) на консолидацию памяти у виноградной улитки.

Эксперименты проводились на взрослых улитках *Helix lucorum*. Мы оценивали сокращение задних щупалец в ответ на тактильную стимуляцию. В течение 10 дней животные обучались различать две обстановки: экспериментальную, в которой их били током (шар) и контрольную (плоское стекло). Перед обучением ответы на тактильное раздражение не различались в двух контекстах. После обучения (T1) амплитуды ответов в двух контекстах достоверно различались. Но это явление наблюдалось только среди "умных" улиток. Часть животных, подвергнутых электрошоку, не показала увеличения ответов на тактильную стимуляцию в контексте, где они получали удар током. Обычно такие животные удалялись из экспериментов. Мы решили проверить, окажет ли БН стимулирующее действие на обучение таких животных ("плохих учеников"). Эксперименты были проведены с использованием БН в низкой и высокой концентрациях. На следующий день после T1 часть плохо обучившихся улиток получила инъекцию БН в низкой концентрации за час до дополнительного обучения. Спустя 24 часа наблюдалось значительное увеличение ответов, что свидетельствует о влиянии БН на пластичность. Инъекция БН увеличенной концентрации была выполнена через 20-30 минут после T1, электрошок применен не был. Последующие тесты показали, что животные достоверно различают два контекста. Мы предположили, что обучение будет быстрее, если животным вводить БН каждый день при обучении. Животных обучали в течение пяти дней. БН в низкой концентрации вводили за 1 час до обучения. К концу эксперимента только одна улитка показала увеличение амплитуды оборонительного ответа.

Таким образом, гиперацетилирование гистонов, вызванное применением БН, усиливает слабую обстановочную память и не влияет на образование новой обстановочной памяти.

*Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01175 и 17-00-00216.*



## **ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ВКЛАД АМПА-РЕЦЕПТОРОВ В ПРОВОДИМОСТЬ СИНАПСОВ НА АПИКАЛЬНЫХ И БАЗАЛЬНЫХ ДЕНДРИТАХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА**

В.О. Иванова, Н.В. Баль, П.М. Балабан

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

e-mail: 4340434@gmail.com

АМПА-рецепторы – это ионотропные рецепторы глутамата, которые обеспечивают основную возбуждающую проводимость синапсов в головном мозге. Они могут состоять из субъединиц 4 типов: GluR1, GluR2, GluR3 и GluR4. У взрослых животных практически вся мРНК GluR2 субъединицы в мозге подвергается редактированию, что приводит к замене нейтральной аминокислоты глутамина на положительно заряженный аргинин. Такая замена изменяет электрофизиологические свойства GluR2-содержащих АМПА-рецепторов (GluR2+). GluR2+ и GluR2- АМПА-рецепторы играют разные роли в механизмах пластичности, развития, патологий и их концентрация в зрелых нейронах меняется.

С помощью иммуноцитохимических и молекулярно-биологических методов было показано, что оксид азота, участник множества клеточных каскадов, задействован и в механизмах встраивания обоих типов АМПА-каналов. Чтобы исследовать влияние оксида азота на распределение АМПА-рецепторов в разных дендритах пирамидных нейронов гиппокампа, мы провели электрофизиологические эксперименты на срезах мозга мышей возрастом 25-40 дней. Для регистрации токов мы использовали метод пэтч-клэмп в режиме «целая клетка» в нейронах поля CA1 гиппокампа. Мы вызывали ответы с помощью стимулирующих электродов, расположенных в st. radiatum и st. oriens. В качестве экстраклеточного раствора мы использовали стандартный раствор ACSF, в качестве внутриклеточного – вещество на основе Cs<sup>2+</sup>: Cs-gluconate, 110; CsCl, 30; NEPES, 10; NaCl, 8; MgATP, 4; Na<sub>2</sub>GTP, 0.3; phosphocreatine, 10; spermine, 0.01, pH 7.3. Мы обнаружили, что вклад GluR2<sup>-</sup> АМПА рецепторов в токи апикальных дендритов регистрируемой клетки значимо больше, чем вклад на базальных дендритах. При блокаде синтеза оксида азота эта разница нивелируется за счет изменения показателя вклада на апикальных дендритах. Мы полагаем, что это происходит за счет того, что в апикальные дендриты встраиваются дополнительные GluR2<sup>+</sup> каналы, так как путем регистрации АМПА/НМДА соотношения мы обнаружили, что при блокаде синтеза оксида азота вклад токов АМПА каналов имеет тенденцию увеличиваться по сравнению с контролем.

*Работа поддержана Российской Академией наук, грантом РФФ 14-25-00072.*

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ С ОБЩИМ СТРУКТУРНЫМ ЯДРОМ**

В.П. Иванова

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

e-mail: valet@iephb.ru

Проведен сравнительный анализ биологической активности коротких пептидов GER (ТрП) и GERA (ТП). Изучали влияние пептидов на адгезию и жирнокислотный состав фосфолипидов клеток линии CHO-K1. Для оценки клеточного адгезивного ответа пептиды в концентрации от 10<sup>-10</sup> до 10<sup>-5</sup> М вносили в клеточную суспензию. Клетки (10<sup>6</sup> кл./мл) переносили в 96-луночные планшеты и инкубировали 1 ч при 37° С. Прикрепившиеся клетки окрашивали кристаллическим фиолетовым. Для определения жирнокислотного состава

клеточных мембран за 24 ч до снятия клеток в среду культивирования вносили пептиды ( $10^{-7}$  М). Липиды экстрагировали по методу Фолча. Фосфолипиды разделяли на фракции методом двумерной ТСХ. Состав метиловых эфиров жирных кислот определяли методом ГЖХ. Установлено, что оба пептида участвуют в регуляции адгезии и модификации жирнокислотного состава мембранных фосфолипидов. Пептиды стимулируют клеточную адгезию, при этом ТрП проявлял активность при всех исследованных концентрациях, а ТП – только при  $10^{-10}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  М. Обработка клеток пептидами приводила к изменению спектра ненасыщенных жирных кислот в составе основных классов фосфолипидов. При этом пептиды по-разному регулировали этот процесс. ТрП стимулировал включение полиеновых кислот, но ингибировал включение моноеновых кислот в состав фосфолипидов. ТП, наоборот, способствовал уменьшению доли полиеновых кислот и увеличению содержания моноеновых кислот у фосфолипидов клеточных мембран. Это означает, что исследованные пептиды, изменяя состав жирных кислот мембранных фосфолипидов, могут регулировать степень жидкости клеточных мембран, обеспечивая оптимальные условия для проведения сигнала в клетку.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (№ государственной регистрации АААА-А18-118012290371-3).*

### **УЧАСТИЕ МОДУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ БАЗАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ В ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

Д.А. Ивлиев, Н.Ю. Ивлиева\*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

\*e-mail: nivlieva@mail.ru

На настоящий момент нет сомнений в большом значении базальных ганглиев в механизме инструментального условного рефлекса. Однако конкретная роль каждой отдельной структуры, а также причастных модуляторных нейрхимических систем является предметом горячих споров.

Мы исследовали активность нейронов дофаминергической структуры - вентральной области покрышки среднего мозга (ВОП) - и холинергического базального переднего мозга (БПМ) при выполнении крысой довольно сложного, но близкого к естественному поведенческому репертуару животного, пищедобывательного движения. Выявлена максимальная суммарная активность нейронов ВОП на стадии инициации движения, не связанная с успешностью последующего движения, а также существенное снижение активности у большинства зарегистрированных клеток перед критическими фазами движения. Среди нейронов БПМ выявлена группа клеток, демонстрирующая активацию в критическую фазу пищедобывательного движения, амплитуда которой предсказывает результативность этого движения. Также в обеих исследованных структурах выявлены клетки, проявляющие различия в активности в период после движения в успешных и неуспешных попытках доставания пищи.

Мы предлагаем гипотетическую модель взаимодействия этих структур в процессе формирования и реализации инструментального движения. Это взаимодействие рассмотрено в свете современных анатомо-морфологических данных об их взаимных связях, а также в контексте ключевых обсуждающихся на данный момент представлений о функциях холинергической и ГАМК-ергической систем БМП и дофаминергической системы среднего мозга.

## УРОВЕНЬ МАТЕРИНСКОГО СЕРТОНИНА НА ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ИМЕЕТ РЕШАЮЩЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ТРЕВОЖНОГО И ДЕПРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ПОТОМСТВА

Т.С. Калинина<sup>1,2\*</sup>, Н. В. Кудряшов<sup>1,2,3</sup>, В.И. Мельникова<sup>2</sup>, А.А. Куршин<sup>1</sup>,  
О.А. Харченко<sup>2</sup>, К.К. Сухинич<sup>2</sup>, Е.Г. Ивашкин<sup>2</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова, Москва

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

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

\*e-mail: tatianakalinina@mail.ru

Доклинические и клинические исследования показали, что серотонин (5-НТ) связан с этиологией различных нейropsychиатрических расстройств, включая депрессию, генерализованные тревожные расстройства, шизофрению, посттравматический синдром, алкоголизм, синдром дефицита внимания и гиперактивности и болезнь Альцгеймера. Есть свидетельства того, что проявление поведенческих нарушений, сопутствующих перечисленным расстройствам, зависит от уровня 5-НТ в период формирования мозга. Однако показано, что ферменты синтеза серотонина, транспортеры и рецепторы присутствуют в репродуктивной системе матери, а также в развивающемся эмбрионе задолго до появления первых нервных элементов. Наши недавние результаты показали, что повышенный уровень 5-НТ на стадиях раннего дробления и бластулы модулирует проявление серотонин-зависимых поведенческих программ у потомков модельного пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis*. Высокий консерватизм, свойственный компонентам серотонинергической системы, позволяет предположить наличие подобных механизмов в развитии млекопитающих.

Мы использовали известную модель для увеличения уровня 5-НТ в материнском организме путем перорального введения предшественника серотонина - 5-гидрокситриптофана (5-НТР) в течение пяти дней до имплантации зародыша у мышей линии Balb/c и CBA. Иммуногистохимическое маркирование и измерения ВЭЖХ подтвердили увеличение содержания 5-НТ в тканях яичника, яйцевода и матки обработанных мышей в 2-7 раз. Поведенческие эксперименты проводились на самцах и самках 1, 2 и 3 месячного возраста. Мы использовали тесты «открытое поле», «черно-белая камера» и «закапывание шариков» для анализа тревожности и страха, а также процедуру принудительного плавания для оценки депрессивного поведения. Потомство мышей, получавших 5-НТР на ранних сроках беременности, продемонстрировало статистически значимое снижение тревожных ответов, начиная с 1 месяца до 3х месячного возраста (молодые половозрелые животные). Кроме того, введение 5-НТР на предимплантационных стадиях развития ослабляло депрессивные реакции и усиливало защитное стереотипное поведение у 1-месячного потомства. Степень проявления наблюдаемых поведенческих изменений различалась в зависимости от линии мышей и пола потомства.

Сходство в наблюдаемых последствиях изменения уровня серотонина на самых ранних, донервных стадиях развития у беспозвоночных и позвоночных животных позволяет предположить высокую консервативность механизмов, вовлеченных в долговременные отложенные эффекты серотонина. Мы обнаружили, что трансклутаминаз-опосредованное серотонилирование белков на ранних стадиях развития участвует в модуляции поведения потомков у пресноводных моллюсков. Это позволяет нам предположить, что аналогичный механизм задействован и на ранних стадиях развития млекопитающих.

Работа выполнена в рамках ГЗ № 0108-2018-0002 и гранта РФФИ № 17-14-01353.

## **ОЦЕНКА ВКЛАДА мРНК ИЗ НЕРЕЗИДЕНТНЫХ КЛЕТОК В ОБЩИЙ ПУЛ мРНК ЦИТОКИНОВ ГИППОКАМПА И ОБОЛОЧЕК ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ**

А.А. Квичанский\*, М.В. Волобуева, Ю.С. Спивак, А.П. Большаков  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
\*e-mail: al.kvichans@gmail.com

Цитокины – группа небольших белков, секретируемых клетками иммунной системы а также различными неиммунными клетками, в частности, нейроглией, эндотелием и нейронами. В ЦНС они регулируют процессы нейровоспаления, синаптической пластичности, пролиферации, миграции и дифференцировки клеток. Эти белки могут быть синтезированы резидентными клетками ЦНС, клетками в просвете кровеносных сосудов или приходиться с кровотоком. Принято считать что, одним из важных источников цитокинов в локальном кровотоке мозга могут быть клетки иммунной системы, находящиеся в паренхиме оболочек головного мозга. Соотношение количества эндо- и экзо-генных цитокинов в ЦНС является малоизученным в настоящее время.

В данной работе для устранения иммунных клеток, присутствующих в крови, крыс транскардиально перфузировали холодным физиологическим раствором. На холоду быстро препарировали твердую оболочку головного мозга, совместно мягкую и паутинную оболочки, прилежащие к коре и гиппокампу, сосудистое сплетение IV желудочка, гиппокамп, отбирали образец крови из предсердия. Выделяли РНК из образцов и оценивали относительное количество мРНК генов провоспалительных цитокинов Il1b, Il6, Tnf, и противовоспалительных цитокинов Tgfb1и Il10, относительно генов Ywhaz и Hprt1. Для оценки качества перфузии использовали мРНК Alas2 (маркера эритроцитов).

Было выявлено снижение относительной представленности мРНК Il1b и Il6 в твердой оболочке и Tnf в гиппокампе крыс под действием перфузии. Представленность Tgfb1 не изменилась. Относительное количество мРНК Il10 в гиппокампе оказалось ниже порога детекции метода, а в оболочках представленность оказалась недостаточной для количественного анализа. Перфузия не повлияла на относительную представленность мРНК изучаемых генов в мягкой и паутинной оболочках, а также в сосудистом сплетении.

Мы предполагаем, что нерезидентные клетки вносят существенный вклад в экспрессию Il1b и Il6 в твердой оболочке и Tnf в гиппокампе. Кроме того, в мягкой и паутинной оболочках и в сосудистом сплетении нерезидентные клетки не вносят существенного вклада в продукцию цитокинов.

*Поддержано грантом РФФИ № 18-015-00314*

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ГЛАЗА И ВЕКА У МЫШЕЙ НА МОДЕЛЯХ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

А.Р. Ким<sup>1</sup>\*, Т.А. Павленко<sup>2</sup>, Н.Б. Чеснокова<sup>2</sup>, М.В. Угрюмов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца, Москва

\*e-mail: alexandrrkim@gmail.com

Поиск периферических маркеров в виде изменений немоторных функций для разработки ранней диагностики болезни Паркинсона (БП) является одним из приоритетов неврологии. Поскольку при БП нарушается зрительная функция в результате нарушения метаболизма моноаминов и соответствующей нейротрансмиссии, целью нашей работы был поиск биохимических изменений в тканях глаза и века у мышей на разработанных в нашей лаборатории

нейротоксических моделях доклинической (досимптомной) и ранней клинической (симптомной) стадии БП. Содержание моноаминов и метаболитов в тканях измеряли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Кроме того, у животных измеряли внутриглазное давление. Нами было обнаружено снижение содержания норадреналина, дофамина и серотонина в тканях глаза на моделях доклинической и ранней клинической стадий БП, причем на модели ранней клинической стадии эти изменения были выражены в большей степени. В отличие от моноаминов, концентрация L-ДОФА была снижена только на модели клинической стадии БП. В тканях века мы обнаружили повышение содержания серотонина на обеих моделях, причем на модели доклинической стадии в большей степени, чем на модели клинической стадии. В отличие от серотонина, содержание в веках дофамина и предшественника серотонина – 5-ГТФ, у мышей на обеих моделях БП не отличалось от контроля. Кроме того, у мышей на моделях обеих стадиях БП было зарегистрировано повышение внутриглазного давления, что указывает на возникновение не только метаболических, но и функциональных нарушений, которые, вероятно, могут быть использованы как диагностические маркеры.

Таким образом, нами обнаружены биохимические и физиологические изменения в глазу у мышей на моделях доклинической и клинической стадий БП, что в перспективе может быть использовано для разработки ранней (доклинической) диагностики.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» на 2018-2020 гг. № 0108-2018-0014*

### **ВЛИЯНИЕ НОРАДРЕНАЛИНА НА ПАРАМЕТРЫ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ МЫШИ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ СТИМУЛЯЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОГО НЕРВА**

И.В. Ковязина\*, А.Н. Ценцевицкий

*Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр РАН", Казань*

\*e-mail: irina.kovyazina@list.ru

Известно, что катехоламины, в частности, норадреналин (НА), оказывают влияние на функционирование нервно-мышечного аппарата позвоночных, в том числе и на передачу возбуждения через синапс. Поскольку в нормальных физиологических условиях нервно-мышечный синапс функционирует в режиме высокочастотной активности, целью данной работы было изучить влияние НА на параметры постсинаптических ответов, вызванных стимуляцией двигательного нерва различной частоты (10, 20, 50 и 70 имп/с).

Эксперименты проводили на изолированном нервно-мышечном препарате диафрагмальной мышцы мыши путем внутриклеточной регистрации потенциалов концевой пластинки (ПКП). При физиологическом уровне ионов кальция в среде (2.0 мМ) мышечные сокращения блокировали путем инактивации натриевых каналов мышечного типа  $\mu$ -конотоксином GIIIB (2 мкМ).

Известно, что высокочастотная стимуляция двигательного нерва приводит к падению амплитуд последовательных ПКП в пачке импульсов (синаптической депрессии) и увеличению длительности фазы роста сигналов. Показано, что в присутствии НА (10 мкМ) синаптическая депрессия была сильнее по сравнению с интактными препаратами, а выраженность депрессии зависела от частоты стимуляции нерва. Так, в контроле при стимуляции нерва с частотой 70 имп/с (когда эффект был наиболее выражен) амплитуда 20-го ПКП в пачке падала до  $63.5 \pm 1.4\%$  от амплитуды первого сигнала, а в присутствии НА - до  $55.0 \pm 1.5\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n = 40$ ). При этом, длительность переднего фронта ПКП в условиях

ритмической активности изменялась в одинаковой степени в интактных препаратах и в присутствии НА: для частоты стимуляции 70 имп/с к 20-му ПКП увеличение длительности фазы роста ПКП составило  $20.2 \pm 3.4\%$  и  $22.1 \pm 2.6\%$ , соответственно.

Таким образом, НА оказывал более выраженное действие на синаптическую депрессию при высоких частотах стимуляции двигательного нерва (50 и 70 Гц).

*Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ № 18-15-00046.*

## **ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА НА РЕЦЕПТОРОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И МИОКАРДА**

Л.М. Кожевникова, И.Ф. Суханова

*Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва*

*\*e-mail: lubovmih@yandex.ru*

В современном обществе возраст является основным фактором риска развития неврологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Однако механизмы влияния возраста на их развитие до сих пор не понятны. Сложность решения данной медицинской проблемы заключается в том, что старение является естественным процессом угасания биологических функций на уровне всех систем и органов. Цель исследования: изучение влияния возраста на функциональную активность и экспрессию рецепторных и регуляторных белков, участвующих в регуляции сократимости и ремоделировании сосудов и миокарда. Объектом исследований были рецепторы для ангиотензина II (AT1AR), катехоламинов (AR), эндотелина-1 (ETAR), вазопрессина (V1AR) и серотонина (5HT2AR). Оценивали экспрессию белков Ерас и кальмодулина (CaM). Исследования проводили на беспородных крысах-самцах в возрасте 4, 12, 24 и 30 месяцев. Силу сокращения изолированных фрагментов грудного отдела аорты измеряли в изометрическом режиме. Выделение РНК из тканей сердца и аорты проводили с помощью набора GeneJET™, синтез кДНК - используя набор RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit («Thermo Fisher Scientific», США), ПЦР-ПВ проводили с помощью набора qPCRmix-HS («Евроген», Россия), используя праймеры и флуоресцентные зонды («ДНК-синтез», Россия), согласно протоколам производителей.

Установлено, что в процессе старения у крыс (12, 24 мес) повышается чувствительность сосудов к вазоконстрикторному действию серотонина, что обусловлено высоким уровнем экспрессии 5HT2AR. Уровень мРНК 5HT2AR в аорте стареющих крыс был 2-2,5 раза выше по сравнению с аналогичными величинами у молодых животных. Выявлено, что в аорте старых крыс (24 и 30-ти месяцев) в 3 раза выше уровень экспрессии V1A-R, в 1,5 (24 мес) и 9,0 раз (30-ти мес) –  $\alpha_1$ -AR. У крыс-долгожителей в аорте содержание мРНК Ерас1 и Ерас2 соответственно в 4,2 и в 2,4 раза выше, чем в сосудах молодых крыс. Выявлено, что показателем старения сосудов является снижение на 50-40 % экспрессии генов ETAR. Значительные изменения обнаружены и в сердце крыс. В процессе старения в предсердиях и левом желудочке крыс повышается экспрессия генов, причастных к ремоделированию миокарда, таких как,  $\beta$ -AR, V1A-R и ETAR. Выявленная гиперэкспрессия белков Ерас2 и CaM свидетельствует о высокой степени риска развития аритмий в процессе старения организма. Таким образом, при старении в сосудах и сердце значительно изменяется уровень экспрессии рецепторных и регуляторных белков, что может быть одним из механизмов развития заболеваний, ассоциированных с возрастом.

*Работа выполнена в рамках темы госзадания № АААА-А18-118051490149-5.*

## **ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БЕЛКА ИНДУЦИРУЮТ КАК НАРУШЕНИЕ ПАМЯТИ, ТАК И ЕЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ**

С.А. Козырев<sup>1</sup>, С.В. Солнцева<sup>2</sup>, В.П. Никитин<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии

им. В.П. Сербского, Москва

\*e-mail: nikitin.vp@mail.ru

Во многих исследованиях показано, что нарушенная память может быть восстановлена в результате назначения амнезировавшим животным напоминания, а так же применения психостимулирующих препаратов. Предполагается, что экспрессия памяти является следствием ее усиления или снятия блокады воспроизведения. Эти процессы вовлекают каскады молекулярных событий в нейронах, включая активацию синтеза белков. Недавно были получены экспериментальные факты, которые противоречат описанным представлениям о возможных механизмах, приводящих к восстановлению памяти. В частности, обнаружено, что ингибиторы синтеза белка способны как нарушать память, так и индуцировать ее восстановление. Очевидное противоречие концепций о возможных механизмах нарушения и восстановления памяти побудило нас исследовать на виноградных улитках, обученных условной пищевой аверсии, влияние ингибиторов синтеза белка на механизмы реконсолидации памяти, а также эффекты их повторного применения перед напоминанием у амнезировавших животных. Обнаружено, что инъекции обученным животным ингибитора синтеза белка циклогексимида перед напоминанием условным стимулом вызвали развитие амнезии. Через 3 дня после индукции амнезии повторные инъекции животным циклогексимида или другого ингибитора синтеза белка анизомицина, сочетанные с напоминанием приводили к воспроизведению памяти, сохранявшемуся 2 дня. Изолированное действие напоминания или инъекции ингибитора без напоминания были не эффективны. Предполагается, что амнезия является активным процессом и предъявление напоминания может приводить к зависимой от синтеза белков реактивации процессов амнезии и их трансформации в лабильное состояние. Назначение ингибиторов синтеза белков перед напоминанием вызывает нарушение процессов реактивации амнезии и восстановление состояния, сформированного до индукции амнезии, то есть восстановление памяти условной пищевой аверсии.

