
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СОЮЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЩЕСТВ СТРАН СНГ
РОССИЙСКОЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМЕНИ И.П. ПАВЛОВА
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ
РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОНД
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ
ИНСТИТУТ ИММУНОФИЗИОЛОГИИ



III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ
♦
VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ
♦
X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ ТОМ 1

*Под редакцией
Р.И. Сепиашвили и М.А. Островского*

Сочи – Дагомыс, Россия
3–8 октября 2021

УДК 57
ББК 28я43
Т66

Под редакцией Р.И. Сепиашвили и М.А. Островского

Т66 **III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ,
БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ**
♦ **VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ**
♦ **X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»**
♦ **VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ**
(Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021).
НАУЧНЫЕ ТРУДЫ. Том 1. – М.: Издательство «Перо», 2021. – с.165

ISBN 978-5-00189-677-7 (Общ.)

ISBN 978-5-00189-773-6 (Т. 1.)

Содержание

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ	3
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	159

Сборник научных трудов включает материалы актовых и пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на VII Съезде физиологов СНГ, VII Съезде биохимиков России и X Российском симпозиуме «Белки и пептиды» в рамках III Объединенного научного форума физиологов, биохимиков и молекулярных биологов. Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы физиологии, биоорганической химии, биотехнологии, молекулярной биологии, молекулярной вирусологии и смежных дисциплин.

Книга рассчитана не только на специалистов, работающих в разных областях биомедицинских наук, но и на студентов, аспирантов, преподавателей и научных работников, интересующихся проблемами наук о жизни.

ISBN 978-5-00189-677-7 (Общ.)
ISBN 978-5-00189-773-6 (Т. 1.)

УДК 57
ББК 28я43

© Союз физиологических обществ стран СНГ, 2021
© Российское общество биохимиков и молекулярных биологов, 2021
© Коллектив авторов, 2021

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ МОЗГА В НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫХ РЕГУЛЯЦИЯХ В ОНТОГЕНЕЗЕ – ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

М.В. Угрюмов

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

Концепция нейрогуморальных регуляций и ключевой роли мозга в их реализации, сформулированная в прошлом веке, характеризуется скачкообразным развитием по мере новых открытий.

ПРОШЛОЕ. Более полувека назад в гипоталамусе, лишенном гематоэнцефалического барьера, были обнаружены нейроны, которые секретируют в кровеносные сосуды физиологически активные вещества (ФАВ), оказывающие эндокринное влияние на периферии. Позднее было показано, что ФАВ также участвуют у взрослых животных в обратимой аутокринной и паракринной регуляциях нейронов в качестве нейромодуляторов/нейротрансмиттеров, а перинатально – в качестве морфогенетических факторов, оказывая необратимое влияние на развитие нейронов и мозга в целом.

НАСТОЯЩЕЕ. Если «вчера» исследования нейрогуморальных регуляций проводили на системном и клеточном уровнях, то «сегодня», благодаря научно-техническому прогрессу – на генетическом и молекулярном уровнях. На основе этих исследований в норме и при патологии были сформулированы парадигмы трансляционной и персонализированной медицины, позволяющие разрабатывать инновационные методы диагностики и лечения эндокринных, неврологических и психических заболеваний. В начале этого века был также сделан качественный скачок в понимании роли развивающегося мозга в нейрогуморальных регуляциях. Показано, что в критический период морфогенеза при отсутствии в это время гематоэнцефалического барьера ФАВ поступают в общую систему циркуляции из всего мозга, оказывая эндокринное/морфогенетическое влияние на периферические органы и сам мозг. И, наконец, недавно была сформулирована концепция, согласно которой мозг имеет собственную эндокринную систему, представленную тремя характерными для любой эндокринной системы блоками: источником гормональных факторов – нейронами, гуморальной средой – ликвором, и клетками-мишенями – перивентрикулярно расположенными нейронами.

БУДУЩЕЕ. В будущем будут осуществлять углубленное изучение молекулярных механизмов секреции и действия ФАВ нейронального происхождения на мишени в норме и при патологии, что особенно важно в критическом периоде морфогенеза. Знания о молекулярных механизмах нарушения нейрогуморальных регуляций позволят создать новые эффективные методы ранней диагностики и превентивного лечения врожденных заболеваний.

Работа поддержана РФФИ (№ 20-14-00325).

МОЗГ – ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОРГАН И ДИРИЖЕР ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Р.И. Сепиашвили

Институт иммунофизиологии; Российский университет дружбы народов, Москва

Одной из важнейших функций мозга является участие в сложнейших процессах иммунитета, причем в последние 25–30 лет представления о роли мозга в индукции и регуляции иммунных ответов претерпели значительные изменения. Приоритетом для многих исследователей стало изучение физиологических основ иммунной системы мозга и спинномозговой жидкости (СМЖ).