## **СИНТЕЗ ДОФАМИНА В ПЕРИОД ГИБЕЛИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ НИГРОСТРИАТНОЙ СИСТЕМЕ, ИНДУЦИРОВАННОЙ МФТП**

А.А. Колачева\*, М.В. Угрюмов

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

\*e-mail: annakolacheva@gmail.com

Скорость синтеза дофамина является одним из определяющих факторов содержания этого нейротрансмиттера в дофаминергических (ДА-ергических) нейронах мозга. Целью исследования была оценка синтеза дофамина, как потенциального компенсаторного механизма в выживших ДА-ергических нейронах при развитии нейродегенеративного процесса в нигростриатной системе у мышей.

Нейродегенерацию нигростриатной системы запускали четырехкратным введением специфического токсина ДА-ергических нейронов (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина, МФТП) с интервалом 2 ч в дозе 12 мг/кг.

Показано, что дегенерация тел ДА-ергических нейронов (ИГХ) в черной субстанции (ЧС) начиналась через 4 ч после последней инъекции МФТП и

продолжалась в течение 2х ч. Уровень дофамина (ВЭЖХ), сниженный через 3 и 6 ч на 75% после последней инъекции МФТП, частично восстанавливался к 12 и 24 ч и составлял 72%. Содержание ТГ (Вестер блот) в ЧС сохранялось на уровне контроля в первые 6 ч после последней инъекции МФТП с дальнейшим снижением на 47% к 24 ч. При этом активность фермента (ВЭЖХ), сниженная на 50% и 70% через 3 и 6 ч, частично восстанавливалась к 24 ч, составляя 80%.

В стриатуме было обнаружено, что количество терминалей DA-ергических аксонов уже снижено после 2х инъекций МФТП и продолжало снижаться до 6 ч после четвертой инъекции нейротоксина, составляя 60%. Концентрация дофамина составляла 10% на всем периоде исследования, в то время как содержание ТГ сохранялось на уровне контроля до 6 ч после последней инъекции МФТП с дальнейшим снижением до 34% к 24 ч. Активность фермента была снижена на 95% в первые 6 ч, что, вероятно, и является причиной значительного снижения концентрации дофамина в стриатуме. Однако дальнейшее восстановление активности ТГ до 30% не приводило к изменению уровня дофамина.

Таким образом, показано, отсутствие корреляции между содержанием и активностью ТГ при развитии нейродегенеративного процесса в нигростриатной системе, при этом активность фермента и содержание дофамина имеют однонаправленные изменения только на уровне ЧС, но не на уровне стриатума, что, скорей всего связано с включением других компенсаторных механизмов.

*Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых 2017-2018 гг. МК-2361.2017.4.*

## **ПРОТИВОСПАЕЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАЗНОЗАРЯЖЕННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ**

М.В. Коновалова<sup>1</sup> \*, Б.Ц. Шагдарова<sup>2</sup>, Е.В. Свирщевская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

<sup>2</sup> *Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН, Москва*

\*e-mail: mariya.v.konovalova@gmail.com

Одним из основных осложнений при оперативном вмешательстве в брюшной полости является формирование спаек. Основную роль в процессе спайкообразования играет перитонеальный фибринолиз. В ответ на повреждение развивается воспалительная реакция с вовлечением клеток мезотелия и макрофагов, высвобождением медиаторов воспаления и увеличением оборота белков экстрацеллюлярного матрикса. Нормальный фибринолиз тормозит развитие спаек в течение 72 ч. При недостаточной активности фибринолиза формируется каркас из слоя мезотелиальных клеток, что приводит к реэпителизации и образованию спаек. Фибринолиз происходит под действием фермента плазмина, конвертируемого в активную форму тканевым активатором плазминогена (t-PA). Ингибиторы активаторов плазминогена (PAI) образуют неактивные комплексы с t-PA. Критическим периодом являются первые 5-7 дней после травмы. Целью исследования являлся анализ противовоспалительной активности разнозаряженных полисахаридов крабового хитозана и пектина яблочного. Предварительный скрининг *in vitro* показал, что биополимеры имеют низкую цитотоксичность, не вызывают гемолиза эритроцитов, в слабой степени адсорбируют белки сыворотки крови, вызывают низкую адгезию макрофагов к поверхности, не активируют систему комплемента. Противоспаечную активность биополимеров *in vivo* оценивали на модели спаечного процесса, вызванного механическим повреждением участков слепой кишки и прилегающей брюшной



стенки у мышей. Показали, что гель на основе пектина подавляет спайкообразование, а гель на основе хитозана его стимулирует. Гистологический анализ поврежденных участков показал, что через 7 суток после введения гелей полисахаридов наблюдаются остатки биоматериалов, включенных в состав грануляционной ткани, что свидетельствует об активном разрушении обоих образцов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что при введении отрицательно заряженного полисахарида (пектина) наблюдается снижение спайкообразования. И, наоборот, при введении в брюшную полость положительно заряженного полимера (хитозана) усиливается спайкообразование.

*Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект №17-34-80027).*

### **СОСУДИСТО-НЕЙРОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ВНУТРИМОЗГОВОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ**

Е.В. Коплик<sup>1</sup>, Л.А. Ключева<sup>2</sup> К.А. Васянина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

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

e-mail: moloko1978@gmail.com

Целью настоящей работы явилось исследование структурно-функциональной организации нейронов и сосудов сенсомоторной коры мозга крыс в условиях моделирования внутримозгового кровоизлияния. Эксперимент проведен на 24 крысах-самцах Вистар высоко- и низкоактивных по поведенческим показателям в тесте «Открытое поле». Ранее было показано, что активные крысы более устойчивы к стрессорным воздействиям по сравнению с пассивными особями. Внутримозговую гематому формировали путем введения в область хвостатого ядра левого полушария головного мозга крыс 60 мкл аутокрови под хлоралгидратным наркозом (400 мг/кг массы тела). На 1-е сутки эксперимента у крыс гистологическими методами изучена морфология сенсомоторной коры головного мозга контралатеральной очагу поражения (окраска гематоксилин-эозин).

Выявлено, что у поведенчески активных крыс в одних микроучастках коры артериолы были сужены и лишены просвета, наблюдался умеренно выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек. Определялись резко гиперхромные и палочковидные нейроны. В других участках наблюдалась венозная гиперемия: венулы были неравномерно расширены, отмечалась агрегация эритроцитов, периваскулярный отек. У пассивных крыс в сенсомоторной коре выявлена деформация сосудов с колбовидными расширениями по ходу и гемостазом в просвете. Обнаружено истончение и частичная деструкция сосудистой стенки, выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек. В контрольной группе крыс (ложная операция) морфология коры не отличалась от нормальной.

Таким образом, формирование гематомы в области левого хвостатого ядра головного мозга крыс приводит к появлению морфологических изменений в сенсомоторной коре правого полушария, что особенно выражено у пассивных крыс. Появление симптомов, обусловленных изменениями в зонах мозга, отдаленных от места локализации первичного очага поражения можно связать с феноменом нейропластичности. Результаты нашего исследования позволяют предполагать, что симптоматика, связанная с такими проявлениями нейропластичности, будет более выражена у крыс с низкой поведенческой активностью.

## **ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ АФФЕРЕНТАЦИИ НА АКТИВАЦИЮ НЕЙРОНОВ, ВЫЗВАННУЮ ОБОРОНИТЕЛЬНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ У ПТЕНЦОВ МУХОЛОВКИ-ПЕСТРУШКИ**

Е.В. Корнеева<sup>1</sup>\*, А.А. Тиунова<sup>2</sup>, Л.И. Александров<sup>1</sup>, Т.Б. Голубева<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

\*e-mail: eko.ihna@mail.ru

В последние дни эмбрионального периода птиц голова эмбриона повернута таким образом, что свет может свободно попадать только в правый глаз. При естественном развитии птенцов асимметричная световая стимуляция оказывает влияние на нейроанатомическое развитие зрительных проекций правого и левого глаза, в результате чего наблюдаются различия в их формировании. Инкубирование и вылупление птенцов в темноте исключает асимметричную зрительную афферентацию. Задача исследования: установить, влияет ли изменение пренатальной зрительной афферентации на активацию нейронов в период сформированного предметного зрения птенцов. Исследование проведено на модели оборонительного поведения. Для картирования активации нейронов был использован метод иммуногистохимической детекции раннего гена c-Fos. Оборонительно поведение исследовали у птенцов, инкубирование и вылупление которых проходило (1) в условиях естественного светового режима и (2) в темноте. Чтобы определить вклад зрительной афферентации в активацию нейронов при оборонительном поведении у половины птенцов в возрасте 9 суток в каждой группе за 3 часа до начала эксперимента глаза заклеивали светонепроницаемыми колпачками. Во время эксперимента всем птенцам предъявляли в течение 15 минут видоспецифический звуковой сигнал тревоги, вызывающий затаивание. Количественную оценку плотности иммунопозитивных нейронов проводили в каудомедиальном мезопаллиуме, связанном как со слуховой, так и со зрительной афферентацией. Исследования показали, что у незрячих птенцов из группы естественного светового режима наблюдалось снижение индукции c-Fos в правом полушарии, в то время как у незрячих птенцов из группы развивавшихся в темноте индукция c-Fos в обоих полушариях не имела значимых различий. Полученные данные позволяют предполагать, что изменение характера пренатальной световой стимуляции меняет популяции нейронов, вовлекаемых в оборонительное поведение птенцов со сформированным предметным зрением.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №17-06-00404).*

## **НЕЙРОХИМИЧЕСКАЯ СРЕДА ОПРЕДЕЛЯЕТ ЛОКОМОТОРНУЮ ПРОГРАММУ МОЛЛЮСКА *CLIONE LIMACINA***

Т.А. Коршунова\*, И.С. Захаров

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

\*e-mail: korshun\_tanya@mail.ru

*Clione limacina* морской пелагический моллюск, плавающий благодаря ритмическим движениям "крыльев". В зависимости от характера локомоторной активности, выделяют три типа поведенческих состояний *Clione*: пассивное погружение, медленное (фоновое) и быстрое (возбужденное) плавание. Ранее была подробно описана нейронная сеть (CPG), управляющая локомоцией *Clione* и было показано, что инъекции серотонина (5-HT) ускоряют плавание, а инъекции дофамина (DA), напротив, тормозят плавание. Мы тестировали гипотезу, согласно которой локомоторный паттерн CPG *Clione* определяется балансом 5-HT и DA.

Изолированная ЦНС *Clione* способна генерировать плавательный ритм. Были подобраны концентрации, при которых добавление 5-HT (15-60  $\mu\text{M}$ ) в омывающий изолированную ЦНС *Clione* раствор, ускоряет "фиктивное плавание", а DA (60-260  $\mu\text{M}$ ) замедляет и останавливает генерацию плавательного ритма. Увеличение концентрации нейромедиатора усиливало эффект. Результат совместного добавления 5-HT и DA в омывающий раствор зависел от начальной частоты ритма и сочетания концентраций нейротрансмиттеров: воздействие 5-HT (60  $\mu\text{M}$ ) вместе с DA, приводило к быстрому плаванию, а сочетание высокой концентрации DA (260  $\mu\text{M}$ ) при низкой 5-HT (15  $\mu\text{M}$ ) замедляло плавание. Было исследовано действие 5-HT и DA на нейроны плавательного CPG *Clione*. Получено, что реализация локомоторной программы осуществляется не только как ускорение/замедление ритмических разрядов нейронов, но и за счет вовлечения (синхронизации)/рассинхронизации элементов CPG. Переход между локомоторными программами CPG *Clione*, а также стабильность генерации ритма опосредованы балансом концентраций 5-HT и DA. Регуляция осуществляется посредством того, что 5-HT не только возбуждает, но и "вовлекает", а также синхронизирует нейроны, генерирующие плавательный ритм; DA замедляет, рассинхронизирует и "индивидуализирует" нейроны. Показан механизм при котором нейрохимическая среда регулирует локомоцию, "переключая" и стабилизируя CPG для реализации определенного локомоторного ритма (поведенческого состояния).

*Поддержано грантом РФФИ №17-04-01827а. Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0002.*

### **АМПЛИТУДНЫЙ АНАЛИЗ АУДИОГЕННОГО ЭПИЛЕПТИФОРМНОГО ПРИПАДКА КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ**

С.А. Кривоपालов<sup>1,2</sup> \*, Б.Г. Юшков<sup>1,2,3</sup>

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

<sup>2</sup> Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург

<sup>3</sup> Центр организации специализированных видов медицинской помощи Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург

\*e-mail: s.krivopalov@gmail.com

Аудиогенный судорожный припадок, как и другие виды рефлекторных пароксизмов, представляет особый интерес в вопросе изучения физиологии сигнальных систем. В первую очередь это связано с тем, что припадки не возникают самопроизвольно (без характерного звукового стимула), а во-вторую – с тем, что предрасположенность к ним наследуется.

Одной из самых изученных моделей врожденной аудиогенной эпилепсии являются крысы Крушинского-Молодкиной (КМ). В ответ на звуковой сигнал у них развивается припадок, сопровождающийся интенсивной мышечной работой (безудержный бег, миоклонические судороги с падением на бок). По этой причине, регистрация электрической активности мозга во время припадка традиционно производится на обездвиженном животном (фармакологически и/или физически), что не позволяет сопоставить внешнее проявление припадка с регистрируемой ЭЭГ, а также искажает течение самого припадка.

С целью получения более точных данных о волновой активности мозга во время аудиогенного приступа самкам крыс КМ была сделана стереотаксическая операция и установлены электроды во вторичную слуховую кору (AuD), каудальные бугры четверохолмия (Ic), первичную моторную кору (M1), околотоводопроводное серое вещество (PAG), оральную часть ретикулярного ядра моста (PnO).

Данные амплитудного анализа ЭЭГ, полученные беспроводным методом (в условиях свободного перемещения животного, без применения фармакологических средств) через 2 недели после операции, свидетельствуют об асинхронных изменениях амплитуды в разных отведениях: структурами, которые первыми реагирует на звуковой раздражитель, являются каудальные бугры четверохолмия, что проявляется повышением амплитуды уже в латентном периоде. В остальных отведениях, кроме слуховой коры, увеличение амплитуды относительно фона наблюдается только на стадии локомоторного возбуждения. Дальнейшее развитие судорожной части припадка (фаза клонико-тонических судорог) сопровождается резким снижением амплитуды по всем отведениям.

Постиктальный период припадка характеризуется наступлением восстановления дыхания и постепенным ростом амплитуды по всем отведениям, кроме моторной коры. Приступ завершается переходом животного в каталептоидное состояние, которое характеризуется пониженным значением амплитуды по сравнению с фоновой записью.

### **ТРАНСФОРМАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНО РЕГИСТРИРУЕМЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ ИНТАКТНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ ПЕРИИНФАРКТНОЙ ЗОНЫ СЕРДЦА КРЫСЫ**

И.В. Кубасов<sup>1</sup> \*, П.Ф. Вдовкин<sup>1,2</sup>, М.Г. Добрецов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург  
\*e-mail: igor\_kubasov@mail.ru

С использованием авторского метода микроэлектродного картирования с использованием loose path метода были выполнены регистрация и анализ распространяющихся потенциалов действия (ПД) в интактных субэпикардальных кардиомиоцитах левого желудочка изолированного сердца крысы в контроле и через 3 месяца после перенесенного экспериментального инфаркта миокарда. Было показано, что после перенесенного инфаркта миокарда происходит существенное изменение формы и длительности внеклеточно регистрируемых ПД кардиомиоцитов перинфарктной зоны. В левом желудочке сердца контрольных животных регистрировались двухпиковые ответы с длительной фазой реполяризации со временем полуспада  $132.3 \pm 3.5$  мс (4 сердца, 78 сайтов регистрации), отражающие последовательную активацию натриевого, кальциевого токов и тока натрий-кальциевого обменника. У животных, перенесших инфаркт, в перинфарктной зоне левого желудочка регистрировались исключительно однопиковые ПД со временем полуспада  $27.9 \pm 0.8$  мс (6 сердец, 214 сайтов регистрации). Такая трансформация ответов может объясняться постинфарктным ремоделированием Т-системы кардиомиоцитов, ведущим к деградации их тубулярного компартмента и перераспределением на плазматической мембране указанных выше ион-транспортующих систем и снижению освобождения кальция из саркоплазматического ретикулума.

*Работа выполнена в рамках темы Госзадания № АААА-А18-118012290371-3.*

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДОФАМИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ У КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ**

А.Ю. Куртова, Т.С. Пронина, Л.К. Дильмухаметова\*, М.В. Угрюмов

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

\*e-mail: lili.dilm@gmail.com

Дофамин, синтезируемый дофаминергическими нейронами и так называемыми моноферментными нейронами, участвует в регуляции дифференцировки нейронов мозга в критический период морфогенеза. Целью данной работы явилось изучение фенотипических особенностей дофамин-продуцирующих нейронов в ряде отделов мозга (стриатум, супрахиазматическое и аркуатное ядра) у крыс в онтогенезе – с 18-го эмбрионального дня (Э18) до 60-го постнатального дня (П60). В качестве маркеров функциональной активности этих нейронов использованы ферменты синтеза дофамина – тирозингидроксилаза (ТГ) и декарбоксилаза ароматических аминокислот (ДАА), везикулярные транспортеры моноаминов (VMAT) и рецепторы к дофамину. Экспрессия данных генов была исследована на уровне мРНК и белков. Показано, что нейроны, содержащие ферменты синтеза дофамина, различаются по фенотипу и экспрессии генов не только в разных областях мозга, но и в одной и той же области в разные периоды онтогенеза. Так, в стриатуме моноферментные ТГ-содержащие нейроны выявляются только у взрослых животных (П60). В то же время биферментные дофаминергические нейроны выявляются только у плодов на Э18. На уровне мРНК все используемые в данной работе маркеры выявляются на протяжении всего исследуемого периода онтогенеза. Полученные данные свидетельствуют о том, что эмбриональные дофаминергические нейроны постнатально замещаются моноферментными нейронами. В супрахиазматическом ядре синтез дофамина может осуществляться только в раннем постнатальном периоде и только моноферментными нейронами, представленными ТГ-содержащими нервными волокнами и нейронами, экспрессирующими ДАА. Отсутствие экспрессии гена VMAT указывает на неспособность данных нейронов депонировать синтезированный дофамин. Предполагается, что транзиторный кооперативный синтез дофамина моноферментными нейронами и экспрессия рецепторов к дофамину в супрахиазматическом ядре обеспечивают регуляцию его развития. В аркуатном ядре у крыс в конце пренатального периода содержатся только моноферментные нейроны: ТГ-нейроны – в вентролатеральной области ядра, и ДАА-нейроны – в дорсомедиальной области, хотя мРНК ТГ и ДАА экспрессируются в обеих областях аркуатного ядра. Так же в обеих областях аркуатного ядра была выявлена мРНК VMAT, который, вероятно, участвует в гранулярном депонировании дофамина в ДАА-содержащих нейронах.

Таким образом, в развивающемся мозге у крыс в онтогенезе обнаружено несколько типов недофаминергических нейронов, обладающих теми или иными свойствами истинных дофаминергических нейронов, что позволяет им синтезировать дофамин, оказывающий регуляторное влияние на нейроны-мишени.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0108-2018-0006 и поддержана грантом РФФИ 17-14-01422.*

## КРАТКОСРОЧНЫЕ И ДОЛГОСРОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕМАНТИНА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК В МОЗГЕ ВЗРОСЛЫХ МЫШЕЙ

А.А. Лазуткин<sup>1,2,4\*</sup>, Р.А. Кирьянов<sup>1</sup>, О.А. Минеева<sup>1,2,4</sup>, С.А. Шуваев<sup>1,4</sup>,  
К.В. Анохин<sup>1,2,3,5</sup>, Г.Н. Ениколопов<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>3</sup> Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва

<sup>4</sup> Университет штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, Стоуни Брук, Нью-Йорк, США

<sup>5</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

\*e-mail: lazutkin.a.a@gmail.com

Нейрогенез во взрослом мозге млекопитающих находится под контролем различных молекулярных факторов, в частности, нейромедиаторов. Мемантин является антагонистом N-метил-D-аспартатных рецепторов (NMDA-R), однако наряду с этим он может блокировать альфа-7 никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, и ослаблять активацию ГАМК(A) рецепторов. Мемантин оказывает сильный стимулирующий эффект на нейрогенез в субгранулярной зоне (СГЗ) зубчатой фации (ЗФ) гиппокампа. Однако может ли мемантин оказывать такое влияние на пролиферацию в других областях мозга, неизвестно.

Недавно нами был разработан новый гистологический метод для 3D-визуализации пролиферирующих клеток в мозге взрослых мышей, основанный на маркировании делящихся клеток 5-этинил-2'-дезоксинуридином (EdU) и последующим обнаружении его с помощью whole-mount клик-реакции с флуоресцентным азидом (WM-CLICK) и визуализации с использованием светоплоскостной и конфокальной микроскопии.

Мы использовали метод WM-CLICK, а также разработанные нами математические алгоритмы обработки и сравнения цельных образцов мозга для анализа 3D паттернов клеточной пролиферации в мозге взрослых контрольных и подвергшихся действию мемантина животных. Для этого 3-месячным мышам ежедневно в течение 5 дней вводили либо физраствор, либо мемантин (50 мг/кг). Мозг брали для анализа через 2 ч после последней инъекции EdU. Изображения цельноокрашенных образцов мозга вписывали друг в друга, после чего из них создавали усредненные изображения для каждой из групп и производили их сравнение. Нами было выявлено несколько областей с выраженным эффектом мемантина на деление клеток мозга. Высокие плотности EdU<sup>+</sup> клеток были обнаружены в гиппокампе, субкаллозальной зоне, обонятельной луковице и постпириформной переходной области. Количественный 3D-анализ целых гиппокампов показал 4<sup>x</sup> увеличение числа EdU<sup>+</sup> клеток во всех частях ЗФ, а также 1,5<sup>x</sup> увеличение их числа в полях СА гиппокампа.

Также было проведено исследование долгосрочных эффектов мемантина на популяции стволовых клеток и взрослорожденных нейронов в ЗФ после еженедельных инъекций мемантина, в результате которого, 3 и 5 месяцев спустя, были обнаружены атипичная морфология нестин-GFP<sup>+</sup> клеток, а также большее количество DCX<sup>+</sup> клеток в гранулярном слое гиппокампа.

Работа была поддержана грантами РФФИ №17-29-01037 и РФФ №16-15-00294, 17-15-01426.

### **LINC RNA AABR07050652.1-201 РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ПРОТЕИНКИНАЗ PKCZ/PKMZ**

Е.В. Лукьянов\*, А.А. Бородинова, М.А. Кузнецова, А.П. Большаков  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
\*email: loukiaev@yandex.ru

Атипичные протеинкиназы PKCz/PKMz играют существенную роль в молекулярных процессах долговременной памяти и кодируются геном Prkcz. В геноме крысы *Rattus norvegicus* перед геном Prkcz локализован ген AABR07050652.1 (аннотация 106 сборки генома Rnor\_6.0,). Соответствующий транскрипт AABR07050652.1-201 кодируется тремя экзонами и относится к классу длинных межгенных некодирующих РНК - lincRNAs (от long intergenic non-coding RNAs). Известно, что lincRNAs регулируют экспрессию генов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях, причём их наибольшее разнообразие наблюдается в мозге. В составе экзона 3 транскрипта AABR07050652.1-201 нами была обнаружена последовательность длиной примерно 200 нуклеотидов с высокой (85-92%) степенью гомологии к 15 участкам, локализованным в различных интронах гена Prkcz, причём 9 из них - в интроне 4, где находится альтернативный внутренний промотор для экспрессии специфической мРНК PKMz. Мы продемонстрировали наличие транскриптов гена AABR07050652.1 в почках, лёгких, сердце, печени, надпочечниках и мозге. В почках и лёгких транскрипты кодировались тремя экзонами (экз.1-экз.2-экз.3, где экз. – целый экзон), и их нуклеотидная последовательность полностью совпадала с аннотированной. Транскрипты, экспрессированные в сердце и печени, вместо экзона 1 содержали последовательность длиной, соответственно, 90 и 120 нуклеотидов из прилежащего интрона, т.е. имели строение *интр.1-экз.2-экз.3* (где *интр.1* – часть интрона 1). В мозге были обнаружены транскрипты, имеющие строение *экз.1-экз.2-экз.3*, *интр.1-экз.2-экз.3*, *интр.1-экз.3* и *интр.2-экз.3*. В образцах, взятых из восьми разных участков мозга, присутствовал уникальный набор из нескольких транскриптов с различным уровнем экспрессии. Картина для транскриптов из мозга трёхнедельных крысят полностью отличалась от таковой для взрослых животных. Всё это указывает на использование не только основного, но и альтернативных промоторов, локализованных в интронах 1 и 2 гена AABR07050652.1, а также на альтернативный сплайсинг транскриптов. В клеточной линии PC12, часто используемой для изучения нейрональной дифференцировки и нейросекреции, экспрессированы транскрипты *интр.1-экз.2-экз.3*. Индукция дифференцировки клеток нейрональным фактором роста (NGF) либо дексаметазоном оказывала влияние на экспрессию этих транскриптов. В клетках, обработанных дексаметазоном, одновременно наблюдалось повышение уровня экспрессии мРНК PKCz. Полученные данные свидетельствуют о существенной роли транскриптов гена AABR07050652.1 в регуляции экспрессии атипичных протеинкиназ PKCz/PKMz.

Работа поддержана Российской Академией Наук и грантом Российского научного фонда (№14-25-00072).

### **МОНОАМИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В РАЗВИВАЮЩЕМСЯ ТИМУСЕ**

Н.В. Лифанцева, С.Н. Воронова, В.И. Мельникова\*  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва  
\*e-mail: v\_melnikova@mail.ru

В последнее время существенно изменились представления о моноaminaх как исключительно о передатчиках сигнала между клетками нервной системы. Все больше данных подтверждает их способность выступать в качестве гуморальных

регуляторов широкого профиля, в том числе в иммунной системе, где моноамины синтезируются лимфоцитами и участвуют в модуляции иммунных реакций у половозрелых млекопитающих. Дефицит моноаминов в период формирования тимуса у плодов крыс приводит к необратимым морфогенетическим изменениям в функционировании Т-клеточного звена иммунитета в постнатальной жизни. Однако механизмы такого действия моноаминов остаются невыясненными. Исследование роли моноаминов в онтогенезе имеет особое значение, поскольку именно в развитии реализуются эпигенетические механизмы, обеспечивающие адаптационную пластичность систем организма. У половозрелых животных все компоненты моноаминергической системы (синтез, захват, рецепция) выявлены в лимфоцитах, в то время как в пренатальном онтогенезе этот вопрос не изучен.

Мы исследовали возрастную динамику экспрессии рецепторов к серотонину и дофамину, а также возможность синтеза и транспорта моноаминов в клетках тимуса у плодов крыс. В тимусе плодов, начиная с 16 эмбрионального дня (Э16), с помощью ПЦР обнаружена мРНК: рецепторов к серотонину (*htr1a*, *htr1b*, *htr2a*, *htr2b* и *htr7*) и дофамину (*D1*, *D2*, *D3*, *D4*, *D5*), транспортеров дофамина и серотонина (*DAT*, *SERT*, *VMAT1*, *VMAT2*), а также ферментов синтеза моноаминов - тирозингидроксилазы, триптофангидроксилазы и ДОФА-декарбоксилазы. С помощью вестерн-блоттинга выявлено присутствие соответствующих белковых продуктов. Инкубация тимусов плодов (Э18) *ex vivo* в присутствии предшественников серотонина и дофамина (триптофана или тирозина) с последующим иммуногистохимическим выявлением серотонина или дофамина, соответственно, позволила подтвердить функциональную активность обнаруженных ферментов. Подавление транспорта ASP+ (флуоресцирующий аналог моноаминов) в клетки тимуса (Э18) в присутствии селективных ингибиторов транспорта серотонина или дофамина доказало способность эмбрионального тимуса активно захватывать внеклеточные моноамины.

Таким образом, в развивающемся тимусе плодов крыс присутствуют и функционально активны все компоненты серотонинергической и дофаминергической систем, что подтверждает возможность прямого влияния моноаминов на формирование тимуса. Существование локального синтеза моноаминов в тимусе наряду с высоким их содержанием в крови плодов позволяет предположить различные функции внутритимического и циркулирующего пула моноаминов в регуляции развития тимуса. Поскольку внешние и материнские факторы способны изменять уровень моноаминов у плодов, серотонин и дофамин могут выступать связующим звеном между окружающей средой и формирующейся иммунной системой.

*Работа выполнена в рамках ГЗ № 0108-2018-0002, исследование компонентов серотонинергической системы проводилось при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01353.*

## **УЧАСТИЕ NO В ИНГИБИРОВАНИИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПОТЕНЦИАЦИИ В ГИППОКАМПЕ, ВЫЗВАННОМ БЛОКАДОЙ СИНТЕЗА БЕЛКА**

А.В. Мальцев\*, Н.В. Баль, П.М. Балабан

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

\*e-mail: malat\_88@mail.ru

Долговременная потенция (LTP) – усиление синаптической передачи между нейронами, сохраняющееся длительное время после прекращения воздействия на проводящий путь. LTP – одна из ключевых форм синаптической пластичности, вовлечённая в механизмы хранения памяти и обучение. Различают раннюю (E-LTP, несколько минут – полчаса), и позднюю (L-LTP, многие часы), фазы LTP. Предполагается, что за развитие E-LTP ответственны изменения ионных



потоков как в пре-, так и в постсинаптических нейронах, в то время как L-LTP нуждается в процессах трансляции белка.

Хорошо известна способность некоторых антибиотиков – ингибиторов синтеза белка (PSB) подавлять L-LTP, однако подробные механизмы их действия до сих пор остаются не до конца понятыми. В данной работе, мы, используя экстраклеточную регистрацию полевых потенциалов в CA1 поле гиппокампа, флуоресцентную микроскопию гиппокампальных срезов, окрашенных NO-чувствительным зондом DAF-FM, впервые прямо показали, что даже простая аппликация PSB в отсутствие тетанической стимуляции приводит к достоверному увеличению уровня оксида азота (NO). Тетанизация PSB-обработанных срезов ведёт к дальнейшему росту NO, регистрируемому в дендритах CA1 (*Stratum radiatum* и *S. lacunosum-moleculare*). NO ослабляет коэффициент парной фасилитации, показывая депрессорное действие на пресинаптические механизмы. Предобработка срезов блокатором NO-синтаз – L-NNA или скавенджером NO-радикалов – PTIO – полностью предотвращала продукцию NO и подавление L-LTP, сохраняя ответы на уровне контрольной тетанизации. Кроме того, L-NNA и PTIO, сами по себе не влияющие на кратковременную пластичность, восстанавливали парную фасилитацию в PSB-обработанных срезах до контроля.

Чтобы проверить, какой из механизмов опосредует NO-зависимое подавление L-LTP, использовали ингибитор гуанилатциклаз – ODQ. На фоне ODQ снижение амплитуды и скорости проведения потенциалов для срезов, обработанных PSB, полностью сохранялось, что говорит о цГМФ-независимости эффектов PSB. На фоне ингибитора протеасомной деградации белков – лактацистина, подавление L-LTP ингибиторами синтеза белка предотвращалось, подтверждая предположение об участии протеасом в NO-зависимом действии PSB. Совместная аппликация лактацистина и PSB на срезы не только не приводила к предотвращению синтеза NO в срезах, но вызывала кумулятивный эффект в отношении продукции NO (в полях CA1 и CA3). Совместная аппликация ингибиторного пептида для CaMK II – AIP и PSB приводила к исчезновению L-LTP, снижавшейся до уровня дотетанического контроля, что исключает реализацию действия PSB через CaMK II.

*Работа поддержана грантом РФФИ: 17-04-01796.*

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРОВ СПОНТАННОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ УВЕЛИЧЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ МОЗГА**

Ю.С. Медникова\*, А.В. Рогаль, Н.В. Пасикова

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

\*e-mail: zubkov@mi.ras.ru

На срезах сенсомоторной коры морских свинок изучали сравнительный эффект ионофоретического подведения ацетилхолина и норадреналина на уровень спонтанной активности нейронов в температурном диапазоне 32-37°C. После приготовления срезы инкубировали в искусственной цереброспинальной жидкости при  $t=32-34^{\circ}\text{C}$ . При этой температуре экстраклеточно регистрировали спонтанную активность нейронов V слоя и наблюдали за ее изменением при нагревании до 36-37°C.

Распределение нейронов V слоя сенсомоторной коры показало, что в срезах при  $t=32-34^{\circ}\text{C}$  преобладают «молчаливые» нервные клетки: они составляют около 40%, тогда как доля активных нейронов со все более высокой частотой постепенно снижается в распределении. У спонтанно неактивных нейронов при  $t=32-34^{\circ}\text{C}$  не было обнаружено импульсных ответов на ионофоретическое подведение к ним ацетилхолина и норадреналина. Спонтанно активные клетки реагировали на ацетилхолин повышением импульсной активности в среднем на

2.7 имп/с (от 0.5 до 7.8/с). Реакции на норадреналин были менее определенными: кроме небольших активационных реакций (не более чем 3.6 имп/с над уровнем фона) зарегистрировано также падение частоты импульсации.

С ростом температуры инкубационной среды от 32-34 до 36-37°C ответы нейронов на ионофоретическое подведение ацетилхолина резко возрастали (на  $333 \pm 156\%$ , критерий Уилкоксона для разностей пар,  $\alpha < 0.1\%$ ). Особенно значительно рост импульсации происходил у спонтанно неактивных нейронов – он мог достигать до 18 имп/с при полном отсутствии реакции при  $t=32-34^\circ\text{C}$ . Ответы нейронов на норадреналин при увеличении температуры до 36-37°C достоверно не менялись ( $8 \pm 7.5\%$ ). В температурном переходе 36-37°C вслед за появлением импульсных реакций на ацетилхолин у спонтанно неактивных при 32-34° нейронов возникла спонтанная активность с частотой пропорциональной увеличению ответа на ацетилхолин. Это означает, что спонтанная активность регулируется в основном холинергической реакцией мозга, причем наиболее эффективно у «молчащих» нейронов при температурах выше 36°C. Поэтому у теплокровных температура мозга поддерживается постоянно на этом уровне, среди нейронов коры преобладают спонтанно неактивные нервные клетки, а холинергические ядра, иннервирующие корковые структуры, развиты наиболее мощно.

### **ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ХИРАЛЬНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС**

Л.В. Мезенцева<sup>1</sup>\*, С.С. Перцов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им.

А.И. Евдокимова, Москва

\*e-mail: l.v.mezentseva@mail.ru

Хиральность – одно из основных понятий химии, характеризующее свойство молекулы не совмещаться со своим отображением в идеальном плоском зеркале. Это понятие применяется при изучении свойств асимметрии морфофункциональной организации биологических систем различного уровня, начиная от простейших организмов и кончая межполушарной асимметрии мозга и психических функций человека. Выявлена специфичность регуляции показателей микроциркуляции (МЦР) сосудов различных парных органов, обусловленная наличием морфофункциональной асимметрии. Однако вопросы формирования функциональной асимметрии микрокровотока на различных стадиях онтогенеза до сих пор не изучены. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение особенностей проявления хиральности показателей МЦР сосудов у животных в постнатальном онтогенезе.

Эксперименты проводили на 25 крысятах (возраст – 1-30 дней) под нембуталовым наркозом. Возрастные периоды выбраны по времени реализации антигравитационных реакций в процессе раннего постнатального онтогенеза: 1-3, 9-10, 21 и 30 дни после рождения крысят. Капиллярный кровоток измеряли методом лазерной доплеровской флоуметрии с помощью прибора «ЛАКК-02» фирмы «ЛАЗМА». Оценивали показатели МЦР и составляющие тонуса сосудов симметричных фрагментов кожи висков, лба, ушных раковин, лопаток, паха, а также корреляционные взаимосвязи между ними.

Результаты исследований выявили наличие явно выраженной асимметрии в формировании регуляторных механизмов тонуса сосудов в динамике развития постнатального онтогенеза. Установлено, что параметры МЦР симметричных сторон в процессе роста снижаются на 10-й день, но превышают исходный уровень к 30-му дню, что более выражено для левой стороны. Наиболее

значительные изменения в процессе постнатального онтогенеза обнаружены для эндотелиальной составляющей тонуса сосудов, которая для левой стороны значительно возрастает к 10-му дню и устанавливается ниже исходного на 30-й день. Для сосудов правой стороны эта величина значительно возрастает к 21-му дню, но снижается и становится меньше исходной на 30-й день. Установлено, что эндотелиальная составляющая тонуса сосудов отличается наличием ярко выраженной фазы избыточности, время наступления которой различно для правой и левой стороны. Полученные данные указывают на то, что именно эндотелиальная компонента регуляции тонуса микрососудов демонстрирует проявление свойств хиральности в формировании структурно-функциональной организации микроциркуляторного русла в процессе постнатального онтогенеза.

### **ACTH<sub>4-10</sub> И CRH В НЕЙРОННЫХ МЕХАНИЗМАХ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССОРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ**

А.Ф. Мещеряков<sup>1</sup> \*, Е.В. Коплик<sup>2</sup>, Е.В. Борисова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*  
\*e-mail: alex\_maf@mail.ru

Исследования проведены на 110 крысах с использованием нейробиологических методов: анализа поведения, регистрации импульсной активности нейронов, микроионофоретического подведения нейроактивных веществ в перинейронное пространство нервных клеток латерального гипоталамуса. Зарегистрировано 153 нейрона. В экспериментах использованы высоко и низко активные, по показателям поведения в «открытом поле», крысы. У животных этих групп в свободном поведении, с помощью специального микроманипулятора, закрепленного на кости черепа, зарегистрирован 81 нейрон, а у низко активных крыс - 72 нейрона латерального гипоталамуса.

К 36 нейронам методом микроионофоретической аппликации в перинейронное пространство введен ACTH<sub>4-10</sub> (Семакс) и CRH (кортикотропин рилизинг гормон). Анализ спонтанной и вызванной активности нейронов проводили общепринятыми методами. Определяли среднюю частоту активности нейрона (P), величину неравномерности импульсной активности (НИА), коэффициент вариации межимпульсных интервалов (CM), а также анализировали характер паттернов активности нейронов по частотно-временным характеристикам. Морфологический контроль локализации кончиков микроэлектродов осуществляли фотоэкспресс методом на послойных срезах мозга.

Эксперименты проведены в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Установлено, что нейроны структур латерального гипоталамуса у высоко (прогностически устойчивых) и низко активных (предрасположенных к эмоциональному экспериментальному стрессорному воздействию) крыс имеют различную чувствительность к CRH и ACTH<sub>4-10</sub> (Семаксу).

На основании проведенных исследований и данных литературы о механизме действия пептидов в ЦНС, можно предположить, что CRH и ACTH<sub>4-10</sub> (Семакс) специфически участвуют в реализации механизмов обеспечивающих различную устойчивость животных к стрессорным воздействиям. Возможно, это связано с их взаимодействием с катехоламиновыми механизмами головного мозга.

**ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ N-ДОКОЗАГЕКСАЕНОИЛ-ДОФАМИНА НА МОДЕЛИ *IN VITRO* БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

Э.Р. Мингазов<sup>1</sup>, С.А. Сурков<sup>1</sup>, А.И. Стурова<sup>1</sup>, В.Е. Блохин<sup>1\*</sup>, Н.М. Грецкая<sup>2</sup>,  
В.В. Безуглов<sup>2</sup>, М.В. Угрюмов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва

\* e-mail: victor.blokhin@hotmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических (ДА-ергических) нейронов nigrostriatной системы, что приводит к дефициту ДА и к нарушению моторной функции. Для лечения больных используют заместительную терапию, позволяющую восполнять недостаток дофамина. Кроме того, нейропротекторная терапия может быть использована для замедления гибели ДА-ергических нейронов. Эндогенные вещества, обладающие способностью защищать клетки от токсических факторов, считаются наиболее перспективными нейропротекторами. Например, биоактивные липиды из семейства нейролипидов (эндованилоиды/эндоканнабиноиды и родственные соединения). В данной работе проведена оценка нейропротекторных свойств N-докозагексаеноилдофамина (ДГК-ДА) – одного из нейролипидов, на *in vitro* модели БП. В работе использовали первичную культуру ДА-ергических нейронов, полученную из мезенцефалона эмбрионов мышей C57BL/6 на 13-й день развития. На 7-й день культивирования моделировали БП, добавляя 10 мкМ МФП<sup>+</sup> – специфического нейротоксина ДА-ергических нейронов. Для оценки нейропротекторных свойств ДГК-ДА его вводили в концентрации 0,5, 1 и 2 мкМ одновременно с нейротоксином. Эффективность оценивали по числу выживших ДА-ергических нейронов, выявляемых иммуноцитохимически по наличию тирозингидроксилазы (ТГ), а также по общей длине нейритов ТГ-иммунореактивных (ИР) нейронов. Кроме того, в нейронах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией определяли содержание ДА. Добавление МФП<sup>+</sup> в культуральную среду приводило к снижению количества ТГ-ИР нейронов на 59%, уменьшению длины нейритов и содержания ДА на нейрон – на 55%. Добавление 0,5 мкМ ДГК-ДА не оказывало нейропротекторного эффекта, тогда как добавление 1 мкМ ДГК-ДА приводило к уменьшению числа ТГ-ИР нейронов на 28%, хотя длина нейритов на нейрон уменьшалась на 38% по сравнению с интактными нейронами. Содержание же дофамина в них снизилось всего лишь на 19% относительно контроля, что является дополнительным показателем нейропротекторных свойств. Увеличение концентрации ДГК-ДА до 2 мкМ приводило к резкому снижению нейропротекторного действия нейролипидина: потеря ТГ-ИР нейронов – 55%, как и при инкубации только с МФП<sup>+</sup>. Общая длина нейритов на нейрон также уменьшилась практически до значений положительного контроля (на 43%), однако снижение содержания ДА составило только 29%. Таким образом, ДГК-ДА обладает нейропротекторными свойствами, максимально выраженными при концентрации 1 мкМ.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий», проект «Создание фундаментальной основы (методологии) инновационной технологии адресной доставки лекарственных средств к дегенерирующим дофаминергическим нейронам при болезни Паркинсона». НИР - № 0108-2018-0006

## **ОТРОСТЧАТЫЕ NESTIN- И GFAP-ПОЗИТИВНЫЕ КЛЕТКИ В НЕЙРОГЕННОЙ ЗОНЕ ГИППОКАМПА**

О.А. Минеева<sup>1,2</sup>\*, А.А. Лазуткин<sup>1,2</sup>, Г.Н. Ениколопов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный*

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*

<sup>3</sup> *Университет штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, Стоуни Брук, Нью-Йорк, США*

\*e-mail: o.mineyeva@gmail.com

Новые нейроны гиппокампа зрелого мозга грызунов появляются из нейральных стволовых клеток (НСК), экспрессирующих nestin и GFAP, и имеющих радиальную морфологию. Делящиеся НСК расходуются после серии нейрогенных делений, что может происходить за счёт дифференцировки или гибели. Однако, этапы процесса исчезновения стволовых клеток и возможность влияния на него ещё мало изучены.

Помимо радиальных НСК, в нейрогенной нише содержатся и другие клетки, также экспрессирующие упомянутые белки, но не имеющие радиального отростка. Эти отростчатые нерадиальные клетки (ОК) имеют варибельную и более разветвлённую морфологию. ОК могут отражать определённый этап дифференцировки НСК в нейроны или астроциты, гетерогенность в популяции бипотентных НСК, результат редких симметричных делений НСК или могут являться унипотентным подтипом покоящихся стволовых клеток, продуцирующим только астроциты. Более того, по мере старения нейрогенной ниши ОК могут или исчезать со скоростью расходования НСК, или же лучше сохраняться. В данной работе мы поставили цель описать сосуществующие ОК и НСК, а также их пролиферативный потенциал, в условиях подавления или индукции нейрогенеза, влияющих на НСК.

Результаты непрерывного мечения ДНК показали, что делящиеся ОК редки по сравнению с делящимися НСК (8 и 92%, соответственно). Это может означать, что параметры клеточного цикла ОК отличны от таковых у нейрогенных радиальных НСК. Меченые ОК также могут отражать перестройку морфологии бипотентных НСК после последнего нейрогенного деления. Помимо этого, мы исследовали изменения, происходящие в пуле НСК и ОК с возрастом в интактном мозге, после облучения и после пронеурогенного воздействия агониста NMDA-рецепторов мемантина. Мы обнаружили, что через 6 месяцев после радиации скорость расходования НСК не была изменена, и баланс ОК и НСК также сохранился. Напротив, хронические инъекции мемантина ускорили расходование стволового пула, однако ОК оставались в нише, и их фенотип имел черты активированных астроцитов. Наши данные говорят о незначительности вклада ОК в нейрогенез и могут быть использованы для дальнейшего тестирования линий дифференцировки НСК и механизмов их расходования.