В ЦНС, в отличие от других органов, функционирует защитный механизм, который препятствует проникновению высокомолекулярных белков и клеточных элементов из крови в мозг и в ликвор. Этот механизм в 1921 году был назван Л.С. Штерн «гематоэнцефалическим барьером» (ГЭБ). Основными функциями ГЭБ являются: избирательная проницаемость, защита головного и спинного мозга от экзогенных или эндогенных токсинов, циркулирующих в крови, а также препятствие «ускользанию» нейромедиаторов и других физиологически активных соединений из ЦНС – ликвора и межклеточной среды, – в кровь. Следовательно, главной функцией ГЭБ является поддержание гомеостаза межклеточной среды головного и спинного мозга, необходимого для их нормального функционирования. ГЭБ представляет собой физиологическую или функциональную систему, субстратом которой являются сложнейшие анатомические и клеточно-молекулярные элементы, составляющие в совокупности избирательно проницаемую «мембрану». В течение длительного времени в неврологии и иммунологии господствовало мнение, что в «забарьерных» иммунопривилегированных органах, к которым относится мозг, отсутствуют клетки, способные осуществлять иммунный ответ и иммунный надзор.

Однако наши совместные пионерские исследования по изучению иммунной системы мозга и СМЖ (Р.И. Сепиашвили и Ю.А. Малашиха, 1995, 1996, 1999; Р.И. Сепиашвили, 2003, 2010, 2014, 2015, 2016, 2019) привели к неожиданным результатам. СМЖ, эта уникальная забарьерная жидкость организма, оказалась заселенной Т- и В-клетками, которые не являются однородными, подразделяются на подклассы (субпопуляции), несут специфические иммунные функции и способны к развитию локального иммунного ответа в СМЖ и ЦНС.

В ликворе были обнаружены Т- и В-лимфоциты, которые подразделяются на подклассы (субпопуляции), ответственные за развитие локального иммунного ответа в ЦНС. Наибольшее значение в иммунных реакциях в ЦНС имеют следующие субпопуляции лимфоцитов: • Т-хелперы (Th1, Th2, Th17), Т-супрессоры, Т-амплификаторы, Т-клетки носители иммунной памяти, цитотоксические Т-клетки и долгоживущие Т-лимфоциты; • В-клетки предшественники плазмочитов, В1- и В2-клетки, реагирующие на тимусзависимые антигены, цитотоксические клетки, В-клетки иммунной памяти, В-супрессоры; • К-клетки (естественные цитолитические киллерные клетки – НК-клетки). Несмотря на наличие данных об определенной независимости иммунных процессов в ЦНС, функциональная характеристика лимфоцитов крови и в ликворе почти не отличаются. Наличие в ЦНС предшественников иммунокомпетентных клеток до сих пор остается спорным.

Использование современных методов позволило значительно расширить наши представления о специфических белках мозга и ликвора. В норме и при заболеваниях ЦНС в ликворе выявлены иммуноглобулины разных классов: IgM, IgA, IgG, IgD, IgE. Кроме того, получены данные о локальном синтезе IgG в ЦНС. Высокая концентрация некоторых белков в ликворе по сравнению с другими биологическими жидкостями в норме подтверждает предположение об их синтезе в ЦНС. У лиц с агаммаглобулинемией в крови и в ликворе обнаруживается высокий уровень IgG. Выявленный генетический дефект на уровне В-клеток в крови и в костном мозге у этих лиц не затрагивает иммунную систему мозга, и имеющиеся там предшественники В-лимфоцитов под влиянием микроокружения ЦНС проходят весь путь дифференцировки в иммуносекретирующие клетки. Синтез IgG отмечен более чем у 90% больных с рассеянным склерозом, подострым склерозирующим панэнцефалитом. Таким образом, имеющиеся в ЦНС клеточные популяции и белки участвуют в генерации различных иммунных ответов и осуществляют иммунный надзор в субарахноидальном пространстве мозга, то есть образуют иммунный барьер мозга.

Результаты наших исследований и данные ряда авторов показали, что ЦНС не зависима от общей иммунной системы организма.

Представлениям об иммунологической привилегированности мозга, которые долгое время господствовали в науке, противоречили такие наблюдения, как отторжение кожных аллотрансплантатов, имплантированных в мозг предварительно сенсибилизированных животных, появление в мозге Т-лимфоцитарных инфильтратов при вирусных и аутоиммунных энцефаломиелитах, возможность переноса интактным реципиентам экспериментального аллергического энцефаломиелиита Т-лимфоцитами, специфичными к основному белку миелина. Не было понятно, участвует ли в этих реакциях общая иммунная система организма или иммунокомпетентные клетки самой нервной системы. Если в ЦНС в нормальных условиях отсутствовали клетки для осуществления иммунологических реакций, то согласно классической концепции иммунологического надзора в головном мозге должна была бы наблюдаться повышенная частота возникновения злокачественных опухолей по сравнению с иммунологически не привилегированными органами. Этого, однако, не происходило, несмотря на то, что основную массу клеток нервной ткани составляют делящиеся клетки нейроглии. При этом частота мутаций в клетках глии была сопоставима с частотой мутаций в других соматических клетках организма. Несмотря на огромное количество делящихся мутантных клеток нейроглии, опухоли в ЦНС возникают намного реже, чем в других органах, составляя около 9% среди всех злокачественных опухолей организма. Проведенные нами исследования позволили выявить в ликворе иммунокомпетентные лимфоциты и их субпопуляции, иммуноглобулины разных классов – тем самым подтвердив наличие автономной иммунной системы мозга.

Проведенные Р.И. Сепиашвили совместно с профессором Ю.А. Малашхия исследования привели к обнаружению в СМЖ иммунокомпетентных лимфоцитов, их субпопуляций и иммуноглобулинов разных классов; тем самым была заложена основа нового иммунофизиологического направления в исследованиях СМЖ.