*Работа поддержана грантами РФФИ 17-29-01037, и РНФ 16-15-00294 и 17-15-01426.*

## **ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАЩЕНИЯ СОСУДОВ ПРИ АКТИВАЦИИ 5-HT<sub>2B</sub> РЕЦЕПТОРОВ**

Г.Ю. Миронова\*, П.П. Авдонин, А.А. Цитрина, П.В. Авдонин

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

\*e-mail: wereshelen@gmail.com

Серотониновые 2В рецепторы относятся к семейству сопряженных с G белком рецепторов. При их активации происходит увеличение внутриклеточной концентрации кальция, что обуславливает те или иные физиологические

эффекты. До сих пор не была показана сократительная функция этих рецепторов в гладкомышечных клетках сосудов в норме. Их вазоконстрикторный эффект проявляется только в патологических состояниях, таких как диабет 2 типа, ДОКА-солевая гипертензия, L-NAME-индуцированная гипертензия. Целью исследования было изучить сигнальные пути 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов в клетках сосудов и выявить условия демаскировки их вазоконстрикторного действия.

В качестве объектов исследования использовались гладкомышечные клетки, выделенные из аорты крысы, изолированные аорта и брыжеечная артерия крысы. В ходе исследования применяли методы количественной ПЦР и иммунофлуоресценции, для изучения экспрессии 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, методы детекции образования внутриклеточного кальция и активных форм кислорода (АФК) с помощью флуоресцентных зондов, измерение сокращения изолированных сосудов.

В ходе экспериментов было установлено, что в гладкомышечных клетках аорты крысы экспрессируются серотониновые 5-HT<sub>2B</sub> рецепторы, сопряженные с кальциевой сигнальной системой и системой NADPH-зависимого образования АФК. При этом в интактных сосудах 5-HT<sub>2B</sub> рецепторы, локализованные в гладких мышцах, не выявляют сократительной активности. Было показано, что использование индукторов образования внутриклеточных АФК может приводить к потенцированию кальциевой сигнализации и проявлению вазоконстрикторного эффекта при активации 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, что не наблюдается в норме. Этот эффект связан с ингибированием тирозинового дефосфорилирования эндогенными АФК и сдвигом равновесия в сторону Src-зависимого фосфорилирования. Полученные данные позволяют лучше понять особенности функционирования 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов и дают представление о возможном механизме нарушений серотонинергической регуляции сосудистого тонуса при патологиях, когда клетки подвергаются оксидативному стрессу, а предложенный метод демаскировки сократительного эффекта 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов позволяет исследовать влияние фармакологических препаратов на опосредованную этими рецепторами регуляцию сосудистого тонуса.

*Работа выполнена по гранту РФФИ №18-15-00417 и частично по разделу Государственного задания ИБР РАН №0108-2018-0002.*

### **КАЛЬЦИЙ-КАЛЬМОДУЛИН-ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ ПРИ АКТИВАЦИИ P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-РЕЦЕПТОРОВ У МЫШЕЙ, НОКАУТНЫХ ПО ГЕНУ ПАННЕКСИНА-1**

А.С. Митева\*, И.А. Акутин, О.П. Балезина, А.Е. Гайдуков  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва  
\*e-mail: anka.miteva@gmail.com

P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-рецепторы – ионотропные, кальций-проводящие рецепторы, активируемые АТФ. Их наличие показано в пресинаптической мембране моторных синапсов. Возможно, они функционально связаны с паннексинами. Влияние P<sub>2</sub>X<sub>7</sub> на секрецию медиатора до сих пор изучено недостаточно. Цель работы - изучение P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-опосредованной регуляции вызванной секреции ацетилхолина в моторных синапсах мыши и внутриклеточных каскадов, запускаемых при активации этих рецепторов.

Использовали мышей дикого типа и нокаутных по гену паннексина 1, у которых отсутствует пуринергическое торможение передачи в моторных синапсах. Регистрировали параметры миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и вызванных потенциалов концевой пластинки (ПКП) при коротких ритмических залпах (50 Гц, 1 с) с использованием микроэлектродной техники.

У мышей дикого типа применение агониста (BzATP) и антагониста (A 740003) P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-рецепторов не вызвало изменений квантового состав ПКП в залпе. У мышей, нокаутных по гену паннексина 1, антагонист P<sub>2</sub>X<sub>7</sub> рецепторов не влиял на параметры МПКП и ПКП, в то время как BzATP вызывал значительное увеличение квантового состава каждого ПКП в залпе. Прирост квантового состава ПКП сопровождался увеличением пула готовых к выбросу везикул, при этом значение вероятности выброса не отличалось от контроля.

Увеличение квантового состава ПКП под действием BzATP у мышей, нокаутных по гену паннексина 1, полностью предотвращалось при ингибировании кальмодулина с помощью W-7, ингибитора кальмодулинкиназы II типа - KN-93 и блокировании L-типа кальциевых каналов нитрендипином.

Таким образом, впервые показано, что активация пресинаптических P<sub>2</sub>X<sub>7</sub>-рецепторов приводит к потенцированию секреции ацетилхолина при залповой активности синапса не просто за счет дополнительного входа кальция, но за счет активации сигнального каскада с участием кальмодулина, кальмодулинкиназы II типа и кальциевых каналов L-типа. Предполагается, что у мышей дикого типа данный каскад не проявляется благодаря паннексин 1-зависимой тонической активации тормозных пуринорецепторов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00189.*

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЕРТОНИНОВОЙ И ЛЕПТИНОВОЙ СИСТЕМ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ДИЕТОИНДУЦИРОВАННОМ ОЖИРЕНИИ**

Е.В. Михайлова, К.В. Деркач, А.О. Шпаков, И.В. Романова\*

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

\*e-mail: irinaromanova@mail.ru

Серотонинергические нейроны raphe nucleus (RN) посылают проекции в гипоталамус и вовлечены в регуляцию функций мозга, ответственных за пищевое поведение и энергетический баланс, которые существенно меняются при ожирении. Триптофангидроксилаза (ТПГ) – фермент биосинтеза серотонина, который локализован в серотонинергических нейронах и являются их маркером. Нейроны, экспрессирующие ТПГ, кроме RN выявлены в ventral tegmental area (VTA). Ранее мы показали, что рецепторы гормона жировой ткани лептина (ЛепР) экспрессируются в ТПГ-иммунопозитивных нейронах RN и VTA, что свидетельствует об участии лептина в регуляции серотонинергических нейронов мозга. Цель исследования – оценить изменение уровня ТПГ и ЛепР в RN и VTA у крыс при диетоиндуцированном ожирении.

Самцы крыс Вистар в течение трех месяцев получали корм с высоким содержанием жиров и углеводов (группа с ожирением) или обычный корм (контроль). После транскардиальной перфузии 4% раствором параформальдегида и криопротекции в 30% растворе сахарозы мозг замораживали. На фронтальных срезах мозга (16 мкм) из области RN и VTA, монтированных на стекло, проводили двойное иммуномечение ТПГ и ЛепР. Изображения получали с помощью конфокального микроскопа, которые анализировали количественно с помощью программы Leica.

При ожирении экспрессия ТПГ в различных областях среднего мозга меняется разнонаправлено: в RN она достоверно снижается, в VTA, напротив, повышается. Содержание ЛепР в ТПГ-иммунопозитивных нейронах в RN и VTA при ожирении достоверно снижалось по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на то, что регуляция лептином серотонинергических нейронов в условиях ожирения, когда активность лептиновой системы в ЦНС снижена, ослабляется. С учетом выявленной нами ранее взаимосвязи между синтезом серотонина и

лептиновым сигналингом в нейронах среднего мозга, можно предположить, что регуляция лептином экспрессии ТПГ1 в нейронах RN и VTA различается, и это иллюстрируется десинхронизацией экспрессии белков ЛепР и ТПГ.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№16-15-10388).*

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРЕКСИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫС С ЭПИЛЕПСИЕЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗИСА**

И.Ю. Морина\*, И.В. Романова

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

\*e-mail: irinamorina@mail.ru

Орексины (А и В) – пептиды, образующиеся из общей молекулы-предшественника в нейронах перифорникальной области гипоталамуса. Их функциональное значение связывают с регуляцией пищевого поведения и энергетического баланса. Проекции орексинергических нейронов выявлены в различных областях мозга, вовлеченных в патогенез эпилепсии (височная и пириформной кора, четверохолмия, гиппокамп), поэтому в литературе обсуждается вопрос о роли орексинов при эпилепсии. Этиология этого заболевания различна. Использование генетических моделей эпилепсии у животных является общепризнанным подходом. Ранее нами было показано, что у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии, наблюдается увеличение уровня орексина в гипоталамусе. Цель исследования: оценить морфофункциональное состояние орексинергических нейронов у крыс WAG/RIJ, генетически предрасположенных к другой форме эпилепсии (абсансной).

Исследование проведено на самцах 6-ти месячного возраста крысы линии WAG/RIJ, предварительно тестированных на наличие абсансной эпилепсии, и Вистар. Мозг фиксировали в 4% растворе параформальдегида и после криопротекции замораживали. Исследование проведено на фронтальных срезах мозга (20 мкм) из перифорникальной области гипоталамуса, которые монтировали на стекла и после демаскировки антигена в цитрате натрия (рН 6.0) инкубировали с первичными антителами кролика к орексину-А (Sigma, США). Для выявления иммуногистохимической реакции также использовали вторичные антитела козы против кролика, конъюгированные с биотином (VectorLab, Англия), комплекс стрептавидин-пероксидаза (Sigma, США) и 0,05% раствор диаминобензидина (Sigma, США).

Анализ препаратов демонстрирует у крыс WAG/RIJ увеличение оптической плотности орексина-А в нейронах перифорникальной области гипоталамуса на 44% ( $p < 0.05$ ) по сравнению с крысами Вистар. Полученные нами данные демонстрируют активацию орексинергических нейронов у крыс с различными генетическими формами эпилепсии, что может свидетельствовать об участии орексинергической системы в компенсаторные и защитные механизмы мозга, которые проявляются при эпилепсии.

*Исследование проведено по госзаданию ФАНО (№АААА-А18-118012290372-0).*



## **ВЛИЯНИЕ ДОНОРОВ NO И БЛОКАТОРА NO-СИНТАЗЫ НА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО ОБОРОНИТЕЛЬНОГО РЕФЛЕКСА У УЛИТКИ**

Л.Н. Муранова\*, Х.Л. Гайнутдинов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

\*e-mail: m.luda@mail.ru

Оксид азота (NO) известен как одна из важнейших сигнальных молекул, регулирующих физиологические функции организма и метаболизм клеток. NO непрерывно продуцируется практически во всех органах и тканях ферментативным путем. Его функциональная роль прослеживается для центральной и периферической нервной системы, для сердечно-сосудистой системы, для системы кровоснабжения. NO является естественным регулятором артериального тонуса, и содержащие его соединения широко используются в современной кардиологической клинике. В качестве лекарственных средств, оказывающих гипотензивное действие, часто используют препараты - доноры NO на основе органических нитратов. В различных ганглиях виноградной улитки *Helix lucorum* гистохимическим методом были выявлены NADPHd-позитивные нейроны, синтезирующие NO. У моллюсков, как и у млекопитающих, NO играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы в различных отделах нервной системы. Участие NO в синаптической пластичности наиболее ярко проявляется в таких процессах, как долговременная потенция и депрессия. Кроме того, недавно стало известно, что NO необходим как для обучения, так и для стирания памяти.

Поэтому в данной работе были исследованы воздействия экзогенного источника или донора NO нитропруссид натрия, донора NO ДНКЖ, неспецифического блокатора нейрональной NO-синтазы L-NAME на выработку условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу у виноградной улитки. В работе были использованы растворы фармакологических препаратов: L-NAME в дозе 100 мг/кг веса животного, нитропруссид натрия в дозе 500 мкг/кг веса, ДНКЖ в дозе 20 мг/кг. Контролем служили улитки, которым вводили физиологический раствор (0.1 мл) в те же сроки, что и в опытных сериях. В ходе экспериментов было найдено, что хроническое введение экзогенного донора NO нитропруссид натрия ускоряет выработку условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу у виноградных улиток по сравнению с животными, которым вводили ФР. Хроническое введение ДНКЖ также ускоряет выработку условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу у виноградных улиток. Ежедневное блокирование NO-синтазы L-NAME перед формированием условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу, наоборот, замедляло обучение виноградных улиток по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты свидетельствуют, что в исследованном нами виде обучения NO модулирует процесс формирования условного рефлекса.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).*

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМНОЙ РЕГУЛЯЦИИ НОРАДРЕНАЛИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ОРГАНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ У КРЫС**

А.Р. Муртазина\*, Ю.О. Никишина, Л.К. Дильмухаметова, А.Я Сапронова,  
М.В. Угрюмов

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

\*e-mail: aliyamurtazina1109@gmail.com

В процессе формирования организма норадреналин (НА) играет важную роль в регуляции морфогенеза отдельных органов и организма в целом. У взрослых животных его влияние на клетки и органы-мишени – кратковременное и

обратимое, в то время как в развивающемся организме в критический период морфогенеза – «необратимое». Поэтому при нарушении метаболизма НА могут возникать тяжелые врожденные заболевания, иногда несовместимые с жизнью. НА синтезируется в нейронах головного мозга, симпатической нервной системы, а также в хромоаффинной ткани надпочечников и параганглиев. В перинатальном периоде эти органы являются потенциальными источниками НА в общей системе циркуляции, поддерживающими физиологически активную концентрацию НА в крови. Учитывая то, что симпатическая регуляция у грызунов окончательно формируется к концу первой недели жизни, основным путем норадреналиновой регуляции морфогенеза является гуморальный. Цель данного исследования – проверка предположения о том, что в перинатальном периоде существует взаимная гуморальная регуляция функционирования эндокринных источников НА. Основная задача данной работы – оценить в мозге, надпочечниках и в органе Цукеркандля (ОЦ) на модели хронического ингибирования синтеза НА в мозге уровень экспрессии генов и синтезов ключевых ферментов продукции НА – тирозингидроксилазы (ТГ) и дофамин-β-гидроксилазы (ДБГ).

Для выключения синтеза НА в мозге крысам вводили в желудочки мозга гибридный молекулярный комплекс анти-ДБГ-сапорин, состоящий из антител против ДБГ, связанных с цитоксином – сапорином. Содержание мРНК ТГ и ДБГ определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, содержание белков ферментов синтеза НА методом вестерн блоттинга.

Было показано, что через 48 ч после введения анти-ДБГ-сапорина в мозг, когда обнаруживаются первые изменения в содержании НА в органах-источниках и снижение уровня НА в крови, экспрессия гена ТГ в мозге увеличивается в 2 раза, а гена ДБГ остается на уровне контроля. При этом содержание обоих ферментов не меняется. Кроме того, ингибирование синтеза НА в мозге через 48 ч привело к увеличению экспрессии генов ТГ и ДБГ в надпочечниках и ОЦ, в то время как содержание этих ферментов оставалось неизменным. Через 72 часа после введения иммунотоксина, когда уровень НА в крови восстанавливается до уровня контроля, содержание мРНК ТГ и ДБГ остается повышенным только в надпочечниках.

Таким образом, снижение уровня НА в мозге и вызванное этим снижение концентрации НА в крови привело к усилению экспрессии генов ключевых ферментов синтеза НА в периферических органах, а также к сохранению повышенной экспрессии генов ТГ и ДБГ в надпочечниках на момент восстановления уровня НА в крови, что свидетельствует о наличии взаимной гуморальной регуляции между НА-продуцирующими органами.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00929*

## **ВЛИЯНИЕ ТРАНС-NED19 НА СЕРДЕЧНЫЙ РИТМ КУРИНОГО ЗАРОДЫША НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ**

М.В. Нечаева\*, Т.А. Алексеева, П.В. Авдонин  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва  
\*e-mail: mnechaeva2003@yahoo.com

Двупоровые кальциевые каналы – эволюционно древнее семейство белков, выявленных у животных, растений и одноклеточных эукариот. У животных эти каналы локализованы в эндолизосомальных везикулах и активируются вторичным мессенджером NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate). Ранее было продемонстрировано, что активируемые NAADP каналы участвуют в электромеханическом сопряжении в миокарде, а их избыточная активация может вызывать экстрасистолию. Возникает вопрос, может ли лизосомальный кальций,

регулируемый через NAADP сигнальный путь, играть роль в сокращениях эмбрионального сердца на ранних стадиях развития. Задачей нашего исследования было выяснить, как блокировка двупоровых кальциевых каналов повлияет на спонтанную ритмическую сократительную активность эмбрионального сердца куриного зародыша на ранних стадиях развития. Для исследований использовали селективный блокатор двупоровых кальциевых каналов: trans-NED19, который является структурным аналогом NAADP.

Исследования проводили на изолированном сердце куриного зародыша на 4 сутки эмбрионального развития, когда нервная и гормональная регуляция сердца еще отсутствует. Использовали видеорегистрацию сократительной активности изолированного сердца, помещенного в камеру с раствором Хэнкса в исходных условиях, и затем добавляли trans-NED19 в раствор в разных концентрациях.

В контроле частота сокращений изолированного сердца была стабильной и составляла  $111 \pm 7$  уд/мин ( $N=14$ ). Trans-NED19 (конечная концентрация 10мкМ) вызывал ингибиторный эффект, и сердечный ритм снижался на  $30 \pm 7\%$ . Увеличение концентрации trans-NED19 до 20мкМ вызывало снижение сердечного ритма на  $42 \pm 5\%$  от величины в контроле, что достоверно не отличалось от величины эффекта при 10мкМ. Сердечный ритм полностью восстанавливался при отмывании в растворе Хэнкса.

Полученные данные показали, что у развивающегося сердца куриного зародыша уже на ранних стадиях развития двупоровые каналы участвуют в спонтанной сократительной активности. Отсутствие достоверного различия величин ингибиторного хронотропного эффекта при концентрациях trans-NED19 10мкМ и 20мкМ может указывать на насыщение соответствующих рецепторов. Можно предположить, что около 40% сократительной активности сердца на этой стадии развития связано с мобилизацией кальция из эндолизосом с участием двупоровых кальциевых каналов, активированных NAADP.

*Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0002 и № 0108-2018-0003. Частично поддержано грантом РФФИ №18-15-00417.*

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗМЕНЯЕТ СТАТУС ТРОМБОЦИТОВ**

Е.Р. Никитина\*, И.В. Миндукшев, К.А. Васильева, С.Г. Петунов, А.И. Кривченко  
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург  
\*e-mail: elena.nikitina@bk.ru

В последние годы появились доказательства того, что тромбоциты играют главную роль в развитии рака. Наиболее важными процессами, вносящими вклад в прогрессирование рака и регулирующиеся тромбоцитами является адгезия и, индуцированная опухолевыми клетками, агрегация тромбоцитов, которые приводят к эмболии микроциркуляции опухоли, миграции опухолевых клеток, инвазии и ангиогенезу. Поэтому на протяжении многих лет интенсивно исследуется противораковый потенциал антитромбоцитарной терапии. Нами были исследованы два класса противоопухолевых препаратов: таксаны (доцетаксел и паклитаксел) и антрациклины (герцептин и эрбитукс). В основе противоопухолевого механизма таксанов лежит их способность полимеризовать белок тубулин, основу микротрубочек клетки, тем самым нарушая способность последних формировать веретено деления и прерывая клеточный цикл опухолевой клетки в фазе митоза. Антрациклины представляют собой лекарственные средства на основе моноклональных антител ( $IgG_1$ ), направленные против рецептора эпидермального фактора роста. Цель исследования: Изучение

влияния противоопухолевых препаратов на функцию тромбоцитов (изменение формы клеток и агрегацию).

Регистрацию трансформации клеток при индукции различными агонистами осуществляли методом малоуглового светорассеяния на лазерном анализаторе «Ласка-ТМ». Из крови здоровых доноров выделяли плазму, обогащенную тромбоцитами. Все эксперименты были сделаны в 1 мл среды. Внесение индукторов (АДФ и тромбоксана (U46619)) проводилось после внесения плазмы, обогащенной тромбоцитами в кювету со средой.

Было показано, что все исследованные препараты подавляют индуцированную АДФ и U46619 агрегацию тромбоцитов, не ингибируя начальную фазу их активации - изменение формы клеток. Данные эффекты проявляются в терапевтическом диапазоне действия препаратов. Причем они в значительно большей степени ингибируют U46619-индуцированную агрегацию, чем агрегацию, вызванную ADP. Полученные данные свидетельствуют о том, что при использовании противоопухолевых препаратов для химиотерапии необходимо учитывать эффект подавления агрегационной активности тромбоцитов.

*Работа выполнена по госзаданию ФАНО России (тема АААА-А18-118012290371-3).*

### **СТЕПЕНЬ ДЕЗАГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ЗАВИСИТ ОТ ВРЕМЕНИ ДОБАВКИ ИЛОПРОСТА**

Е.Р. Никитина\*, И.В. Миндукшев, С.П. Гамбарян, А.И. Кривченко

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

\*e-mail: elena.nikitina@bk.ru

Илопрост – стабильный аналог простаглицина - антиагрегантное средство. Он подавляет агрегацию, адгезию и активацию тромбоцитов; вызывает дилатацию артериол и венул, снижает повышенную сосудистую проницаемость, активирует фибринолиз. Существенным является то, что илопрост способен не только ингибировать начальные стадии активации и агрегации тромбоцитов, но и стимулировать дезагрегацию (распад) уже образованных агрегатов. Цель работы: Оценка способности илопроста индуцировать дезагрегацию на разных стадиях образования агрегатов.

Регистрацию трансформации клеток проводили на конфокальном микроскопе Leica SP5. Все эксперименты были сделаны на PRP в среде, содержащей: 140mM NaCl, 10mM HEPES, 2mM KCl, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM CaCl<sub>2</sub>, 5.5mM D-Glucose, pH 7.4, 300 mOsm. В экспериментах был использован краситель Nile red. Параллельно проводили измерения методом малоуглового светорассеяния на лазерном анализаторе «Ласка-ТМ».

Регистрация активации и агрегации тромбоцитов проводилась в зависимости от времени добавки илопроста (до и после стимуляции 500 нМ АДФ). Было показано, что при внесении в среду с тромбоцитами 5 нМ илопроста не происходило активации тромбоцитов. Максимальная агрегация наблюдалась в течение 7-10 минут при добавлении 500 нМ АДФ к тромбоцитам. При добавлении к агрегированным тромбоцитам (1 минута после внесения 500 нМ АДФ) илопроста в концентрации 5 нМ было отмечено, что происходит полная дезагрегация (распад) образовавшихся агрегатов. Если илопрост был добавлен на более позднем этапе по времени (через 3, 5, 10 мин), то полной дезагрегации не происходило. Илопрост способен индуцировать дезагрегацию тромбоцитов. Но эта способность уменьшается в зависимости от времени существования агрегата. Чем раньше в процессе агрегации был добавлен илопрост, тем выше был процент дезагрегации тромбоцитов (если добавка илопроста вносилась в течение 1

минуты от начала агрегации, то тромбоциты были способны к полной дезагрегации).

*Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012290371-3).*

**СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СЕРТОНЕРГИЧЕСКИХ И ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ ЛИГАНДОВ НА ДЕЛЕНИЯ ДРОБЛЕНИЯ У МОРСКОГО ЕЖА *PARACENTROTUS LIVIDUS***

Д.А. Никишин<sup>1,2</sup>, Ю.Б. Шмуклер<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

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

\*e-mail: yurishmukler@yahoo.com

Галоперидол (30 мкМ) и трифлуоперазин (60 мкМ), блокирующие D<sub>2</sub>-рецепторы млекопитающих, а также блокатор 5-HT<sub>2</sub>-рецепторов ципрогептадин (40 мкМ) и блокатор нескольких подтипов 5-HT<sub>1</sub>-, 5HT<sub>6</sub>- и 5-HT<sub>7</sub>-рецепторов метиотепин (50 мкМ) – при внесении непосредственно после оплодотворения специфически блокировали деления дробления зародышей морского ежа *Paracentrotus lividus*. Эксперименты по защитному действию против этих эмбриостатических эффектов показали, что арахидоноил-серотонин (АА-5-НТ, 100 мкМ) статистически достоверно уменьшал эффект ципрогептадина на 6,9%, арахидоноил-дофамин (АА-ДА, 100 мкМ) уменьшал эффект галоперидола на 12,4%, а оба арахидоновых производных трансммиттеров оказывали достоверное защитное действие против трифлуоперазина (АА-5-НТ – на 29%, АА-ДА – на 30,6%) и метиотепина (АА-5-НТ – на 17,7%, АА-ДА – на 16,0%). При этом дофамин и серотонин достоверного защитного действия не оказывали. Большая эффективность арахидоновых производных по сравнению с трансммиттерами не может быть обусловлена наличием арахидонового остатка, поскольку сама по себе арахидоновая кислота (100 мкМ) ни собственного эффекта, ни защитного действия не имела. Эффект можно объяснить внутриклеточной локализацией соответствующих рецепторов и более высокой способностью этих дериватов проникать в клетку.

Цитостатические антагонисты серотониновых и дофаминовых рецепторов имеют различные эффекты на морфологическое состояние цитоскелета. При действии ципрогептадина наблюдается полное разрушение тубулинового цитоскелета и появление множественных центров полимеризации актина, диффузно расположенных в цитоплазме. Галоперидол не влияет на микрофиламенты, но вызывает нарушение организации веретен делений и формирование ненормально увеличенных асимметрично разветвленных пучков микротрубочек.

Суммарно такие различия эффектов серотонергических и дофаминергических лигандов позволяют предположить, с одной стороны, наличие независимого серотонергического и дофаминергического рецепторных звеньев на этом этапе развития зародышей морских ежей, а с другой, вследствие приблизительно одинаковых защитных эффектов арахидоноилов и дофамина, и серотонина против некоторых лигандов, существенных фармакологических отличий рецепторов зародышей морского ежа по сравнению с млекопитающими.

*Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2018-0003.*

## **ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ ИОНОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ КОРЫ**

М.В. Николаев\*, М.С. Комарова

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

Глутамат — это основной медиатор возбуждения в ЦНС. Повышенная активность глутаматергической системы сопровождается многими заболеваниями нервной системы, приводит к нарушению баланса возбуждение/торможение и дегенеративным процессам. Для снижения патологического уровня возбуждения могут быть использованы антагонисты глутаматных ионотропных рецепторов. Список таких соединений обширен, подробно изучены механизмы их молекулярного действия на глутаматные рецепторы. Тем не менее, этих знаний недостаточно для использования в медицине: большинство антагонистов вызывают серьезные побочные эффекты.

Традиционно, в электрофизиологических экспериментах *in vitro* действие соединений изучается в условиях, когда мембранный потенциал клетки удерживается на заданном уровне. Необходимый для выяснения особенностей взаимодействия лигандов с ионными каналами, этот метод не позволяет оценить влияние соединения непосредственно на функции нейронов.

В данной работе использовался метод фиксации тока, который позволил изучить возбудимость нейронов и ее изменение в присутствии антагонистов глутаматных рецепторов. Эксперименты проводились на пирамидных клетках коры (L2/3). В работе изучено действие нескольких соединений-блокаторов ионной поры глутаматных рецепторов NMDA типа: ИЭМ-1921 (высокая степень «ловушки»), 9AA (блокаторы, действующие по механизму "foot- in-the-door"), мемантин (промежуточная степень «ловушки»). Тормозная передача подавлялась постоянным присутствием пикротоксина (100мкМ). Присутствие соединений не оказывало значительного действия на потенциал покоя нейронов и на пассивные свойства мембран нейронов (входное сопротивление и постоянная времени). Несмотря на то, что вещества были использованы в равноэффективной концентрации ( $10 \cdot IC_{50}$ ), они в разной степени угнетали ВПСП, вызванные электрической стимуляцией синаптических входов. Необходимо отметить, что при парной стимуляции отношение ВПСП2/ВПСП1 значительно не изменялось, что может свидетельствовать о слабом влиянии на пресинаптические NMDA рецепторы. Данная работа иллюстрирует, что прямое исследование эффектов блокаторов на функции нейронов и их возбудимость может быть важным подходом для предсказания эффектов блокаторов в условиях живого организма.

*Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00355.*

## **МОЧЕВАЯ КИСЛОТА – АНТИОКСИДАНТ В СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ ГЛАЗА В ПРЕНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ ЧЕЛОВЕКА**

И.Г. Панова<sup>1</sup> \*, Р.А. Полтавцева<sup>2</sup>, Ю.В. Сухова<sup>2</sup>, Т.Ю. Иванец<sup>2</sup>, А.С. Татиколов<sup>3</sup>,  
Г.Т. Сухих<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*

<sup>2</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии*

*им. акад. В.И. Кулакова, Москва*

<sup>3</sup> *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва*

\*e-mail: pinag@mail.ru

В пренатальном развитии человека глазу требуются специальные условия для его развития в полноценный орган зрения. Одним из механизмов для

корректировки развития глаза является система антиоксидантной защиты. Дисбаланс между продукцией и деградацией свободных радикалов приводит к окислительному стрессу, при этом сверхэкспрессия свободных радикалов является повреждающим фактором для клеток, приводящим к нарушению процессов пролиферации, повреждению липидов, белков, нуклеиновых кислот и т. д.). Во время эмбрионального и плодного развития ткани глаза особенно нуждаются в антиоксидантной защите, прежде всего сетчатка и хрусталик, имеющие высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот, а присутствие кровеносных сосудов (гиалоидные сосуды в процессе роста и регрессии, хориокапилляры сосудистой оболочки, развивающиеся сосуды собственно сетчатки) создает опасность повреждения тканей, вызываемого окислительным стрессом. Ранее в пренатальном развитии человека нами было показано присутствие в стекловидном теле глаза лютеина, альбумина и альфа-фетопротейна, обладающих свойствами антиоксидантов. В настоящей работе в стекловидном теле глаза плодов человека мы показали присутствие еще одного антиоксиданта – мочевиной кислоты. Мочевая кислота – конечный продукт пуринового метаболизма, являющийся сильным тушителем синглетного кислорода и регулятором окислительного стресса. Литературные источники свидетельствуют о взаимосвязи обмена мочевиной кислоты в ЦНС с обменом катехоламинов, дофамина, а также ее нейропротекторные свойства. Показана роль мочевиной кислоты в ремоделировании сосудистой стенки.

Таким образом, стекловидное тело, которое представляет собой самый объемный внеклеточный матрикс глаза человека, расположенный между сетчаткой и хрусталиком, содержит молекулы, обладающие антиоксидантной активностью, обеспечивая защиту сетчатки, хрусталика и самого стекловидного тела от окислительного стресса. Более того, все обнаруженные нами антиоксиданты в стекловидном теле являются биологически активными молекулами и могут участвовать в регуляции пролиферации и дифференцировки сетчатки и хрусталика.

*Работа частично проведена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2018-0005 и РФФИ (проект № 16-03-00735-а).*

### **ДЕЙСТВИЕ МЕМАНТИНА НА ПОСТНАТАЛЬНЫЙ НЕЙРОГЕНЕЗ В ГИППОКАМПЕ: НА ПУТИ К ПОНИМАНИЮ МЕХАНИЗМОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ «РАСХОД» НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

О.В. Подгорный<sup>1,2</sup> \*, Ш. Итаман<sup>1</sup>, О.А. Минеева<sup>3,4</sup>, А.А. Лазуткин<sup>3,4</sup>,  
Г.Н. Ениколопов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Университет штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, Стоуни Брук, Нью-Йорк, США

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

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет),  
Долгопрудный

<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва  
\*e-mail: olegpodgorny@inbox.ru

Нейральные стволовые клетки (НСК) зубчатой извилины гиппокампа продуцируют гранулярные нейроны на протяжении всей жизни млекопитающих. Основная масса НСК находится в покое (непролиферативном) состоянии. Постепенно под воздействием неизвестного стимула покоящиеся НСК активируются и делятся асимметрично ограниченное число раз, давая начало прогениторным клеткам, которые тоже проходят несколько циклов деления и затем становятся зрелыми гранулярными нейронами. Тем временем, сами же НСК утрачивают способность к делению и превращаются в зрелые астроциты. В

результате работы такого конвейера происходит истощение пула НСК с возрастом. Определение механизмов, которые управляют переходом НСК между покоящимся и пролиферативным состояниями, имеет важное значение для понимания функциональной роли нейрогенеза. Однако, из-за отсутствия подходящей экспериментальной модели, мы до сих пор не знаем – каким образом контролируется «расходование» пула НСК?

Мемантин, неконкурентный ингибитор NMDA-рецепторов, который применяется для стабилизации когнитивных функций при болезни Альцгеймера, является единственным на сегодняшний день пронеурогенным фактором, который стимулирует пролиферацию НСК. Существующая модель нейрогенеза допускает несколько возможных сценариев или их комбинацию для объяснения эффекта мемантина: активация покоящихся НСК, индукция симметричных делений НСК и увеличение числа асимметричных делений пролиферирующих НСК.

Для того, чтобы выяснить какой сценарий реализуется, нами была разработана парадигма маркирования делящихся клеток, которая позволяет идентифицировать пул НСК, впервые вошедших в клеточный цикл. Нам удалось прямо показать, что мемантин заставляет НСК выйти из состояния покоя и начать делиться. При этом, полученные результаты исключают сценарий, по которому НСК увеличивают число последовательных асимметричных делений. Долгосрочное же введение мемантина вызывает истощение пула НСК. Таким образом, мы предлагаем простую экспериментальную модель для изучения механизмов, которые управляют переходом НСК между покоящимся и пролиферативным состоянием.

*Работа поддержана грантами: 11.G34.31.0071 (Минобрнауки), 15-29-01305 (РФФИ), 16-15-00294 и 17-15-01426 (РНФ). Выполнено О.В.П. в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН №0108-2018-0005.*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОНОВ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ К АЦЕТИЛХОЛИНУ И НОРАДРЕНАЛИНУ У СТАРЫХ КРЫС**

В.В. Раевский

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
e-mail: vraevsky@mail.ru*

Для процесса старения характерно нарушение когнитивных способностей, включая дефицит памяти. Это коррелирует с уменьшением холинергических маркеров в холинергических ядрах переднего мозга и их кортикальных проекциях. Однако возрастной когнитивный дефицит у крыс и человека также связан с дегенерацией норадренергических нейронов locus coeruleus и его проекций в передний мозг и кору. Участие этих нейротрансмиттерных систем в регуляции корковых рецептивных полей предполагает, что функциональное нарушение баланса возбуждающей и тормозной модуляции может способствовать ухудшению обработки сенсорной информации при старении. В настоящем исследовании были проанализированы возрастные изменения активационных и тормозных реакций нейронов соматосенсорной коры на микроионтофоретическую аппликацию ацетилхолина и норадреналина у 2-3 месячных ( $n = 6$ ) и 14-15 месячных ( $n = 5$ ) крыс Sprague-Dawley. В общей сложности зарегистрирована внеклеточная активность 120 нейронов соматосенсорной коры у молодых (60 нейронов) и старых (60 нейронов) крыс (10-12 нейронов от каждой крысы).

У молодых крыс при аппликации ацетилхолина током 10 нА регистрировали активационные и тормозные реакции в равной пропорции. При увеличении форетического тока до 150 нА выявлено увеличение доли возбуждающих ответов. Аппликация норадреналина вызывала преимущественно тормозную реакцию нейронов коры, и соотношение активационных и тормозных ответов не менялось



с увеличением форетического тока. У старых крыс количество тормозных реакций на ацетилхолин и норадреналин были значимо уменьшено, а количество возбуждающих ответов существенно не изменено. Таким образом, доля тормозных ответов относительно возбуждающих снижена у старых крыс.

Эти данные указывают на возрастной дисбаланс механизмов, лежащих в основе возбуждающей и тормозной модуляции активности нейронов коры ацетилхолином и норадреналином. Поскольку пластичность нейронов коры имеет решающее значение для обработки сенсорной информации при обучении, нарушение тормозных механизмов модуляции в соматосенсорной коре у старых животных может затруднять обработку сенсорной информации и способствовать развитию когнитивного дефицита.

### **РОЛЬ ТРАНСГЛЮТАМИНАЗЫ 3 В МОРФОГЕНЕЗЕ ЭПИДЕРМИСА И ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА**

А.Л. Риппа<sup>1\*</sup>, Э.С. Чермных<sup>1,2</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

\*e-mail: rippa86@yandex.ru

Трансглютаминазы – это группа ферментов, катализирующих образование ковалентных связей между белками в большинстве типов клеток. Они являются важными участниками сигнальной системы клетки и стабилизации ее матрикса. Трансглютаминазы необходимы для формирования и укрепления эпидермального барьера, отмечается дифференциальная локализация и высокая специфичность этих ферментов в процессе кератинизации. В клетках волосяного фолликула трансглютаминаза 3 сшивает небольшие белки: трихогиалин, пролин, инволюкрин, которые необходимы для поддержания межклеточных связей и структуры оболочек волосяного фолликула, стержня волоса. Ценной моделью для исследования роли трансглютаминазы 3 в морфогенезе волосяного фолликула являются мутантные мыши *wellhaarig* (*we*), которые несут мутацию в гене трансглютаминазы 3 (TGM3). Интересно, что у данных мутантных мышей не выявляются очевидные визуальные дефекты в росте волос. Такие мыши характеризуются курчавым шерстяным покровом первой генерации волос, курчавыми и короткими вибриссами. Однако при микроскопии стрижней волос у мутантов нами были обнаружены области агрегации пигмента и нарушение его распределения.

В работе было проведено иммуногистохимическое исследование эпидермиса мутантных мышей в эмбриональном развитии на стадии E18.5. Были выявлены аномалии в развитии эпидермиса и волосяных фолликулов. В эмбриогенезе кожи мутантов обнаружены плакоды волосяных фолликулов, в которых нарушена инвагинация в дерму. Эмбриональный эпидермис мутантов тоньше в сравнении с эпидермисом мышей дикого типа C57Bl6. С помощью маркеров дифференцировки были выявлены нарушения процессов дифференциации кератиноцитов мутантного эпидермиса: уменьшение толщины шиповатого слоя и отсутствие рогового слоя. Следовательно, в эмбриогенезе кожи мутантов происходит задержка морфогенеза волосяных фолликулов, стратификации и ороговения эпидермиса. Нарушение работы эпидермальных трансглютаминаз приводит к нарушению процессов дифференциации клеток и может привести к ошибкам в передаче межклеточных сигналов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-01022

## **ВЛИЯНИЕ AGRP 25-51 НА ДОФАМИН- И НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА**

И.В. Романова\*, А.Л. Михрина, Л.О. Савельева

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург*  
\*e-mail: irinaromanova@mail.ru

Агути-подобный пептид (agouti gene related peptide – AGRP) экспрессируется в нейронах аркуатного ядра гипоталамуса. В ходе посттрансляционных изменений из промолекулы образуется три активных фрагмента AGRP: 25–51, 54–82, 83–132. Фрагмент 83-132 является эндогенным антагонистом меланокортиновых G-белок-связанных рецепторов 3 и 4, через которые меланокортиновые пептиды вызывают активацию цАМФ в нейронах. Функциональное значение других фрагментов не известно. Проекция AGRP-нейронов выявлена в ventral tegmental area (VTA) и locus coeruleus (LC), где расположены тела дофамин- и норадренергических нейронов. Ранее нами был показан тормозный эффект AGRP 83-132 на дофаминергические нейроны мозга. Цель исследования - выяснить возможность влияния AGRP 25-51, который не связан с G-белок-зависимыми механизмами, на нейроны VTA и LC.

Исследование проведено на самках мыши C57Bl/6J (20-22 г). С помощью стереотаксиса под наркозом (0.4 мг/кг хлорал гидрата) над областями 1) VTA (AP=-3.5, L=0.5, V=4.1 мм) или 2) LC (AP=5.5; L=1, V=3.5 мм) билатерально вводили по 0.5 мкл (0.6 нмоль) AGRP 25–51 (PhoenixPeptide Incorp., США) или 0.9 % NaCl (контроль). Через 3 часа после второй инъекции мозг извлекали и сохраняли для анализа методами ВЭЖХ, иммуногистохимии, ПЦР в реальном времени. ВЭЖХ демонстрирует в стриатуме уменьшение уровня дофамина после введения пептида в VTA на 23% ( $p < 0.05$ ) и норадреналина после введения в LC на 54% ( $p < 0.05$ ). Анализ иммуногистохимической реакции срезов мозга демонстрирует уменьшение оптической плотности тирозингидроксилазы (ТГ) фосфорилированной по серину 31 в VTA на 65% ( $p < 0.05$ ) и в LC на 47% ( $p < 0.05$ ). После введения пептида в LC выявлено уменьшение мРНК ТГ на 31% ( $p < 0.05$ ), ноадреналин-транспортера на 95% ( $p < 0.05$ ), но не наблюдали изменения мРНК дофамин-бета-гидроксилазы.

Наши результаты демонстрируют функциональную взаимосвязь меланокортиновой системы гипоталамуса с дофаминергической системой среднего мозга и норадренергической системой LC, а также функциональную роль фрагментов AGRP на активность и экспрессию ферментов биосинтеза дофамина и норадреналина через различные механизмы внутриклеточной сигнализации.

*Исследование проведено по госзаданию ФАНО (№АААА-А18-118012290372-0).*

## **ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ПОДАВЛЕНИЕ АНТАГОНИСТОМ NAA DP ДЕЙСТВИЯ НОРАДРЕНАЛИНА НА ТОНУС АОРТЫ КРЫСЫ**

Е.Ю. Рыбакова, И.Л. Жарких, П.В. Авдонин\*

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*  
\*e-mail: pva1030@yandex.ru

NAADP (nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate) является вторичным мессенджером, участвующим в высвобождении ионов кальция из внутриклеточных органелл через двупоровые каналы. Двупоровые каналы (two-pore channels, TPC) – семейство эволюционно древних ионных каналов, локализованных в мембране эндолизосом клеток животных и в вакуолярной мембране растительных клеток. Каналы TPC, в частности, были обнаружены в эндотелиальных и гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, однако их роль в нейроэндокринной регуляции сосудистого тонуса не установлена.

Соединение NED19 является антагонистом NAADP, ингибирует высвобождение кальция через двупоровые каналы и может быть использовано для определения их физиологической функции. NED19 существует в виде *cis*- и *trans*-стереоизомеров. Цель исследования – выяснить роль двупоровых каналов в регуляции сосудистой сократимости при действии гормонов и нейротрансмиттеров.

В качестве объекта исследования использовали изолированную аорту крысы. Силу сокращения колец аорты измеряли в изометрическом режиме. При определении концентрационной зависимости действия норадреналина (НАдр) на сосудистую сократимость было показано, что оба изомера NED19 ингибируют сокращение аорты. *cis*-NED-19 в концентрации 10 мкМ полностью устраняет сокращение в ответ на НАдр в концентрациях  $10^{-9}$ - $10^{-5}$ М. При дальнейшем повышении концентрации НАдр влияние *cis*-NED19 ослабевает, однако даже при  $10^{-4}$ М НАдр этот стереоизомер уменьшает силу сокращения аорты на 17.5+% ( $n=15$ ;  $p<0.05$ ). *trans*-NED19 подавляет сократительный ответ на НАдр с меньшей эффективностью, однако в его присутствии 10 мкМ *trans*-NED19 зависимость доза-эффект для НАдр также сдвигается вправо ( $K_{50}$  для НАдр увеличивается от  $3 \times 10^{-8}$  М до  $10^{-6}$  М). Как и в случае с *cis*-NED19 частичное ингибирование сократительного ответа сохраняется даже при высоких концентрациях НАдр. При действии изомеров NED19 в концентрации 30 мкМ на предсокращённый норадреналином сосуд в концентрации  $10^{-4}$ М, они оба вызывают частичное расслабление аорты. *cis*- и *trans*-NED19 в концентрации 30 мкМ не подавляли действие серотонина в концентрации  $10^{-7}$ - $10^{-5}$ М, а также действие ангиотензина II и вазопрессина.

Стереоизомеры NED19 вызывают избирательное подавление сокращения изолированной аорты крысы в ответ на норадреналин, что свидетельствует об участии двупоровых кальциевых каналов в реализации действия этого нейротрансмиттера на тонус кровеносных сосудов.

*Работа поддержана Российским научным фондом (грант №18-15-00417).*

### **ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРО- И АНТИАПОПТОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ВАХ И BCL2 ПРИ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА КРЫС**

Ю.Р. Рыжов, И.И. Зорина\*, Л.В. Баюнова, И.О. Захарова

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

*\*e-mail: zorina.inna.spb@gmail.com*

Ишемия мозга является важным элементом патогенеза многих заболеваний и патологий ЦНС. Инсулин обладает нейромодулирующим и нейропротекторным эффектами, но механизм его защитного действия в ЦНС изучен недостаточно. Исследования защитного действия интраназально вводимого инсулина (ИИ) при ишемии мозга отсутствуют, несмотря на его доказанный терапевтический потенциал при болезни Альцгеймера. Целью нашей работы является изучение влияния ИИ крысам, подвергнутым ишемии и реперфузии мозга (ИР), на экспрессию генов про- и антиапоптотических белков Вах и Bcl2 в коре головного мозга.

Двухсосудистую ишемию переднего мозга вызывали у крыс линии Вистар (300 г) путем окклюзии каротидных артерий на 20 мин в сочетании с гипотензией. Затем проводили реперфузию мозга в течение 1 ч. ИИ в дозе 0.5 IU вводили крысам за 1 ч до окклюзии. Оценку экспрессии генов методом количественной ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией осуществляли в смеси, содержащей 10 нг кДНК, по 0.4 мкМ прямого и обратного праймеров и qPCRmix-*HS SYBR + LowROX* («Евроген», Россия). Расчет уровня экспрессии целевого гена

(*bax*, *bcl2*) проводили по методу ΔΔСТ, используя экспрессию гена 18S рНК в качестве референса. Данные представлены как  $M \pm SEM$ .

В коре мозга крыс, подвергнутых ИР, происходило достоверное уменьшение экспрессии гена *bax* ( $0.56 \pm 0.09$  отн. ед.) и *bcl2* ( $0.54 \pm 0.06$  отн. ед.) по сравнению с контрольной группой ( $1.04 \pm 0.10$  и  $0.92 \pm 0.05$  отн. ед., соответственно). Интраназальное введение 0.5 IU инсулина крысам, перенесшим ИР, повышало экспрессию гена антиапоптотического белка *Bcl2* ( $1.08 \pm 0.16$  отн. ед.) до уровня контрольных значений, но не экспрессию *bax* ( $0.71 \pm 0.09$  отн. ед.). Показанное нейропротекторное действие инсулина при развитии окислительного стресса в первичной культуре нейронов, опосредованное активацией инсулином 3-фосфоинозитидного пути, увеличением образования *Bcl-2* и уменьшением отношения *Bax/Bcl-2*, возможно имеет место и *in vivo* при обработке крыс, перенесших ИР, с помощью ИИ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 18-315-00285) и государственного задания ФАНО России (№ АААА-А18-118012290427-7).

## **ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИГРОСТРИАТНОЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ НА ДОСИМПТОМНОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

В.В. Сафандеев<sup>1\*</sup>, М.В. Угрюмов<sup>1</sup>

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

\*e-mail: visa.doc@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – социально-значимое, вялотекущее заболевание с длительным (десятилетия) скрытым периодом развития, которое, несмотря на усилия клиницистов, приводит к инвалидизации и летальному исходу. Это объясняется поздним диагностированием и началом лечения после гибели большей части нигростриатных дофаминергических нейронов – ключевого звена регуляции двигательной функции. Единственная надежда на успех связана с разработкой ранней (доклинической) диагностики БП, задолго до проявления двигательных симптомов, а также нейропротекторной терапии, направленной на замедление гибели нейронов. Нами впервые в психиатрии и неврологии предложено использовать для ранней (доклинической) диагностики БП провокационный тест, основанный на обратимом ингибировании синтеза ДА с помощью α-метил-п-тирозина (αМПТ). При этом мы предположили, что такой тест может быть использован не только для ранней диагностики БП, но и для определения степени деградации нигростриатной ДА-ергической системы на доклинической стадии, что важно для прогнозирования течения заболевания и оптимизации терапии. Поэтому целью данной работы было определение минимальных доз αМПТ, в которых он вызывает нарушение моторики у мышей на моделях доклинической стадии БП при различной степени деградации дофаминергической системы. Для этого нужно было решить следующие задачи: определить минимальную дозу αМПТ, вызывающую нарушение двигательной функции у мышей при моделировании ранней доклинической стадии БП (снижение ДА в стриатуме менее, чем на 40%) и определить минимальную дозу αМПТ, вызывающую нарушение двигательной функции у животных при моделировании поздней доклинической стадии БП (снижении ДА в стриатуме более, чем на 40%, но менее, чем на 65%). БП моделировали на мышах линии C57Bl/6 в возрасте 8-9 недель с помощью пронеуротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП). В рамках первой задачи была подобрана минимальная доза αМПТ (75 мг/кг), приводившая к нарушению двигательной функции на модели ранней доклинической стадии БП, при снижении уровня ДА в стриатуме на 20%. В результате решения второй задачи была подобрана

минимальная доза αМПП (50 мг/кг), вызывавшая нарушение двигательной функции на модели поздней доклинической стадии БП, при снижении уровня ДА в стриатуме на 53%.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные показывают, что провокационный тест может быть использован не только для ранней диагностики БП, но и для оценки степени деградации nigrostriatalной ДА-ергической системы мозга.

*Работа проведена в рамках НИР государственного задания № 0108—2018-0006.*

## **ЭКСПРЕССИЯ АУТОАНТИГЕНОВ ПУЗЫРЧАТКИ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ**

Е.В. Свирщевская<sup>1</sup>\*, Е.В. Матушевская<sup>2</sup>, О.Д. Коцарева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

<sup>2</sup> *Институт повышения квалификации ФМБА, Москва*

\*e-mail: esvir@mail.ibch.ru

Акантолитическая пузырьчатка характеризуется повреждением эпидермиса кожи, вызванного аутоантителами к белкам межклеточной адгезии кератиноцитов десмоглеинам (ДСГ) 1 и 3. Межклеточные контакты (десмосомы) кератиноцитов формируются комплексом белков, из которых внеклеточная часть ДСГ 1 и 3 непосредственно формирует связь между соседними клетками. Адгезия эпителиальных клеток внутренних органов обеспечивается гомологичным белком - ДСГ2. Поджелудочная железа (ПЖ) секретирует желудочные ферменты в виде зимогенов, что предотвращает переваривание самой железы и инсулин-секретирующих клеток островков Лангерганса. Предположительно, экспрессия ДСГ 1 и 3 на клетках ПЖ может являться дополнительной защитой от зимогенов. Целью данной работы был анализ экспрессии ДСГ 1, 2 и 3 на клетках ПЖ. Экспрессию оценивали с помощью антител к ДСГ 1, 2 и 3 методом конфокальной микроскопии с использованием панели опухолевых клеточных линий ПЖ, линии нормальных кератиноцитов HaCaT, а также биоптатов кожи и ПЖ, полученных после операции по удалению опухоли ПЖ. Показали, что на клетках линий ПЖ конститутивно экспрессируются ДСГ 2 и 3, в меньшей степени ДСГ1. Для оценки экспрессии ДСГ 1 и 3 клетками ПЖ использовали фрагменты здорового участка биоптата. Показали, что клетки ПЖ человека экспрессируют ДСГ 1, 2 и 3. Биоптаты кожи экспрессируют ДСГ 1 и 3, но не ДСГ2. Таким образом, при аутоиммунной пузырьчатке возможен патогенный процесс в ПЖ, что может вызвать развитие диабета. Показано, что частота диабета 2 типа у больных пемфигусом достоверно выше, чем в среднем по популяции. Описана диабетическая пузырьчатка, имеющая две формы: с формированием интраэпидермальных пузырей, что характерно для вульгарной пузырьчатки, опосредованной формированием антител к ДСГ 3, или субэпидермальных пузырей, характерных для листовидной пузырьчатки при формировании антител к ДСГ1. Более того, у больных пузырьчаткой достоверно чаще встречается аутоиммунный тиреоидит и ревматоидный артрит.

Таким образом, повышение частоты диабета при пузырьчатке может быть вызвано аутоантителами к ДСГ 1 и 3.

*Работа выполнена при поддержке программы президиума РАН № 32 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий».*

## **ЗНАЧЕНИЕ ЛИПИДНЫХ ПЛОТИКОВ ДЛЯ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОЙ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ NMDA РЕЦЕПТОРОВ**

Д.А. Сибаров\*, Е.Э. Погужельская, С.М. Антонов

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

Кальций-зависимая десенситизация (КЗД) N-метил-D-аспартат чувствительных рецепторов глутамата (NMDAR) определяется накоплением ионов кальция рядом с внутриклеточным доменом рецептора вблизи внутренней поверхности плазматической мембраны. Ранее нами показано, что быстрое удаление ионов кальция входящих через пору NMDAR натрий кальциевым обменником (NCX) существенно ограничивает КЗД NMDAR. Такое тесное и быстрое взаимодействие становится возможным в случае сближения NMDAR и NCX ближе 50-200 нм, что имеет место в липидных плотиках плазматической мембраны. Нами показано, что ингибирование NCX специфическим блокатором KB-R7943 или его субстрат-зависимое ингибирование ионами лития приводит к снижению токов через NMDAR. Пространственное разобщение NMDAR и NCX достигалось за счет разрушения липидных плотиков при экстракции холестерина метил-бета-циклодекстрином. В этих условиях токи NMDAR снижались за счет усиления КЗД и дефицита кальций-независимого потенцирования NMDAR холестерином. Ингибирование NCX на фоне разрушения липидных плотиков не приводило к дополнительному снижению токов NMDAR, а также не подавляло накопление внутриклеточного кальция, детектируемого при помощи fluo-3. Таким образом, для функционального взаимодействия NMDAR и NCX требуется их колокализация в липидных протиках. Амплитуда токов NMDAR зависит от равновесия между входом кальция через канал рецептора и его удаления NCX из области под липидными плотиками, прилегающей к внутриклеточному домену NMDAR.

*Поддержано Российским Научным Фондом 16-15-10192.*

## **ГЕТЕРОСИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ, ВЫЗВАННАЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ТЕТАНИЗАЦИЕЙ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ НЕОКОРТЕКСА, ЗАВИСИТ ОТ РАСПОЛОЖЕНИЯ СИНАПСОВ НА ДЕНДРИТНОМ ДРЕВЕ**

Н.А. Симонова\*, А.Ю. Малышев

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*  
\*e-mail: nsimonova.ihna@gmail.com

Синаптическая пластичность является основным механизмом обучения и памяти у человека и животных. Помимо наиболее изученной ассоциативной (Хеббовской) пластичности существует еще ее малоизученный тип, называемый неассоциативной или гетеросинаптической пластичностью. Модельные исследования показывают, что сеть, построенная только на Хеббовских принципах, оказывается нестабильной. Гетеросинаптическая пластичность может помочь решить эту проблему, нормализуя изменения в синапсах. Предыдущие исследования показали, что правила, по которым возникает ассоциативная пластичность, зависят от локализации синаптического входа на дендритном древе нейрона. В то же время, роль местоположения синапса в проявлении гетеросинаптических изменений не известна. Мы использовали локальную стимуляцию синапсов проксимальных и дистальных дендритов пирамидных клеток 2/3 слоя срезов зрительной коры крысы с использованием стеклянного монополярного электрода. Для индукции гетеросинаптической пластичности применялась несочетанная внутриклеточная тетанизация постсинаптического нейрона. Ранее было найдено, что подобная тетанизация может вызывать в

различных синаптических входах регистрируемого нейрона депрессию или потенциацию, причем направление изменений связано с исходной вероятностью выброса медиатора в данном синапсе. Мы показали, что доля депрессии и потенциации различалась для проксимальных и дистальных входов. После внутриклеточной тетанизации депрессия наблюдалась в большинстве дистальных входов и практически не возникала в проксимальных. В то же время потенциация чаще обнаруживалась при тестировании проксимальных синапсов (44% зарегистрированных входов) по сравнению с дистальными (20% входов). Наблюдаемые различия могут быть объяснены тем, что потенциалы действия, используемые для тетанизации, могут доходить до проксимальных синапсов со значительным затуханием, в результате чего вход кальция в клетку будет существенно меньше, чем в дистальные синапсы. В результате этого процент развития синаптической депрессии в удаленных входах оказывается большим. Возможно Полученные результаты свидетельствуют о том, что расположение синапса на дендритном дереве нейрона является одним из определяющих факторов при индукции гетеросинаптической пластичности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-015-00397.*

### **РОЛЬ ГЕТЕРОСИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ В ФОРМИРОВАНИИ ЗРИТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЕЙ КОРКОВЫХ НЕЙРОНОВ**

И.В. Смирнов<sup>1</sup>, М.А. Волгушев<sup>1,2</sup>, А.Ю. Малышев<sup>1</sup> \*

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

<sup>2</sup> Университет Коннектикута, Storrs, Коннектикут, США

\*e-mail: malyshev.ihna@gmail.com

Хеббовская ассоциативная пластичность является основой клеточных механизмов обучения и памяти. Однако, как показывают теоретические исследования, нейронная сеть, построенная исключительно на Хеббовских принципах, чрезвычайно нестабильна и стремится к дисбалансу. Решением этой проблемы может стать имплементация в модели обучающихся нейронных сетей неассоциативной гетеросинаптической пластичности. Однако, механизмы этой формы пластичности в настоящее время мало изучены. Одним из первых и очень удачных экспериментальных протоколов для исследования гетеросинаптической пластичности, является несочетанная внутриклеточная тетанизация постсинаптического нейрона. Было показано, что внутриклеточная тетанизация коркового нейрона пачками потенциалов действия с частотой 50-100 Гц внутри пачки приводит к тому, что часть синаптических входов на данный нейрон потенцируется, часть подвергается долговременной депрессии, а часть не меняется. Поскольку существование гетеросинаптической пластичности, вызванной внутриклеточной тетанизацией, было показано лишь на переживающих срезах мозга, в настоящее время не ясно существует ли данный феномен в целом мозге и принимает ли участие в функционировании нейронных сетей *in vivo*. Для изучения этого вопроса мы провели серию экспериментов с внутриклеточной регистрацией активности нейронов методом петч-клямп в конфигурации целая клетка на зрительной коре наркотизированных мышей *in vivo*. Для оценки состояния синаптических входов тетанизируемой клетки мы применяли картирование зрительного рецептивного поля данного нейрона при помощи вспыхивающих локальных световых стимулов. Ответы пирамидного нейрона 2/3 слоя на зрительные стимулы и структура его рецептивного поля определяется главным образом синаптическими входами от локальных нейронных микросетей. Таким образом, изменение эффективности синаптических входов на регистрируемый нейрон могут приводить к изменению его ответов на локальные зрительные стимулы и рецептивного поля. Результаты проведенных нами первых

экспериментов показывают, что внутриклеточная тетанизация коркового нейрона 2/3 слоя зрительной коры может вызывать изменение структуры его рецептивного поля.

Полученные данные впервые демонстрируют, что внутриклеточная тетанизация (пачки потенциалов действия в постсинаптическом нейроне), может индуцировать гетеросинаптическую пластичность, которая, в свою очередь, может играть важную роль в работе корковых микросетей *in vivo*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-015-00397.*

### **ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ M<sub>1</sub>-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫСЫ В ДВУХ МОДЕЛЯХ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ПАРАОКСОНОМ**

В.Е. Соболев<sup>1</sup>, В.И. Шмурак<sup>1</sup>, Н.В. Гончаров<sup>1,2</sup> \*

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека  
ФМБА, Кузьмоловский

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

\*e-mail: ngoncharov@gmail.com

Поскольку значительная часть токсикологических исследований фосфорорганических соединений проводится на грызунах, необходимо учитывать наличие в крови грызунов карбоксилэстеразы (КЭ), которая, будучи сериновой эстеразой, стехиометрически связывает ФОС, модулируя тем самым состояние интоксикации и развитие отставленной патологии. Для подавления КЭ используют различные ингибиторы КЭ, наиболее известным из которых является 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксафосфорин-2-оксид (СВDP). Другой способ моделирования острого отравления ФОС на грызунах состоит в том, что ФОС вводят двукратно с интервалом 1 час. В литературе описаны эффекты down-регуляции субтипов M<sub>1</sub> и M<sub>2</sub>-холинорецепторов в головном мозге крыс при воздействии ФОС однократно без предварительного подавления активности КЭ. Цель исследования - иммуногистохимическая идентификация мускариновых рецепторов M1 в нейронах неокортекса, гиппокампа и стриатума в разные сроки после острого отравления параоксоном после предварительного ингибирования КЭ параоксоном и СВDP. Эксперимент включал три группы сравнения: 1 - интактный контроль; 2 - интоксикация параоксоном в дозе 0,6ЛД50 через час после введения параоксона в дозе 0,45ЛД50 (РОХ2х); 3 - интоксикация параоксоном в дозе 0,6ЛД50 через час после введения СВDP в дозе 3,3 мг/кг в/б (СВРОХ). Наблюдения за животными продолжались в течение 6 недель после отравления. Наибольшие изменения выявлены в гиппокампе крыс 3-й группы в период до 4 недель после отравления. В неокортексе отравленных крыс через 3 сут отмечено уменьшение плотности M<sub>1</sub>-позитивных клеток, с последующим их увеличением через 2 нед после отравления. Стриатум крыс оказался наименее подвержен изменениям плотности M<sub>1</sub>-позитивных клеток вследствие отравления: незначительное увеличение плотности клеток отмечено только через 1 нед после отравления. Увеличение плотности M<sub>1</sub>-позитивных нейронов наблюдается преимущественно в группе СВРОХ, что свидетельствует о существенной роли карбоксилэстераз в модуляции токсикодинамического ответа при острой интоксикации параоксоном и, вероятно, других ФОС. Возможная взаимосвязь карбоксилэстеразной активности и экспрессии M-рецепторов требует дальнейшего изучения.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №16-15-00199).*



**ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ В МЕХАНИЗМАХ СОХРАНЕНИЯ, НАРУШЕНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПАМЯТИ УСЛОВНОЙ ПИЩЕВОЙ АВЕРСИИ**

С.В. Солнцева<sup>1</sup>\*, С.А. Козырев<sup>2</sup>, В.П. Никитин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, Москва*

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*  
\*e-mail: sols3@yandex.ru

Одним из ключевых механизмов формирования и поддержания памяти у млекопитающих и моллюсков является метилирование ДНК, дифференциально регулирующее экспрессию генов. Однако, многие вопросы, касающиеся участия процессов метилирования в механизмах памяти и развития амнезии остаются неясными. В данной работе исследовали участие процессов метилирования ДНК в механизмах сохранения памяти, ее реконсолидации, индукции амнезии, а также восстановления памяти условной пищевой аверсии у виноградных улиток. Обнаружено, что ежедневные инъекции ингибитора ДНК-метилтрансфераз в течение 3-х дней, сочетанные с напоминанием условным пищевым стимулом не влияли на сохранность памяти. Этот результат согласуется с данными, полученными ранее, в соответствии с которыми реконсолидация памяти не нарушалась ингибиторами синтеза РНК. Можно предположить, что белки, необходимые для процессов реконсолидации памяти, транслируются с ранее синтезированных мРНК, находящихся в неактивном, «депонированном» состоянии. Ранее мы также показали, что ингибиторы синтеза РНК подавляли развитие амнезии, вызываемое применением антагониста NMDA рецепторов глутамата перед напоминанием. Вместе с тем, в настоящей работе не обнаружено влияния ингибиторов ДНК-метилтрансфераз на индукцию NMDA-зависимой амнезии. Однако, ДНК-метилтрансферазы вовлечены в другие механизмы развития амнезии. Выявлено, что назначение ингибиторов ДНК-метилтрансфераз/напоминания через 3 дня после индукции NMDA-зависимой амнезии, приводило к восстановлению памяти. Предположено, что напоминание у амнезированных животных вызывает реактивацию остаточной, ослабленной памяти, а изменение в это время метилирования/деметилирования ДНК приводит к усилению памяти и ее экспрессии на уровне поведения. Альтернативное предположение – амнезия является активным процессом, а напоминание вызывает реактивацию процессов амнезии, включающую метилирование/деметилирование ДНК. Применение ингибиторов ДНК-метилтрансфераз в это время приводит к нарушению процессов развития амнезии и восстановлению памяти. Данные литературы и полученные нами результаты позволяют предположить, что процессы метилирования ДНК дифференциально вовлечены в механизмы памяти при разных формах обучения, а также в механизмы индукции и развития амнезии.

**КАЛЬПАИН В КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВЫБРОСА АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

Е.О. Тарасова\*, А.Е. Гайдуков, О.П. Балезина

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва*  
\*e-mail: cate1990@list.ru

Кальпаин относится к нейтральным  $Ca^{2+}$ -зависимым протеазам, участвующим в апоптозе. Однако роль кальпаина была показана и в регуляции нормальной работы нейронов и секреции медиатора. В нервно-мышечных синапсах млекопитающих роль кальпаина в регуляции выброса ацетилхолина (АХ) до сих пор не была детально исследована.

Работа проводилась на изолированном нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши. Внутриклеточная регистрация миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и вызванных стимуляцией нерва (50 Гц, 1 сек) потенциалов концевой пластинки (ПКП) осуществлялась с помощью стеклянных микроэлектродов.

Ингибирование кальпаина при помощи PD150606 приводило к увеличению квантового состава (КС) ПКП в залпе, которое предотвращалось блокированием L-типа  $Ca^{2+}$ -каналов нитрендипином. Это позволяет предполагать участие кальпаина в торможении работы  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа, находящихся обычно в латентном состоянии. Кальпаин мог как прямо подавлять L-тип каналов, так и действовать на работу его тормозных регуляторов - кальцинейрина либо ВК-каналов. Ингибирование ВК-каналов (паксиллином) либо кальцинейрина с помощью CsA действительно приводит к растормаживанию активности  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа и приросту КС ПКП в залпе. Однако ингибитор кальпаина PD150606 на фоне предварительного действия паксиллина и CsA мало того, что утрачивал своё потенцирующее действие на секрецию АХ, но и вызывал подавление КС ПКП вплоть до контрольного уровня. Это свидетельствует о том, что ВК-каналы и кальцинейрин не являются мишенями обнаруженного нами регуляторного тормозного действия кальпаина на секрецию АХ, и позволяет предполагать способность кальпаина непосредственно подавлять активность L-типа  $Ca^{2+}$ -каналов, наряду с другими известными тормозными воздействиями на этот тип каналов в моторных терминалях.

Таким образом, впервые в моторных синапсах мыши обнаружено двунаправленное регуляторное воздействие на секрецию АХ со стороны кальпаина. Тормозное действие кальпаина на выброс АХ проявляется при обычной работе синапсов, и одной из мишеней фермента, по-видимому, являются сами  $Ca^{2+}$ - каналы L-типа, способные растормаживаться и облегчать секрецию АХ при подавлении активности кальпаина. Обнаружена способность кальпаина оказывать и облегчающее влияние на выброс АХ, проявляющаяся на фоне растормаживания  $Ca^{2+}$ - каналов L-типа и усиления входа  $Ca^{2+}$  в терминаль по этим каналам. Конкретные мишени облегчающего действия кальпаина в этих условиях требуют дальнейших исследований.

### **ПАННЕКСИН 1 В СОСУДИСТОМ РУСЛЕ: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМОЙ**

О.С. Тарасова<sup>1,2,3</sup> \*, О.О. Кирюхина<sup>2,3</sup>, Д.К. Гайнуллина<sup>1,2</sup>, Ю.В. Панчин<sup>3,1</sup>,  
В.И. Шестопапов<sup>3,4</sup>

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

<sup>2</sup> *Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

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

<sup>4</sup> *Университет Майами, Корал-Гейблз, Флорида, США*

\*e-mail: ost.msu@gmail.com

Паннексины были открыты в геноме позвоночных в 2000 г. как гомологи иннексинов – белков щелевых контактов беспозвоночных животных. У позвоночных животных паннексиновые каналы являются одним из ключевых путей выделения из клеток аденозинтрифосфата (АТР), а наиболее распространенным является паннексин 1 (Panx1). Целью нашей работы было изучение вазомоторных реакций у мышей с глобальным нокаутом гена Panx1 по сравнению с мышами дикого типа. Исследования проводили на подкожной и базилярной артериях с использованием методик миографии и количественной ПЦР. Нами впервые показана роль Panx1 в функционировании сосудистого

эндотелия и установлено, что характер влияния P $\alpha$ x1 может зависеть от типа артерии, ее диаметра, содержания P $\alpha$ x1, его локализации в сосудистой стенке и проявления компенсаторных изменений в пуринаргической системе. Содержание мРНК P $\alpha$ x1 в артериях головного мозга значительно выше, чем в периферических артериях. Релаксирующее влияние эндотелия у нокаутных мышей уменьшено в более крупной подкожной артерии, но, напротив, увеличено в более мелкой базилярной артерии. В базилярной, но не в подкожной артерии нокаут гена P $\alpha$ x1 сопровождается компенсаторным повышением реакций сокращения и расслабления на АТФ, увеличением содержания мРНК P2Y1 рецепторов и уменьшением содержания мРНК эктонуклеотидазы CD39. В базилярной артерии мышей дикого типа гидролиз АТФ с использованием апиразы приводит к уменьшению эндотелий-зависимого расслабления в нормальных условиях и, напротив, к увеличению этой реакции в условиях гиперкапнического ацидоза, что может быть связано с изменением вклада различных P2Y-пуринарецепторов в вазомоторное влияние АТФ. У нокаутных мышей такие эффекты апиразы не проявляются. Это говорит об участии P $\alpha$ x1 в регуляции тонуса артерий мозга как в норме, так и при закислении ткани головного мозга.