Р.И. Сепиашвили с соавторами показали, что ЦНС, помимо неспецифического гематоэнцефалического, гематоликворного и ликворозенцефалического барьера, имеет еще и свою автономную, специфическую иммунологическую защитную систему, названную ими иммунным барьером мозга [Ю.А. Малашхия, 1986; Р.И. Сепиашвили и Ю.А. Малашхия, 2003; Р.И. Сепиашвили, 1995, 2003, 2015, 2019]. В этих работах была выдвинута концепция, что иммунный барьер мозга в нормальных условиях функционирует в ЦНС и СМЖ автономно, будучи прикрытым гематоэнцефалическим и гематоликворным барьерами, и что он независим от общей иммунной системы организма.

В этих исследованиях впервые была сформулирована гипотеза об автономной иммунной системе мозга (Р.И. Сепиашвили, Ю.А. Малашхия, 1995, 1999, Р.И. Сепиашвили, 2003, 2010, 2015, 2019).

Было установлено, что иммунокомпетентные клетки, содержащиеся в ликворе, образуют иммунную систему мозга. Указанные исследования легли в основу совершенно нового научного направления – нейроиммунофизиологии. Приведенные в этих работах данные убедительно доказывают, что мозг не только обладает автономной иммунной системой – мозг является одним из центральных органов и «дирижером» иммунной системы. Результаты этих исследований впервые были опубликованы в 2009 году в материалах общего собрания РАН.

ЧТО ПРОИСХОДИТ СО СВЕРТЫВАНИЕМ КРОВИ ПРИ COVID-19?

Ф. Атауллаханов^{1,5}, С. Шахиджанов^{1,2}, Д. Нечипуренко^{1,3}, И. Серебрянский⁶, С. Карамзин⁷, И. Спиридонов⁷, Е. Липец^{1,2}, Д. Затейщиков⁸, М. Пантелеев^{1,4}, В. Мустяца^{1,2}, Д. Морозова³, Е. Кольцова^{1,2}, Е. Серегина^{1,2}, А. Писарюк⁹, С. Ратчина¹⁰, А. Губкин¹¹, А. Мартыанов^{1,2}, Е. Гришук⁵, Д. Проценко⁶, С. Царенко¹², Е. Васильева¹³, А. Румянцев²

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва;

²НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева;

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ⁴Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный;

⁵Университет Пенсильвании в Филадельфии (UPENN), США;

⁶Городская клиническая больница № 40, Москва; ⁷ООО «Гемакор», Москва;

⁸Городская клиническая больница № 51, Москва;

⁹Городская клиническая больница № 64, Москва;

¹⁰Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва;

¹¹Центральная клиническая больница РЖД, Москва; ¹²Городская клиническая больница № 52, Москва;

¹³Городская клиническая больница № 23, Москва

Пандемия коронавирусной инфекции захлестнула Мир и создала гигантские проблемы во всех сферах жизни. Медленная вакцинация и появление новых, более опасных штаммов вируса ставит нас перед проблемой появления штаммов, резистентных к существующим вакцинам, что может растянуть борьбу с заболеванием на многие годы. В этой ситуации особенно важным является увеличение эффективности лечения тяжелых пациентов. Поскольку одной из наиболее опасных проблем лечения являются множественные тромбозы сосудов, мы предприняли исследование динамики изменений гемостаза у пациентов

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

с COVID-19 с целью оценки эффективности гепаринотерапии в снижении риска тромбозов. Исследование проводилось совместно 7 клиниками Москвы и 5 научно-исследовательскими институтами РАН и Минздрава. Более 3000 пациентов были изучены в динамике с помощью современных лабораторных и клинических методов оценки гемостаза.

Коронавирусная инфекция мало меняет состояние и число тромбоцитов. Наибольшие изменения были обнаружены в плазменном звене гемостаза. Оказалось, что стандартная коагулограмма не регистрирует эти изменения. Классические тесты АЧТВ, МНО свидетельствовали о гипокоагуляции на протяжении всего лечения в прямом противоречии с клиническими данными. D-димер был сильно повышен у большинства пациентов, но также не изменился во время терапии. Тромбоэластография и тромбодинамика показали гиперкоагуляцию у 60-70% пациентов до лечения. Гепаринотерапия привела к нормализации показаний этих тестов у 70% пациентов. Тем не менее, около 30% пациентов требовали индивидуального подбора дозы гепарина. Из всех исследованных тестов на коагуляцию наиболее чувствительным индикатором состояния гемостаза оказался метод Тромбодинамики. Основываясь на результатах наблюдательного исследования, было решено разбить тяжелых реанимационных пациентов на две группы. В одной терапию гепарином корректировали с помощью тромбодинамики. Тромботические осложнения в этой группе из 210 человек наблюдались у 19% пациентов. В контрольной группе (151 пациент) при стандартной гепаринотерапии без коррекции тромбозы наблюдались у 32% больных.

Нарушения системы свертывания происходят в плазменном звене. Гепаринотерапия эффективно нормализует работу этого звена, но в тяжелых случаях (30%) требуется индивидуальная коррекция дозы гепарина на основе показаний современных тестов.

**НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ:
ОТ ИЗУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА
ДО РАЗРАБОТКИ ИННОВАЦИОННЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОНОЗИГОТНЫХ БЛИЗНЕЦОВ, ДИСКОРДАНТНЫХ ПО БОЛЕЗНИ
ПАРКИНСОНА, В ИЗУЧЕНИИ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ**

А.Х. Алиева¹, М.И. Шадрина¹, И.Н. Власов¹, Е.В. Новосадова¹, А.В. Росинская², П.А. Сломинский¹

¹Институт молекулярной генетики, НИЦ «Курчатовский институт», Москва; Приморская краевая клиническая больница № 1, Владивосток

Болезнь Паркинсона (БП) – тяжелое нейродегенеративное заболевание, обусловленное выраженной недостаточностью дофаминергической системы и нарушением регуляции других нейромедиаторных систем. Известно, что в развитии БП вносят значимый вклад генетические факторы, как единичные редкие высоко-пенетрантные мутации, так и выявляемые при ассоциативном анализе ДНК-маркеры. На данный момент считается, что большинство случаев БП носят спорадический характер, и известными на данный момент генетическими факторами риска можно объяснить только небольшую долю случаев БП. В связи с этим становится ясным, что эпигенетические изменения, такие как изменение уровней экспрессии генов, могут быть важны для объяснения значительной доли случаев БП. Одним из самых интересных способов исследовать такие изменения является использование монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Это дает возможность свести к минимуму влияние различных генетических факторов на развитие заболевания. В связи с этим в данной работе был проведен полнотранскриптомный анализ периферической крови, фибробластов, ИПСК и нейрональных предшественников, полученных от близнецов, дискордантных по БП. Исследование проводилось с использованием прибора HiSeq1500 (Illumina, США) и набора NEBNext® mRNA Library Prep Reagent Set (NEB, США). Обработка данных проводилась с использованием программной среды R и пакетов программ STAR, RSEM, Limma-voom, а также Cytoscape, Pathway Studio. В результате анализа были выявлены биологические процессы, непосредственно связанные с функционированием нервной системы (GO:0019228: neuronal action potential, GO:0051966: regulation of synaptic transmission, glutamatergic, GO:0007399: nervous system development, GO:0022008: neurogenesis, GO:0048699: generation of neurons). Кроме того, был выявлен метаболический процесс, связанный циркадным поведением (GO:0048512: circadian behavior), который может быть связан с развитием заболевания. Таким образом, полученные данные свидетельствуют не только об изменении функционирования нервной системы в целом при БП, но и о важной роли циркадной системы, в патогенезе данного заболевания. *Работа проводилась при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-15-00262).*

**НЕЙРОТОКСИЧЕСКАЯ СВЕ/МРТР МОДЕЛЬ ПАРКИНСОНИЗМА КАК ПОДХОД ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВКЛАДА
ДИСФУНКЦИИ ЛИЗОСОМ В ПАТОГЕНЕЗ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**А.К. Емельянов^{1,2}, М.М. Руденок⁴, Г.В. Байдакова³, М.А. Николаев^{1,2}, Т.С. Усенко^{1,2}, Е.Ю. Захарова³, М.И. Шадрина⁴,
П.А. Сломинский⁴, С.Н. Пчелина^{1,2}**

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

³Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, Москва; ⁴Институт молекулярной генетики,

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Мутации в гене глюкоцереброзидазы (GBA) являются фактором высокого риска болезни Паркинсона (БП). Ранее показано снижение активности GCase и повышение уровня лизосфинголипида гексозилсфингозина (HexSph) у пациентов с GBA-ассоциированной БП как в клетках мозга, так и в периферической крови. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния токсинов 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) и кондуритол-В-эпоксида (СВЕ) на накопление HexSph и активность GCase в лобной коре, стриатуме и черной субстанции мозга мышей. В работе были исследованы одна контрольная и три экспериментальных группы мышей линии C57BL/6, из которых первой (n=10), второй (n=10), третьей (n=10), а также контрольной группе животных (n=10) производилось интраперитонеальное введение СВЕ (100 мг/кг), МФТП (12 мг/кг), СВЕ (100 мг/кг)+МФТП (12 мг/кг), а также 0,9 % раствора хлорида натрия, соответственно. На пятый день после инъекций проводилась декапитация путем цервикальной дислокации мышей с последующим извлечением тканей лобной коры, стриатума, черной субстанции мозга. Оценка концентрации дофамина, а также уровня HexSph и активности GCase в тканях мозга мышей осуществлялась при помощи методов ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС/МС, соответственно. Инъекция МРТР приводила к снижению концентрации дофамина в стриатуме мозга мышей по сравнению с контрольной группой животных (p=0,016). Показано статистически значимое снижение активности GCase, а также повышение уровня HexSph в лобной коре, стриатуме и черной субстанции мозга мышей после инъекции СВЕ и СВЕ/МРТР по отношению к контрольной группе животных (p<0,05). В тоже время выявлено повышение уровня HexSph в лобной коре и стриатуме мозга мышей после инъекции СВЕ/МРТР по сравнению с группой мышей после инъекции СВЕ (p<0,05). МРТР усиливает накопление лизосфинголипидов в лобной коре и стриатуме мозга мышей с дисфункцией лизосом. *Исследование поддержано грантом РНФ 19-15-00315.*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ И ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЕЙ ПРОТЕИНОПАТИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ И ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.А. Устюгов, Е.А. Вихарева, В.О. Небогатиков, А.Ю. Аксиненко, С.О. Бачурин

Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка

Общемировая тенденция к увеличению средней продолжительности жизни и повышение частоты заболеваний нервной системы, сопровождающихся прогрессирующими дегенеративными процессами, обусловили рост фундаментальных и клинических исследований. Особое внимание уделяется выявлению молекулярных и клеточных механизмов развития нейрональной патологии. Целью исследования являлась разработка трансгенных клеточных и животных моделей нейродегенеративных процессов для изучения ключевых молекулярных механизмов нейродегенеративных заболеваний, а также изучение возможности использования этих моделей в тестировании потенциальных терапевтических агентов. В результате были разработаны клеточные модели протеинопатий, основанные на сверхэкспрессии модифицированных агрегированных белков TDP-43 и FUS. Патогенная агрегация белков с измененной локализацией привела к образованию цитоплазматических включений и последующей гибели клеток. Разработанные мышинные модели протеинопатий включали альфа-синуклеиновый кондиционный нокаут и линию животных с экспрессией мутантной и укороченной изоформы белка FUS. В модели с альфа-синуклеиновым нокаутом показана полная потеря экспрессии альфа-синуклеина. При этом у нокаутных животных не было обнаружено фенотипических признаков. Напротив, у трансгенных животных с FUS-протеинопатией была зафиксирована значительная потеря продолжительности жизни, распространение моторного дефицита и снижение когнитивных функций, которые связаны с нейродегенеративными процессами в отделах ЦНС. Охарактеризованные трансгенные клеточные и животные модели были использованы для изучения эффективности нового класса фторированных гамма-карболинов, которые представляют собой перспективные агенты с болезнь-модифицирующими и нейропротекторными свойствами. В целом, разработанные модели могут быть использованы для изучения нейродегенеративных молекулярных механизмов на различных уровнях, а также в качестве средств для тестирования инновационных соединений, направленных на патологические процессы при протеинопатиях. *Исследование препаратов поддержано РНФ №19-13-00378. Содержание животных обеспечено биоресурсной коллекцией ИФАВ РАН и проведено на оборудовании ЦКП ИФАВ РАН при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (№ 075-15-2020-795).*

МОДЕЛИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА ЦЕРЕБРАЛЬНОГО АМИЛОИДОГЕНЕЗА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА НА НЕМАТОДАХ *C. ELEGANS*

В.А. Митькевич

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

Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется церебральным амилоидозом, накоплением внеклеточных агрегатов (амилоидных бляшек) в тканях мозга, основными компонентами которых являются изоформы бета-амилоида (A β) и ионы металлов. Изоформа A β с изомеризованным Asp7 (isoD7-A β), который является наиболее распространенной изоформой A β в амилоидных бляшках человека, при внутривенном введении трансгенным мышам со сверхэкспрессией A β человека резко ускоряет церебральный амилоидогенез. Основным фактором церебрального амилоидогенеза *in vivo* являются ионы цинка. Было предположено, что образование комплексов isoD7-A β с Zn²⁺ является триггером патологической олигомеризации и агрегации интактных молекул A β . Трансгенные нематоды, которые сверхэкспрессируют человеческий A β , представляют собой хорошую животную модель для изучения церебрального амилоидогенеза при БА. У таких нематод с возрастом появляются фибриллярные амилоидные бляшки в различных тканях тела, а также наблюдаются различные функциональные нарушения. Было проанализировано изменение продолжительности жизни трансгенных нематод при добавлении в питательную среду различных молекулярных агентов (A β , isoD7-A β , Zn²⁺), которые присутствуют в амилоидных бляшках пациентов с БА, а также тетрапептида НАЕЕ, ингибирующего церебральный амилоидогенез *in vivo*. Было показано, что одновременное добавление ионов цинка и isoD7-A β приводит к значительному снижению средней продолжительности жизни нематод. В то же время присутствие в питательной среде тетрапептида НАЕЕ полностью нейтрализует негативное влияние комбинации ионов цинка и isoD7-A β на продолжительность жизни нематод. Наиболее вероятный молекулярный механизм этого эффекта НАЕЕ – связывание тетрапептида с металл-связывающим фрагментом A β , опосредованное ионами цинка. Наличие такого взаимодействия определено в ЯМР-исследованиях, а расчеты траектории молекулярной динамики показали стабильность цинк-опосредованного комплекса НАЕЕ с первичным сайтом связывания Zn²⁺ (11-EVHH-14) A β . Полученные результаты подтверждают фундаментальную роль нековалентных комплексов между ионом цинка и isoD7-A β как триггера патологической агрегации эндогенных молекул A β . *Работа поддержана грантом РНФ №19-74-30007.*

ВЛИЯНИЕ БЕТА-АМИЛОИДА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

А.А. Аджубей, А.П. Толстова, В.А. Митькевич, А.А. Макаров, С.А. Козин

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

Белок 1, подобный рецептору липопротеинов низкой плотности (Low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1) играет ключевую роль в рецептор-опосредованном трансцитозе (receptor mediated transcytosis, RMP) множества биомолекул при их прохождении гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Также LRP-1 принимает участие в эффективном клиренсе бета-амилоида (A β) из мозга по механизму RMP. На основании биоинформационных подходов и молекулярного моделирования нами установлено, что эндогенный A β в мономерном состоянии способен специфически связываться с рядом рецепторов, расположенных на внешней стороне ГЭБ, и влиять на функционирование ГЭБ путем активации/деактивации LRP-1. Изоформы A β , ассоциированные с нейродегенерацией при болезни Альцгеймера, в свою очередь могут служить зародышами об-

разования диффузных амилоидных бляшек и блокировать нормальную работу ГЭБ. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2020-795, госконтракт № 13.1902.21.0027 от 29.09.2020, уникальный идентификатор проекта: RF-190220X0027).

НАРУШЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ПОЛИГЛУТАМИНОВЫХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В.А. Вигонт¹, Д.А. Грехнев¹, О.С. Лебедева², А.Ю. Скопин¹, К.О. Гусев¹, М.А. Лагарькова², Е.В. Казначеева¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; ²ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

Полиглютаминные заболевания относятся к наиболее часто встречающимся наследственным формам нейродегенеративных патологий, для которых генетический дефект заключается в увеличении числа глутамин-кодирующих кодонов в определенных генах. На данный момент известно 9 типов подобных заболеваний: спинально-бульбарная атрофия, денторубро-паллидарная атрофия, 6 типов спиноцеребеллярных атаксий и наиболее изученная среди патологий, связанных с полиглютаминовой экспансией, – болезнь Хантингтона (БХ). Исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе нейродегенерации, и разработка новых подходов к лечению нейродегенеративных заболеваний являются актуальными задачами современной науки, что, в свою очередь, требует разработки физиологических, высокоадекватных моделей этих патологий. Открытие индуцированной плюрипотентности и совершенствование протоколов направленной дифференцировки стволовых клеток явилось серьезным достижением в данной области, поскольку позволило исследовать нейроны именно тех типов, которые наиболее уязвимы при конкретных патологиях в условиях эндогенной экспрессии мутантного гена. С помощью электрофизиологических и флуоресцентных методов было показано, что в пациент-специфичных срединных шипиковых нейронах (СШН) стрипатума, моделирующих БХ и спиноцеребеллярные атаксии 1 (СЦА1) и 17 (СЦА17) типов, наблюдаются нарушения кальциевой сигнализации. Известно, что СШН являются наиболее уязвимыми при БХ и подвержены массовой дегенерации при СЦА17, но не при СЦА1. Примечательно, что паттерны нарушений работы кальциевых каналов оказались сходными для БХ и СЦА17 (также известна как Хантингтон-подобная патология 4 типа): наблюдалось значительное увеличение входа кальция через депо-управляемые и потенциал-управляемые каналы. В то же время, для СЦА1 было характерно снижение депо-управляемого входа кальция по сравнению с контролем и отсутствие изменений потенциал-управляемого кальциевого входа. Корреляция между нарушениями работы кальциевых каналов и уязвимостью СШН позволила нам предположить, что именно нарушения кальциевой сигнализации могут лежать в основе феномена селективной гибели нейронов при различных нейродегенеративных патологиях. Работа поддержана Грантом РФФ № 19-14-00114, Грантом Минобрнауки РФ № 075-15-2020-795 (Соглашение 13.1902.21.0027) и КНВШ Санкт-Петербурга.

ПРОЦЕССИНГ И ПРЕЗЕНТАЦИЯ МИЕЛИНОВЫХ АНТИГЕНОВ В ОСНОВЕ ПАТОГЕНЕЗА АУТОИММУННОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

А.А. Белогуров, А.А. Кудряева

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

Рассеянный склероз (РС) – это системное аутоиммунное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы человека. Среди главных аутоантигенов при РС выделяют несколько белков миелиновой оболочки, в том числе основной белок миелина (МВР), в значительных количествах присутствующий в мембране олигодендроцитов. Нами было установлено, что МВР принадлежит к крайне малочисленной группе белков, способных подвергаться протеолизу 26S протеасомой в отсутствие молекул убиквитина. В молекулярном механизме гидролиза МВР протеасомой задействован новый класс убиквитин-независимых дегронов и их заряд-опосредованное связывание с регуляторной субъединицей REGα. Интересно, что природные полиамины, включая спермин, имеют функцию модуляторов протеасомной активности. Нами было установлено, что при развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ) – животной модели рассеянного склероза – в головном мозге иммунизированных животных конститутивная протеасома в значительной степени замещается иммунопротеасомой, при этом иммуносубъединица β1i локализуется преимущественно в олигодендроцитах. Показано, что повышенное содержание иммунопротеасомы в головном мозге мышей с ЕАЕ приводит к образованию повышенного количества ряда патогенных пептидов МВР, презентация которых провоцирует атаку цитотоксических лимфоцитов на олигодендроциты. Специфический ингибитор иммуносубъединицы β1i эффективно подавлял развитие ЕАЕ у экспериментальных животных. Полученные факты указывают на очевидную связь между убиквитин-независимой протеолитической активностью иммунопротеасомы в отношении основного белка миелина и развитием рассеянного склероза, а также на перспективность специфических ингибиторов иммунопротеасомы как потенциальных лекарственных средств.

Работа выполнена в рамках проекта РФФ 19-14-00262 «Исследование особенностей функционирования убиквитин-протеасомной системы с применением методов геномного редактирования».