*Работа поддержана Российским научным фондом (грант №17-15-01433).*

### **КОНЦЕПЦИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ МОЩНОСТИ ВЕЩЕСТВ**

М.А. Терпиловский<sup>1</sup>, А.Д. Надеев<sup>1,2</sup>, И.В. Кудрявцев<sup>3</sup>, М.К. Серебрякова<sup>3</sup>,  
Н.В. Гончаров<sup>1,4</sup> \*

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

<sup>2</sup> *Институт биофизики клетки РАН, Пущино*

<sup>3</sup> *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*

<sup>4</sup> *Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА,  
Кузьмоловский*

\*e-mail: ngoncharov@gmail.com

Апоптоз — это процесс запрограммированной клеточной гибели, являющийся важнейшим этапом жизнедеятельности клеток и тканей. Актуальность разработки новых методов оценки механизмов клеточной гибели крайне высока. В литературе используются два показателя для оценки апоптозного действия веществ: апоптозный потенциал и апоптозный индекс. Данные показатели во многом субъективны и не подходят для репрезентативной оценки цитотоксического действия.

В настоящей работе мы предлагаем концепцию цитотоксической мощности в качестве обобщающей альтернативы для количественной оценки механизмов гибели клеток. Важнейшей составляющей концепции цитотоксической мощности является индекс ***I***, численно характеризующий развитие цитотоксического процесса. В клетках выявляются маркеры, концентрация которых градуально увеличивается или уменьшается при их гибели. Доза цитотоксического вещества влияет на уровень экспрессии маркера. Каждый маркер можно представить как дискретное и относительно устойчивое внутриклеточное структурно-функциональное образование (фен, *F*); тогда  $I = F / t$ .

Алгоритм вычисления цитотоксической мощности сводится к трем этапам: 1) выявить интервал действующих концентраций вещества; 2) определить аппроксимирующие функции; 3) вычислить интегралы от функций, выражающих зависимость процента гибели клеток (*y*) от дозы вещества (*x*, концентрация вещества/1000 клеток). Условной единицей измерения цитотоксической мощности предложено считать «мольфен/1000 клеток/час» — концентрация вещества,

влияющая на количество функционально сопряженных фенотипических маркеров (фенов) за 1 час воздействия на 1000 клеток.

Данные наших экспериментов показывают, что введение в индекс маркеров, специфических для определенных клеток (и неспецифических по критерию цитотоксичности), позволяет повысить чувствительность и специфичность. Концепция полезна для разработки новой методологии цитофизиологического скрининга препаратов, обладающих цитотоксическим действием.

*Выполнено в рамках государственного задания ФАНО России (программа АААА-А18-118012290142-9).*

### **АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ЭКСПРЕССИИ БТШ70 В ПОПУЛЯЦИЯХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ С РАЗВИТИЕМ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

Ю.Д. Тетерина, А.А. Бойко, Н.И. Троянова, М.В. Гречихина, Т. Л. Ажикина,  
Е.И. Коваленко, А.М. Сапожников\*

*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва*

\*e-mail: amsap@ibch.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - одно из наиболее распространенных в мире нейродегенеративных заболеваний. Хорошо известно, что в прогрессировании БП важную роль играют изменения внутриклеточного белкового гомеостаза в нервной ткани, зависящего от адекватной работы шаперон-ассоциированной системы белков теплового шока семейства 70 кДа (БТШ70). Мы предположили, что у больных БП нарушения, связанные с функционированием этой группы протеинов, могут иметь системный характер и наблюдаться не только в нервной ткани, но и в клетках иммунной системы. Действительно, в последние годы была продемонстрирована взаимосвязь микроглиального нейровоспаления при БП с системными иммунными изменениями, в том числе и на периферии. В настоящее время существуют многочисленные свидетельства о сигнальной роли БТШ70 в популяциях клеток иммунной системы, вовлеченных в воспалительные процессы. Поэтому в данной работе был проведен анализ изменений экспрессии БТШ70, а также характеристик важного для белкового гомеостаза процесса аутофагии, в популяциях лейкоцитов периферической крови на фоне развития БП. В результате было установлено, что на уровне работы шаперонной системы белкового гомеостаза и процесса аутофагии в популяциях лейкоцитов периферической крови на фоне развития БП наблюдаются различия между группами пациентов с БП и здоровых доноров. Было продемонстрировано, что в группе БП происходят изменения на уровне транскрипции определенных стресс-индуцируемых генов *HSPA*, кодирующих белки-шапероны Hsp70, которые участвуют в процессе стабилизации и элиминации агрегированных белков, задействованных в патогенезе БП. В исследовании системы аутофагии были зарегистрированы изменения на уровне синтеза белка p62, который также участвует в процессе элиминации денатурированных протеинов. Указанные различия могут рассматриваться как потенциальные периферические биомаркеры развития болезни Паркинсона, использование которых в клинической практике может расширить существующие подходы к диагностике и к анализу течения данного заболевания.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 16-15-10404.*

**БЕЛКОВО-ПЕПТИДНЫЕ КОМПЛЕКСЫ АНГИОТЕНЗИНОВ:  
ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ УЧАСТИЕ В СИГНАЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ**

С.М. Толпыго\*, Л.В. Лагутина

*Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*

\*e-mail: lab\_motiv@mail.ru

Проведен сравнительный анализ биологической активности свободных регуляторных пептидов (РП) и их искусственно синтезированных комплексов с белками-носителями (на примере вазоактивных и опиоидных пептидов). Обнаружено, что белково-пептидные комплексы (БПК) по сравнению с нативными РП характеризуются расширением и интерференцией спектров активности, пролонгированными и интенсивными физиологическими эффектами, селективно влияют на врожденное и приобретенное поведение.

Ренин-ангиотензиновая система (РАС) – одна из важнейших эндогенных гормональных систем в организме, пептидные компоненты которой широко вовлечены в регуляцию метаболизма (водно-солевой обмен, гемодинамика, эмоциональный стресс, воспаление, гуморальный и клеточный иммунитет и др.). При изучении ангиотензинов – эффекторных пептидов РАС, проявляющих отчетливую плейотропность физиологического действия показано, что физиологическая активность БПК отчетливо модулируется функционально различными белками, входящими в их состав (транспортный белок плазмы крови – бычий сывороточный альбумин – БСА и  $Ca^{+2}$ -связывающий белок S100b). Продемонстрированы эффекты введения свободных и связанных с белками ангиотензинов – I – IV (A-I, A-II, A-III и A-IV) на врожденное и приобретенное питьевое поведение, а также показатели гемодинамики у крыс. Выявлено, что БПК A-II и A-IV с БСА участвуют главным образом в фиксации, стабилизации и извлечении памятных следов приобретенных навыков удовлетворения жажды, тогда как БПК A-I и A-III с БСА вовлечены в обеспечение преимущественно врожденного питьевого поведения. БПК ангиотензинов с S100b в основном включаются в обеспечение гемодинамических функций, не оказывая значимого влияния на питьевое поведение.

Можно гипотетически предположить, что эндогенные БПК являются особым классом информационных молекул, опосредующих полифункциональность свободных РП и их дифференцированное участие в интеграции сигнальных процессов в ходе онтогенетического развития организма. Представляется, что комплексы ангиотензинов с функционально различными белками обеспечивают дивергенцию путей сигнальной трансдукции, вызывая адекватные текущему внутреннему состоянию клеточные ответы на разных уровнях регуляции (клеточном, тканевом, организменном).

**РОЛЬ ДВУПОРОВЫХ КАНАЛОВ В РЕЦЕПТОРАЗВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ  
КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ  
КЛЕТКАХ СОСУДОВ**

С.К. Труфанов\*, П.В. Авдонин

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

\*e-mail: Gad.91@inbox.ru

Целью работы было определение вклада двупоровых каналов (two-pore channels – ТРС) эндолизосомальных везикул в вызываемом гормонами и нейротрансмиттерами подъеме  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в гладкомышечных клетках из аорты крысы (ГМК) и в эндотелиальных клетках из пупочной вены человека (ЭК).

Эксперименты проводились на ГМК и ЭК 2-5 пассажей. Для блокады ТРС использовались антагонисты NAADP cis- и trans-NED19, ингибитор протонной

АТФазы бафиломицин А1. Для оценки вклада кальциевых каналов ретикулума, активируемых инозитол-1,4,5-трисфосфатом (InsP3), был использован ингибитор фосфолипазы С U73122 в концентрации 5 мкМ. Исследовано действие на эффекты норадреналина (NA<sub>Dr</sub>), ангиотензина II (АТII), Arg-вазопрессина (AVP), серотонина (5-НТ) в ГМК, гистамина (Hist) в ЭК. Измерение кальция проводилось с помощью микропланшетного спектрофлуориметра Synergy-4. Клетки загружали флуоресцентными зондами Fura-2 (ГМК) или CalciumGreen (ЭК).

В результате исследования было выявлено подавление кальциевого ответа ГМК на NA<sub>Dr</sub> (100 мкМ) на 50±15% (n=18; p < 0,001) под действием cis-NED19 в концентрации 5 мкМ, при концентрации 25 мкМ – 55±5% (n=23; p < 0,001). Ингибирующее действие trans-NED19 при концентрации 5 и 25 мкМ составляло соответственно 20±5% (n=12; p < 0,002) и 45±5% (n=20; p < 0,001). При повышении концентрации trans-NED19 до 50 мкМ ингибирование реакции ГМК на NA<sub>Dr</sub> существенно не изменялось. Показано подавление действия серотонина (10<sup>-7</sup> М) на 30±3% (n=44; p < 0,001) и 14±3% под действием 25 мкМ cis- и trans-NED19 соответственно. При концентрации изомеров NED19 12,5 мкМ подавления ответа на 5-НТ не происходит. Подавления действия АТII и AVP при блокаде каналов ТРС не выявлено. В ЭК 50 мкМ cis- и trans-NED19 подавляют эффект 10<sup>-7</sup> М гистамина (Hist) на 50-60% (n=28; p < 0,0001), действие 10<sup>-6</sup> М Hist подавляется заметно слабее – на 27±9% (n=28; p=0,006) для cis-NED19 и 29±9% (n=28; p=0,004) для trans-NED19. При уменьшении концентрации антагонистов NAADP до 25 мкМ наблюдалось подавление эффекта только 10<sup>-7</sup> М Hist – на 16±4% (n=50; p=0,04) под действием cis-NED19 и на 25±4% (n=50; p < 0,0001) под действием trans-NED19. Подавления бафиломицином А1 (0,5-1 мкМ) действия NA<sub>Dr</sub>, AVP и АТII в ГМК, Hist в ЕС не выявлено. В ГМК ингибитор фосфолипазы С снижает вызванный NA<sub>Dr</sub> подъём [Ca<sup>2+</sup>]<sub>цит</sub> на 60±5% (n=10; p=0,005), AVP на 82±5% (n=10; p=0,0022) и 5-НТ на 83±5% (n=10; p=0,0022).

Результаты проведенных экспериментов говорят о том, что каналы ТРС наряду с InsP3-каналами участвуют в кальциевой сигнализации в ГМК и ЭК сосудов. В ГМК их роль наиболее выражена в случае адренорецепторов, в ЭК – рецепторов гистамина.

*Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 18-15-00417).*

## **УЧАСТИЕ NAADP И КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ ЭНДОЛИЗОСОМ В РЕГУЛЯЦИИ РИТМА СОКРАЩЕНИЙ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА МОЛЛЮСКА *HELIX POMATIA***

Е.С. Фёдорова, П.П. Авдонин, Е.Ю. Рыбакова, А.А. Цитрина, П.В. Авдонин\*

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

\*e-mail: pva1030@yandex.ru

Эндолизосомальные везикулы (ЭЛ) являются кальциевым депо клеток, однако их вклад в регуляцию Ca-зависимых процессов малоизучен. Выброс ионов кальция из ЭЛ запускается вторичным мессенджером NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate), который активирует в мембране этих органелл каналы особого типа – двупоровые кальциевые каналы (ДПК). Внутри ЭЛ поддерживается слабокислый pH за счёт работы протонной АТФазы V-типа, а закачивание в них ионов кальция частично происходит в результате Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup>-обмена. Целью работы было определение роли NAADP и ДПК в регуляцию ритма сердечных сокращений.

Моделью служило сердце моллюска *H. pomatia*. Вещества добавляли в полость сердца путем смены раствора. Для подавления активности ДПК использовали антагонист рецепторов NAADP, его структурный аналог trans-NED19. Флуоресцентное мечение ДПК в клетках, изолированных из сердца *H. pomatia*,

проводили с помощью *cis*-изомера NED19, обладающего большей яркостью свечения.

Изолированное сердце *H. pomatia* при наличии давления жидкости в полости желудочка способно спонтанно сокращаться. Уменьшение давления жидкости приводит к постепенному затуханию сокращений. Мы показали, что проникающий через мембрану ацетооксиметильный эфир NAADP-AM в концентрации 100-200 нМ увеличивает частоту спонтанных сокращений и может запустить работу остановившегося сердца моллюска. Продолжительное воздействие NAADP-AM вызывает нарушение ритма сердечных сокращений. Антагонист NAADP *trans*-NED19 начиная с концентрации 1 мкМ уменьшает частоту спонтанных сокращений, не влияя на амплитуду сокращений, а в концентрации 5-10 мкМ вызывает полную остановку и расслабление сердца *H. pomatia*. Ингибитор протонной АТФазы бафиломицин А1 также вызывает замедление ритма спонтанных сокращений. Мы показали, что в клетках, выделенных из сердечной ткани *H. pomatia*, связывание лиганда рецепторов NAADP *cis*-NED19 колокализировано с маркером эндолизосом лизотрэнкером. Серотонин является мощным стимулятором работы сердца *H. pomatia*. Он вызывает увеличение амплитуды силы сокращений, но не оказывает влияния на частоту. В присутствии серотонина *trans*-NED19 в первый момент уменьшает частоту сокращений, однако затем ритм постепенно восстанавливается. Амплитуда сокращений не изменяется.

Полученные данные указывают на участие NAADP-активируемых кальциевых каналов эндолизосом в поддержании ритма спонтанных сокращений сердца *H. pomatia* и в тонкой регуляции сокращений в присутствии серотонина.

Выполнено с использованием оборудования ЦКП ИБР РАН в рамках раздела Госзадания № 0108-2018-0002 и гранта РФФИ №18-15-00417.

### **УЧАСТИЕ ГАМК-РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ НЕЙРОМЕДИАТОРА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОМ СИНАПСЕ ТЕПЛОКРОВНЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА**

В.Ф. Хузахметова\*, А.И. Маломуж

Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр РАН", Казань

\*e-mail: venerik87@mail.ru

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) играет важную роль в процессах развития и созревания центральной нервной системы, модулируя нейрональную активность, причем нередко эта модуляция в процессе онтогенеза может сильно изменяться. Недавно в периферической нервной системе и, в частности, в холинергическом нервно-мышечном синапсе были обнаружены ключевые элементы ГАМКергической сигнализации, включая специфические рецепторы.

Цель нашего исследования заключалась в оценке влияния активации ГАМК рецепторов на параметры выделения ацетилхолина в нервно-мышечном контакте новорожденных и половозрелых крыс. С помощью методов микроэлектродной регистрации регистрировали вызванные токи концевой пластинки, измеряли синаптические задержки и анализировали гистограммы их распределения. Оценивали синхронную фазу секреции медиатора (раннюю и позднюю), а также задержанное асинхронное освобождение.

Анализ гистограмм распределения истинных синаптических задержек показал, что после аппликации экзогенной ГАМК (10  $\mu$ M) в ответ на редкую стимуляцию двигательного нерва (0,5 имп/с) в синапсах как новорожденных, так и взрослых животных происходило увеличение числа квантов, выделившихся в период фазной секреции, т. е. синхронизация секреции. В синапсах взрослых животных при этом уменьшалось число квантов, выделившихся в фазу задержанного асинхронного освобождения, а в синапсах новорожденных произошло

перераспределение числа квантов, выделившихся в фазу раннего и позднего синхронного освобождения. Таким образом, синхронизирующий эффект ГАМК на секрецию ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах новорожденных и взрослых животных может быть связан с онтогенетическими перестройками ГАМКергической системы (как это происходит в ЦНС) и при взаимодействии ее с белками машины экзоцитоза.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №17-15-01279*

### **АКТИВАЦИЯ К-АТФ КАНАЛОВ МОДУЛИРУЕТ ДЕЙСТВИЕ АТФ НА НЕЙРОСЕКРЕЦИЮ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ ЛЯГУШКИ**

А.Н. Ценцевицкий\*, И.В. Ковязина

*Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр РАН", Казань*

\*e-mail: atsen@list.ru

В нервно-мышечном соединении амфибий пурины (АТФ и аденозин) снижают интенсивность вызванной и спонтанной секреции ацетилхолина (АХ) из двигательных нервных окончаний, активируя рецепторы P2Y подтипа. Известно, что P2Y рецепторы в синапсах могут взаимодействовать с К-АТФ каналами.

Целью данного исследования было выявить, как эффекты АТФ на параметры синаптической передачи (интенсивность спонтанной и вызванной секреции) зависят от активности этих калиевых каналов.

Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах лягушки *R. ridibunda (m. cutaneus pectoris)*. Токи нервного окончания и концевой пластинки (ТКП) регистрировали экстраклеточно в проксимальных и дистальных участках нервных окончаний в условиях сниженного уровня  $Ca^{2+}$  в среде (до 0.3 мМ).

Блокада АТФ - зависимых  $K^+$  каналов глибенкламидом (50 мкМ) не вызывала изменений интенсивности как спонтанной, так и вызванной секреции АХ. Активация К-АТФ каналов кромакалимом (50 мкМ) приводила к достоверному снижению интенсивности вызванной секреции АХ (соответственно на  $17.3 \pm 5.4\%$ , и на  $16.7 \pm 6.0\%$ ,  $n=8$  соответственно, в проксимальных и дистальных отделах нервного окончания). Временной ход секреции АХ и частота спонтанных ТКП в присутствии глибенкламида и кромакалима достоверно не отличались от контрольных значений.

АТФ (100 мкМ) *per se* снижала интенсивность вызванной и спонтанной секреции на  $51.7 \pm 4.7\%$  и на  $52.1 \pm 10.3\%$  ( $n=8$ ), соответственно. После предварительной блокады К-АТФ каналов, АТФ продолжала в полной мере оказывать угнетающее действие на интенсивность нейросекреции. Однако при активированных К-АТФ каналах экзогенная АТФ действовала значительно слабее в дистальных участках нервного окончания (интенсивность нейросекреции снижалась лишь на  $22.6 \pm 5.6\%$ ).

Таким образом, в нервно-мышечных синапсах амфибий эффекты экзогенной АТФ в значительной степени зависят от состояния К-АТФ каналов.

*Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ № 17-04-00690.*



**ВЛИЯНИЕ ЛИГАНДОВ 5-HT<sub>1B</sub>- И 5-HT<sub>2B</sub>-РЕЦЕПТОРОВ НА ЭКЗОЦИТОЗ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ**

А.А. Цитрина<sup>1</sup>, Е.Б. Цитрин<sup>1</sup>, И.Л. Жарких<sup>2</sup>, Г.Ю. Миронова<sup>1</sup>, Е.Ю. Рыбакова<sup>1</sup>, П.П. Авдонин<sup>1</sup>, Н.В. Гончаров<sup>3</sup>, П.В. Авдонин<sup>1</sup>\*

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва

<sup>3</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,

Санкт-Петербург

\*e-mail: pva1030@yandex.ru

Функциональная роль локализованных в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов рецепторов 5-HT<sub>1B</sub>- и 5-HT<sub>2B</sub>-типов практически не исследована. В настоящей работе была поставлена задача определить, каким образом данные рецепторы участвуют в секреции специфического для ЭК белка – фактора Виллебранда (фВ).

Эксперименты проводились на ЭК, выделенных из пупочной вены человека, 2-4 пассажей. Секрецию фВ оценивали, определяя экспонирование этого белка на поверхности ЭК. Для этого после инкубации ЭК в течение 30-60 мин при 30-35°C в присутствии лигандов 5-HT<sub>1B</sub>- и 5-HT<sub>2B</sub>-рецепторов фиксированные клетки инкубировали с первичными антителами против фВ, а затем со вторыми антителами конъюгированными с Alexa Fluo 633. Одновременно ЭК окрашивали лектином WGA, конъюгированный с Alexa Fluo 488 (для определения границ клеток) и красителем Hoechst 22358. Фиксацию и окрашивание ЭК проводили без пермеабиллизации для сохранения интактности плазматической мембраны. Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DMI 6000 с использованием диодных осветителей с длинами волн 385, 488 и 620 нм. Для каждого образца получали 25 мультисканальных изображений, которые в последующем анализировались с помощью программы CellProfiler (<http://cellprofiler.org/releases>).

Установлено, что агонист рецепторов 5-HT<sub>1B</sub> CGS12066B вызывает увеличение интегральной интенсивности флуоресценции структур фВ, окрашенных антителами, за счет увеличения общего количества раскрытых секреторных везикул на поверхности ЭК и яркости отдельной вывернутой везикулы. На поверхности плазматической мембраны выявляются мультимеры фВ в виде нитей длиной несколько десятков микрометров. Активация рецепторов 5-HT<sub>2B</sub> агонистом BW723C86 также может стимулировать экзоцитоз фВ, однако эффект существенно слабее по сравнению с действием CGS12066B. BW723C86 индуцировал увеличение количества структур фВ, окрашенных антителами, но интенсивность флуоресценции отдельной структуры не возрастала. Не наблюдалось образование мультимеров в виде нитей на мембране ЭК. При совместном действии агонистов рецепторов CGS12066B и BW723C86 не было синергизма или аддитивности. Полученные данные свидетельствуют о том, что рецепторы 5-HT<sub>1B</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> участвуют в регуляции секреции фВ эндотелиальными клетками кровеносных сосудов.

*Работа поддержана грантом РФФИ №17-04-01267.*

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ НЕЙРОНАЛЬНОЙ  
СПЕЦИФИЧНОСТИ: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ЛОКОМОТОРНОЙ  
ПРОГРАММЫ У ЛИЧИНОК ПРЭСНОВОДНЫХ ГАСТРОПОД**

Т.А. Чернов<sup>1\*</sup>, Е.К. Секретова<sup>1,2</sup>, М.Ю. Хабарова<sup>1</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

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

\*e-mail: chtimur@yandex.ru

Любое поведение организма зависит от активности нервных клеток и соотношения нейромедиаторов, которые эти нейроны вырабатывают. В развитии пресноводных моллюсков есть стадия, когда у личинки присутствуют всего лишь два моноаминергических нейрона, обеспечивающих вращательное движение внутри яйца, принципиально важное для нормального развития. У большого прудовика *Lymnaea stagnalis* эти нейроны содержат дофамин (DA), в то время как у аквариумной катушки *Helisoma trivolvis* аналогичные нейроны содержат серотонин (5-НТ). В этих клетках у обоих видов есть система захвата и синтеза моноаминов. Возможно ли, обеспечив клетку биохимическим предшественником другого нейромедиатора, изменить её изначальную медиаторную специфичность? И как такое изменение скажется на реализации основной моторной программы?

В экспериментах использовали зародышей прудовика и катушки на стадии велигера, когда присутствуют только два моноаминергических нейрона, а локомоция зародыша представляет собой непрерывное вращение. Зародышей инкубировали в биохимическом предшественнике дофамина – (L-DOPA), и предшественнике серотонина – (5-НТР), в концентрациях  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  и  $10^{-7}$ М. Регистрировали скорость вращения до, через 20 и 40 минут после подачи вещества. После эксперимента проводили визуализацию моноаминов гистохимическим (для DA) или иммунохимическим (для 5-НТ) методом.

Во всех случаях инкубация в предшественнике собственного нейромедиатора значительно увеличивала его содержание в клетке, определяемое по относительной яркости специфического окрашивания. Существенно, что инкубация в предшественнике противоположного нейромедиатора (для прудовика в 5-НТР, для катушки в L-DOPA), приводила к появлению соответствующего медиатора в нейроне. То есть, в дофаминергическом нейроне прудовика появлялся 5-НТ, а в серотонинергическом нейроне катушки – DA. Во всех случаях повышение уровня любого из нейромедиаторов приводило к концентрационно-зависимому ускорению локомоторной активности зародыша через 20 и 40 мин от начала инкубации. Интересно отметить, что у катушки максимальное ускорение вращения после инкубации в L-DOPA было лишь немного меньше, чем после инкубации в 5-НТР (6,3 и 7 раз соответственно). В то время как у прудовика инкубация в L-DOPA увеличивала скорость вращения в 1,9 раза, а в 5-НТР в 3,5 раза.

Таким образом, доказано, что серотонин- и дофаминергические нейроны личинок пресноводных моллюсков могут менять свою медиаторную специфичность в зависимости от присутствия предшественника соответствующего моноамина. У обоих видов 5-НТ оказывает более сильное модуляторное влияние на локомоторную активность зародыша, чем DA.

Работа выполнена в рамках ГЗ № 0108-2018-0002 и гранта РФФИ № 17-14-01353.

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЙ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ И НОЦИЦЕПТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ У КРЫС С РАЗНОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

В.В. Чехлов<sup>1\*</sup>, А.Ю. Абрамова<sup>1,2</sup>, С.С. Перцов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Московский государственный медико-стоматологический университет им.*

*А.И. Евдокимова, Москва*

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва*

\*e-mail: [Abbatv@yandex.ru](mailto:Abbatv@yandex.ru)

Современные условия жизни характеризуются повторяющимися воздействиями на людей различных стрессоров. Одной из наиболее серьезных дисфункций, возникающих при стрессе, является нарушение иммунного статуса организма. В настоящее время накоплены данные, свидетельствующих о роли иммунологических механизмов в развитии болевых синдромов. Особое внимание в этом плане уделяется цитокинам – медиаторам межклеточных взаимодействий, обладающим выраженной сигнальной активностью.

Целью работы явилось выявление взаимосвязей между изменением цитокинового профиля крови и ноцицептивной чувствительности крыс с разными параметрами поведения, имеющих различную устойчивость к отрицательным последствиям стрессорных нагрузок.

Опыты выполнены на крысах Вистар, поведенчески пассивных ( $n=40$ ) и активных ( $n=40$ ) в тесте «открытое поле». В качестве модели стресса использовали ежедневную 4-ч иммобилизацию животных в течение 8 суток. Эмоциональный компонент ноцицепции определяли по порогу вокализации крыс (ПВ) при электрокожной раздражении, а перцептуальный – по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛПРОХ) в ответ на свето-термальное раздражение. Уровень провоспалительных (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ ) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в крови измеряли на установке Bio-Plex.

Постстрессорные изменения эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности, проявляющиеся в первоначальном усилении с последующим его ослаблением, были наиболее выражены у поведенчески пассивных крыс. Многократные стрессорные воздействия сопровождалось усилением перцептуального компонента ноцицепции. В отличие от активных животных, пассивные особи характеризовались изменением содержания цитокинов после однократного стресса. Изменения цитокинового профиля крови к 8-м суткам повторных иммобилизаций были более выражены, чем на 1-е и 3-и сутки. Колебания уровня цитокинов при стрессе наиболее значимы у пассивных крыс. Важно, что у поведенчески пассивных особей на 1-е сутки наблюдалась положительная корреляция ПВ с концентрацией ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4 и ИЛ-10. У активных крыс положительная корреляция между ЛПРОХ и уровнем ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 выявлена лишь к 3-м суткам многократных иммобилизаций.

Полученные данные иллюстрируют специфику взаимосвязей между стрессорным изменением цитокинового профиля крови и нарушением болевой чувствительности у особей с разными поведенческими характеристиками.

## **ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К АЛЛЕРГИИ I ТИПА АССОЦИИРОВАНА С ОСОБЕННОСТЯМИ БАРЬЕРНЫХ ТКАНЕЙ**

Д.Б. Чудаков, Г.В. Фаттахова, Е.И. Каширина, А.М. Сапожников,  
Е.В. Свирщевская\*

*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва*

\*e-mail: esvir@mail.ibch.ru

Аллергия I типа опосредована формированием антител класса E (IgE) к безвредным нереплицирующимся веществам, попадающим в организм через барьерные ткани: кожу, желудочно-кишечный тракт и бронхо-легочную систему. Механизмы формирования аллергии остаются дискуссионными. Имеются данные, что в запуске аллергического ответа непосредственное участие принимают клетки барьерных тканей, продуцирующие тканевые цитокины, которые, в свою очередь, активируют резидентные лимфоидные T- и B-клетки. Известно, что мыши линии BALB/c имеют предрасположенность к формированию аллергии. Целью данной работы был анализ экспрессии тканевых цитокинов интерлейкинов (ИЛ) 25, 33, тимического стромального лимфопоэтина (ТСП) и транскриптов IgE в клетках барьерных органов, а также лимфоузлов чувствительной (BALB/c) и резистентной (C57BL/6) линий мышей. Для анализа брали фрагмент кожи уха, легкие, жировую ткань из области холки, а также лимфоузлы (ЛУ). Ранее показали, что иммунизация в область холки рекомбинантными белками из клещей домашней пыли (100 нг/мышь/15 инъекций) приводит к формированию высоких титров IgE только у линии BALB/c, но не C57BL/6. Иммунизация подкожно или внутрибрюшинно была менее эффективна. Образцы тканей интактных мышей линий BALB/c и C57BL/6 гомогенизировали, выделяли РНК, получали кДНК и анализировали методом ПЦР в реальном времени. Показали, что в коже и ЛУ уровень экспрессии генов тканевых цитокинов был сравним, а уровень экспрессии транскриптов IgE был в 2.5-3.5 раза выше у мышей линии BALB/c. В жировой ткани холки уровень всех исследованных цитокинов, а также транскриптов IgE был повышен в 2-3,5 раза, что коррелирует с предрасположенностью мышей линии BALB/c к аллергии.

Таким образом, показано, что экспрессия тканевых цитокинов различается в зависимости от типа ткани, а локальная экспрессия транскриптов IgE повышена при генетической предрасположенности к аллергии во всех изученных тканях. Экспрессия транскриптов IgE в барьерных тканях показывает возможность локального переключения резидентных B-клеток на синтез IgE.

*Работа выполнена при поддержке программы президиума РАН № 32 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий».*

## **ТРАНСМИТТЕРЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ: МНОГООБРАЗИЕ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ**

Ю. Б. Шмуклер<sup>1</sup> \*, Д.А.Никишин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва*

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

\*e-mail: yurishmukler@yahoo.com

Проведен анализ данных об экспрессии компонентов трансмиссерных сигнальных путей, полученных в последнее десятилетие. В клетках ранних зародышей морских ежей установлена одновременная экспрессия рецепторов к ацетилхолину (АХ), серотонину (5-НТ) и дофамину (ДА), а также различных трансмиссерных транспортеров и компонентов SNARE-комплекса, хотя и в ограниченном количестве вариантов. У наиболее подробно изученных в этом отношении шпорцевых лягушек в период делений дробления выявлена

выраженная экспрессия 5-HT, АХ-, ДА-, адренергических (А), гистаминовых и ГАМК-эргических рецепторов, а также всех компонентов систем синтеза, транспорта и деградации трансммиттеров. В раннем эмбриогенезе млекопитающих выявлена экспрессия 5-HT- и ДА- рецепторов.

Важной чертой экспрессии трансммиттерных рецепторов в раннем эмбриогенезе, по крайней мере, земноводных, птиц и млекопитающих, является одновременная экспрессия нескольких типов рецепторов к одному и тому же трансммиттеру. В частности, в раннем развитии шпорцевых лягушек *Xenopus* выявляется одновременная экспрессия рецепторов htr1e, htr5a и htr7, причем паттерн экспрессии у близких видов *X.laevis* и *X.tropicalis* не совпадают. Также одновременно экспрессируются в значительном количестве А-рецепторы  $\beta 1$  и  $\beta 2$ , никотиновые АХ  $\alpha 5$  и  $\alpha 7$  рецепторы, рецепторы ГАМК А<sub>п</sub>, В1 и В2, и, что уж совсем удивительно – целый ряд глутаматных рецепторов. Специфическая динамика экспрессии мРНК рецепторов, имеющая максимум в период оогенеза и первых делений дробления и быстро снижающийся практически до нуля на более поздних стадиях, свидетельствует в пользу наиболее вероятной экспрессии соответствующих белков именно в период самых ранних стадий развития. Многократно дублированы в этот период, в отличие от морских ежей, и компоненты SNARE-комплекса. У перепелов на ранних этапах развития выявлена экспрессия восьми из девяти проверенных типов серотониновых рецепторов, а у млекопитающих – экспрессия целого ряда 5-HT-, А- и ДА-рецепторов. Таким образом, можно допустить одновременное существование в раннем эмбриогенезе ряда сигнальных цепей, активируемых одним и тем же трансммиттером, что представляет собой новое поле исследований в области донервных трансммиттеров.

*Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2018-0003.*

### **РАЗРАБОТКА ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНФОСФОТИРОЗИНФОСФАТАЗЫ 1В, ПРОИЗВОДНЫХ 4-ОКСО-ДИГИДРОЦИННОЛИНА, И ИХ ВЛИЯНИЕ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС С ОЖИРЕНИЕМ**

А.О. Шпаков<sup>1\*</sup>, К.В. Деркач<sup>1</sup>, В.Н. Сорокоумов<sup>2</sup>, И.О. Захарова<sup>1</sup>, И.В. Романова<sup>1</sup>

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

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

\*e-mail: alex\_shpakov@list.ru

Важнейшим негативным регулятором инсулиновой и лептиновой сигнальных систем является фермент протеинфосфотириозинфосфатаза 1В (РТР1В), который дефосфорилирует активированные рецепторы и функционально связанные с ними инсулинрецепторные субстраты и блокирует, таким образом, передачу гормонального сигнала. Ингибирование РТР1В приводит к усилению инсулинового и лептинового сигналинга и является одним из перспективных подходов для ослабления инсулиновой и лептиновой резистентности, характерной для сахарного диабета 2-го типа и ожирения. Однако, несмотря на прогресс, достигнутый в последние годы при разработке ингибиторов РТР1В, они до сих пор не нашли применения при коррекции метаболических расстройств. Цель работы состояла в разработке новых ингибиторов РТР1В, производных 4-оксо-1,4-дигидроциннолина, оценке их специфической биологической активности *in vitro* и изучении их влияния на метаболические и гормональные показатели *in vivo* при длительной обработке крыс с ожирением, индуцированным высокожировой/высокоуглеводной диетой. Показано, что этил-3-(гидроксиметил)-

4-оксо-1,4-дигидроциннолин-6-карбоксилат (PI-04), этил-1-бензил-3-(гидроксиметил)-4-оксо-1,4-дигидроциннолин-6-карбоксилат (PI-06) и 1-бензил-6-(этоксикарбонил)-4-оксо-1,4-дигидроциннолин-3-карбоксилат (PI-07) специфично ингибируют активность РТР1В, повышают стимулирующий эффект лептина на фосфорилирование Akt-киназы и транскрипционного фактора STAT3 в первичной культуре гипоталамических нейронов крысы. При введении крысам с ожирением ингибиторов PI-04 и PI-06 (в/б, суточная доза 10 мг/крысу) отмечали значительное снижение аппетита, массы тела и жировой ткани, уровней глюкозы, инсулина и лептина, а также восстановление толерантности к глюкозе и инсулиновой чувствительности. Таким образом, впервые синтезированные ингибиторы РТР1В, производные 4-оксо-1,4-дигидроциннолина, могут стать прототипом лекарственных препаратов для коррекции метаболических расстройств, ассоциированных с инсулиновой и лептиновой резистентностью.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 16-15-10388).*

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абрамова А.Ю. 7 12 90  
Авдонин П.В. 7 13 60 65 73 84 85 88  
Авдонин П.П. 7 13 60 85 88  
Ажикина Т.Л. 7 83  
Акимов М.Г. 5 14  
Акишина А.А. 15  
Акутин И.А. 61  
Алания М. 4  
Александров Л.И. 49  
Александрова М.А. 5 15  
Алексеева В.С. 16  
Алексеева Т.А. 65  
Алёшина Н.М. 7 17  
Андреева Л.А. 5 14  
Андрианов В.В. 18 23 29  
Анохин К.В. 6 53  
Антонов С.М. 26 77  
Артюхов А.С. 6 31  
Ашба А.М. 5 14  
Базян А.С. 19  
Байрамов А.В. 20  
Балабан П.М. 4 34 39 40 55  
Балезина О.П. 5 6 20 23 28 61 80  
Баль Н.В. 7 34 40 55  
Бахмет А.А. 21  
Башкатова В.Г. 22  
Баюнова Л.В. 6 74  
Безуглов В.В. 5 14 59  
Безуглый А.П. 36  
Блохин В.Е. 59  
Богачева П.О. 23  
Богодвид Т.Х. 18 23 29  
Богуславский Д.В. 24 37  
Бойко А.А. 7 83  
Бойко О.В. 25  
Бойков С.И. 26  
Болдышев Б.А. 26  
Большаков А.П. 43 54  
Бондарева В.М. 32  
Борисова Е.В. 36 58  
Бородинова А.А. 16 27 54  
Василенко Ю.С. 6 31  
Васильев А.В. 4  
Васильева К.А. 66  
Васянина К.А. 48  
Вдовкин П.Ф. 51  
Винарская А.Х. 29 34 39  
Волгушев М.А. 78  
Волобуева М.В. 43  
Воронежская Е.Е. 5 42 89  
Воронова С.Н. 54  
Воронцов Д.Д. 26  
Воронцова Ю.Е. 15  
Воротеляк Е.А. 6 31 72  
Гайдуков А.Е. 6 28 61 80  
Гайнуллина Д.К. 6 81  
Гайнутдинов Х.Л. 18 23 29 33 64  
Гамбарян С.П. 67  
Головченко А.Н. 23  
Голубева Т.Б. 49  
Гончаров Н.В. 13 79 82 88  
Грецкая Н.М. 5 14 59  
Гречихина М.В. 7 83  
Грудень М.А. 30  
Гуляева Н.В. 5  
Гуревич Е.К. 30  
Дашинимаяев Э.Б. 6 31  
Деркач К.В. 32 62 92  
Дерябина И.Б. 29 33  
Дильмухаметова Л.К. 5 52 64  
Добрецов М.Г. 51  
Дудченко А.М. 38  
Дьяконова В.Е. 4 26 33  
Ениколопов Г.Н. 6 7 53 60 70  
Ерлыченкова О.И. 34  
Ермакова Г.В. 20  
Ерохина С.А. 35  
Жарких И.Л. 13 73 88  
Журавлев Б.В. 36  
Замолодчикова Т.С. 36  
Зарайский А.Г. 20  
Захаров И.С. 6 24 37 49  
Захарова Е.И. 38  
Захарова И.О. 6 74 92  
Зефиоров А.Л. 4  
Зорина И.И. 6 74  
Зюзина А.Б. 39  
Иванец Т.Ю. 69  
Иванова В.О. 40  
Иванова В.П. 40  
Ивашкин Е.Г. 42  
Ивлиев Д.А. 41  
Ивлиева Н.Ю. 41  
Итаман Ш. 7 70  
Калинина Т.С. 42  
Каширина Е.И. 91  
Квичанский А.А. 43  
Ким А.Р. 6 43  
Кирьянов Р.А. 6 53  
Кирюхина О.О. 6 81

- Клочкова С.В. 21  
Клюева Л.А. 48  
Кобызева П.А. 35  
Коваленко Е.И. 7 35 83  
Ковязина И.В. 44 87  
Кожевникова Л.М. 45  
Козырев С.А. 46 80  
Колачева А.А. 46  
Колесников С.С. 6  
Колосов П.М. 34  
Комарова М.С. 69  
Коновалова М.В. 47  
Коплик Е.В. 21 48 58  
Корнеева Е.В. 49  
Коршунова Т.А. 49  
Коцарева О.Д. 76  
Кривопапов С.А. 50  
Кривченко А.И. 66 67  
Кубасов И.В. 51  
Кудрин В.С. 30  
Кудрявцев И.В. 82  
Кудряшов Н.В. 42  
Кузин Б.А. 15  
Кузнецова М.А. 27 54  
Кузьмин В.С. 7  
Куртова А.Ю. 52  
Куршин А.А. 42  
Лагутина Л.В. 84  
Лазуткин А.А. 6 7 53 60 70  
Лебедев И.Н. 4  
Лифанцева Н.В. 54  
Лукьянов Е.В. 54  
Любинец А.А. 6 31  
Люпина Ю.В. 5  
Маломуж А.И. 5 86  
Малышев А.Ю. 5 77 78  
Мальцев А.В. 55  
Малышев А.Ю. 5  
Матушевская Е.В. 76  
Медникова Ю.С. 56  
Межеричский М.И. 26  
Мезенцева Л.В. 57  
Мельникова В.И. 42 54  
Мещеряков А.Ф. 58  
Мещерякова Н.В. 6 31  
Мингазов Э.Р. 59  
Миндукшев И.В. 66 67  
Минеева О.А. 6 7 53 60 70  
Минлебаев М.Г. 4  
Миронова Г.Ю. 7 13 60 88  
Митева А.С. 6 28 61  
Михайлова Е.В. 62  
Михрина А.Л. 73  
Монаков М.Ю. 38  
Морина И.Ю. 63  
Муранова Л.Н. 29 33 64  
Муртазина А.Р. 5 64  
Муртазина Е.П. 36  
Мясоедов Н.Ф. 5 14  
Надеев А.Д. 13 82  
Нечаева М.В. 65  
Никитин В.П. 46 80  
Никитина Е.Р. 66 67  
Никишин Д.А. 5 7 17 68 91  
Никишина Ю.О. 5 64  
Николаев М.В. 69  
Островский М.А. 4 6  
Павленко Т.А. 43  
Панова И.Г. 69  
Панчин Ю.В. 81  
Пасикова Н.В. 56  
Перцов С.С. 7 12 57 90  
Петунов С.Г. 66  
Погужельская Е.Э. 77  
Подгорный О.В. 7 70  
Полтавцева Р.А. 69  
Пронина Т.С. 52  
Раевский В.В. 5 71  
Риппа А.Л. 72  
Рогаль А.В. 56  
Романова И.В. 62 63 73 92  
Рыбакова Е.Ю. 73 85 88  
Рыжов Ю.Р. 6 74  
Савельева Л.О. 73  
Сапожников А.М. 7 83 91  
Сапронова А.Я. 5 64  
Сафандеев В.В. 75  
Сахаров Д.А. 4  
Серов О.Л. 4  
Свищевская Е.В. 36 47 76 91  
Секретова Е.К. 89  
Серебрякова М.К. 82  
Сибаров Д.А. 26 77  
Силантьева Д.И. 29  
Симонова Н.А. 77  
Симонова О.Б. 15  
Скребицкий В.Г. 5  
Слезингер М.С. 15  
Смирнов И.В. 78  
Соболев В.Е. 79  
Солнцева С.В. 46 80  
Сорокоумов В.Н. 92  
Спивак Ю.С. 43  
Степаненко Ю.Д. 26  
Стрельцова М.А. 35  
Сторожева З.И. 38



**Конференция с международным участием «Физиология и биохимия сигнальных систем»,  
посвященная 100-летию со дня рождения академика Т.М. Турпаева**

---

|                                      |                           |
|--------------------------------------|---------------------------|
| Стурова А.И. 59                      | Хабарова М.Ю. 89          |
| Сурков С.А. 59                       | Харченко О.А. 42          |
| Суханова И.Ф. 45                     | Хузахметова В.Ф. 5 86     |
| Сухинич К.К. 5 15 42                 | Ценцевицкий А.Н. 44 87    |
| Сухих Г.Т. 69                        | <u>Цитрин Е.Б.</u> 88     |
| Сухов И.Б. 32                        | Цитрина А.А. 7 60 85 88   |
| Сухова Ю.В. 69                       | Черезов Р.О. 15           |
| Тарасова Е.О. 80                     | Чермных Э.С. 72           |
| Тарасова О.С. 6 81                   | Чернов Т.А. 89            |
| Татиколов А.С. 69                    | Чеснокова Е.А. 34         |
| Терпиловский М.А. 82                 | Чеснокова Н.Б. 6 43       |
| Тетерина Ю.Д. 7 83                   | Чехлов В.В. 7 90          |
| Тиунова А.А. 49                      | Чудаков Д.Б. 91           |
| Ткачук В.А. 4                        | Шагдарова Б.Ц. 47         |
| Толпыго С.М. 84                      | Шестакова Н.Н. 26         |
| Троянова Н.И. 7 83                   | Шестопалов В.И. 6 81      |
| Труфанов С.К. 84                     | Шмуклер Ю.Б. 5 7 17 68 91 |
| Угрюмов М.В. 4 5 6 43 46 52 59 64 75 | Шмурак В.И. 79            |
| Урошлев Л.А. 34                      | Шпаков А.О. 32 62 92      |
| Фаттахова Г.В. 91                    | Шуваев С.А. 6 53          |
| Фёдорова Е.С. 85                     | Юшков Б.Г. 50             |
| Фомина-Агеева Е.В. 5 14              |                           |

Издательство «Перо»

109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 15, ком. 536

Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36

Подписано в печать 16.10.2018. Формат 60×90/16.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 6. Тираж 350 экз. Заказ 658.

## СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