МЕХАНИЗМЫ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ДИСФУНКЦИИ В МОДЕЛИ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

М.А. Мухамедьяров, А.Н. Хабибрахманов, А.Л. Зефилов

Казанский государственный медицинский университет, Казань

Боковой амиотрофический склероз является фатальным прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся гибелью мотонейронов спинного и головного мозга. Быстрое прогрессирование заболевания и отсутствие эффективных методов лечения делает БАС серьезной медико-социальной проблемой современного общества. Дисфункция нервно-мышечных синапсов является одним из ранних и важнейших событий в патогенезе бокового амиотрофического склероза (БАС). В данной работе были изучены механизмы развития дисфункции нервно-мышечных синапсов в модели БАС на трансгенных мышцах. В частности, нами была изучена иммуноэкспрессия ряда синаптических белков (н-холинорецепторы,

синаптофизин, синапсин-I, SNAP-25) в нервно-мышечных синапсах диафрагмы трансгенных мышей в двух моделях БАС (mSOD1-мыши и FUS-мыши) на досимптомной и симптомной стадиях развития патологии. Окрашенные препараты исследовали на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 MP (Leica, Германия). Каждый синапс в цветовом канале выделялся вручную, затем производился расчет интенсивности и площади свечения. На досимптомной стадии патологии как у mSOD1-мышей, так и у FUS-мышей отсутствовали изменения площади и интенсивности окраски на синаптофизин и н-холинорецепторы, а также отсутствовали изменения ко-локализации пре- и постсинаптических компартментов нервно-мышечных синапсов. При этом у mSOD1-мышей наблюдалось снижение экспрессии синапсина-I и SNAP-25, а у FUS-мышей – наоборот, повышение экспрессии данных синаптических белков на досимптомной стадии патологии. На симптомной стадии как у mSOD1-мышей, так и у FUS-мышей наблюдалось снижение экспрессии синапсина-I, SNAP-25, синаптофизина, а также снижение степени ко-локализации пре- и постсинаптических компартментов в сравнении с мышами дикого типа. Таким образом, нами получены данные об изменении уровня экспрессии синаптических белков нервно-мышечных синапсов на различных стадиях развития патологии в двух моделях БАС на трансгенных животных. Полученные результаты вносят вклад в расширение современных представлений о механизмах патогенеза бокового амиотрофического склероза. *Исследование поддержано грантом Российского научного фонда №19-15-00329.*

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ GBA

С.Н. Пчелина^{1,2}, Т.С. Усенко^{1,2}, М.А. Николаев^{1,2}, А.Э. Копытова², Г.В. Байдакова³, Д.Г. Кулабухова^{1,2}, К.А. Сенкевич^{1,2}, А.А. Пантелева^{1,2}, И.В. Милюхина¹, Е.Ю. Захарова^{2,3}, А.К. Емельянов^{1,2}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

³Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, Москва

Мутации в гене GBA являются фактором высокого риска болезни Паркинсона (БП). Однако, не у всех носители мутаций развивается БП в течение жизни. Целью исследования явился количественный анализ экспрессии генов, а также оценка ряда биохимических особенностей в клетках крови у здоровых носителей мутаций в гене GBA (GBA-носители) и пациентов с БП, с наличием мутациями в гене GBA (GBA-БП). В исследование были включены 13 пациентов с GBA-БП, 14 GBA-носителей, пациенты со спорадической БП (сБП) и неврологически здоровый контроль. В первичной культуре макрофагов был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов методом полногеномного секвенирования РНК, активность GBA и концентрация лизосфинголипидов методом ВЭЖХ-МС/МС, эффективность транслокации GBA в лизосомы методом иммуногистохимического окрашивания, уровень GBA методом вестерн блоттинга, а также уровень альфа-синуклеина CD45⁺ клетках крови методом ИФА. Анализ дифференциальной экспрессии генов проводился с использованием пакета DESeq2 (v.1.30.1) в среде R (v.4.0.3). В группе GBA – носителей в первичной культуре макрофагов по сравнению с контролем была выявлено снижение активности GBA, количества фермента, снижение его транслокации в лизосомы, а также накопление альфа-синуклеина в CD45⁺ клетках крови. Группа GBA– БП характеризовалась повышением концентрации лизосфинголипидов (HexSph) в первичной культуре макрофагов как по сравнению с контролем и с БП, так и по сравнению с GBA-носителями. В ходе анализа транскриптома было выявлено 7 дифференциально экспрессирующихся генов (COLEC12, RPL18, ARL4C, TPSTP1, TRIM13, BCL6, DUSP1) в группе GBA-БП по сравнению с GBA-носителями и контролем, изменение экспрессии которым может рассматриваться как потенциальный триггер БП у носителей мутаций в гене GBA. Наличие мутаций в гене GBA может приводить к снижению активности и уровня глюкоцереброзидазы в клетках и лизосомах, к накоплению альфа-синуклеина. Оценка уровня лизосфинголипидов (HexSph) в первичной культуре макрофагов может быть биомаркером развития БП у носителей мутации в гене GBA. Выявлен ряд генов, изменение экспрессии которых может быть триггером развития БП у носителей мутаций в гене GBA. *Исследование поддержано грантом РФФИ 19-15-00315.*

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

А.А. Колачева, А.Р. Ким, В.Е. Блохин, В.В. Богданов, М.В. Угрюмов

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

Разработка ранней диагностики болезни Паркинсона (БП) на доклинической стадии является одним из важнейших приоритетов нейронаук. Распространенная в настоящий момент методология построена на поиске биомаркеров в жидкостях организма у пациентов на ранней клинической стадии БП. Однако, несмотря на обнаружение множества маркеров-кандидатов, ни один из них не является специфичным. Более того, нет никаких оснований считать, что маркеры, обнаруженные у больных на клинической стадии БП будут также характерны для доклинической стадии. Исходя из вышеизложенного, мы предложили улучшенный подход к разработке ранней диагностики БП путем поиска и сравнительного анализа маркеров не только у нелеченых пациентов на ранней клинической стадии, но и у мышей на моделях ранней клинической и доклинической стадий БП. Обнаружение на модели клинической стадии БП маркеров, которые были найдены у больных, рассматривается как подтверждение корректного воспроизведения патогенеза БП по соответствующим метаболическим путям. В свою очередь, обнаружение тех же маркеров и на модели доклинической стадии БП указывает на то, что эти маркеры могут быть специфичными и для людей на доклинической стадии БП. Данный подход был апробирован нами при анализе маркеров БП в крови и слезной жидкости. Также нами предложена принципиально новая технология специфической ранней диагностики БП на основе провокационного теста. Действие этого теста направлено на обратимое и кратковременное усиление функциональной недостаточности nigrostriатной системы мозга до порогового уровня, при котором кратковременно проявляются моторные симптомы. Эффективность этого подхода была проверена нами на модели доклинической стадии БП на мышах с помощью системного и интраназального применения обратимого ингибитора синтеза дофамина. Таким образом, традиционная методология разра-

ботки ранней диагностики БП путем поиска маркеров в биологических жидкостях у нелеченых больных на ранней клинической стадии была усовершенствована путем дополнительного поиска маркеров на экспериментальных моделях и разработки инновационной диагностики с помощью провокационного теста. *Данный проект выполнен при поддержке гранта Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2020-795, контракт № 13.1902.21.0027 от 29.09.2020, уникальный идентификатор RF-190220X0027).*

ОРГАНЕЛЛОТЕРАПИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Н.В. Бобкова¹, Д.Ю. Жданова¹, Р.А. Полтавцева², Н.В. Белослудцева³, Г. Д. Миронова³

¹Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино; ²НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва;

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Нейродегенеративные заболевания (НЗ) являются социально значимыми патологиями, для которых отсутствует эффективная терапия. Среди подходов для их лечения особое место занимает органеллотерапия, которая стремительно приходит на смену «клеточной терапии» (КТ). Сохраняя позитивные эффекты, органеллы лишены таких отрицательных свойств донорских клеток как возможность иммунологической несовместимости с тканью реципиента, тромбозы, риски образования эктопической ткани и ракового перерождения. Известно, что положительный эффект мезенхимальных стромальных клеток (МСК), наиболее часто используемых в КТ, обусловлен не столько замещением погибших клеток, сколько выделением трофических факторов и везикулярных структур, включая микровезикулы и экзосомы. Эти органеллы осуществляют перенос заключенных в их состав белков, нуклеотидов, аминокислот, жирных кислот, мРНК, miРНК и других биологически активных соединений к клеткам реципиента, участвуя в межклеточной коммуникации. Другим видом органелл, которые могут выделяться клеткой во внеклеточное пространство, являются митохондрии (МХ), нарушение функций которых характерно для НЗ. У нативных животных внутривенное (в/в) введение функционально активных МХ, не обладающих видо- и ткане-специфичностью, приводит к увеличению выносливости за счет выработки энергии. У мышей с моделями НЗ замещение МХ препятствует нейродегенерации. Основными способами доставки органелл является их введение в составе МСК или в виде инъекций в целевой орган. Нами изучена эффективность интраназального (и/н) и в/в введения экзосом из кондиционированной среды, полученной при культивировании МСК из Вартонова студия пупочного канатика человека, в сопоставлении с влиянием и/н введения МХ из мозга мышей. Экзосомы характеризовали по экспрессии специфических маркеров. На модели спорадической формы БА показано, что в/в и и/н введения органелл предотвращали ухудшение памяти у бульбэктомированных мышей. Эффект, по-видимому, обусловлен способностью органелл проникать в мозг животных, что было подтверждено визуализацией присутствия флуоресцентно меченых МХ и экзосом в коре и гиппокампе. Итак, неинвазивное интраназальное введение органелл обеспечивает их проникновение в мозг, что может стать важным и новаторским подходом к лечению НЗ. *Поддержано Грантом РФ № 18-15-00392.*

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ И НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ N-АРАХИДОНОИЛДОФАМИНА И N-ДОКОЗАГЕКСАЕНОИЛДОФАМИНА В ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КУЛЬТУРАХ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Е.В. Новосадова¹, С. А. Антонов¹, Е.Л. Арсеньева¹, Л.Г. Хаспеков², М.Ю. Бобров^{3,4}, В.В. Безуглов³, В.З. Тарангул¹, С.Н. Иллариошкин², И.А. Гривенников¹

¹Институт молекулярной генетики, НИЦ «Курчатовский институт»; ²Научный центр неврологии; ³Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ⁴НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва

Индукцированные плюрипотентные стволовые (ИПС) клетки человека являются уникальной моделью для изучения молекулярно-генетических основ развития нейродегенеративных процессов в ЦНС и для скрининга соединений с нейропротекторной активностью. В настоящей работе мы исследовали действие двух представителей семейства эндоканнабиноидов N-арахидоноилдофамина (АДА) и N-докозагексаеноилдофамина (ДДА) в клеточных культурах нейрональных предшественников и зрелых нейронов, дифференцированных из ИПС клеток человека, полученных от нормальных доноров и пациентов с болезнью Паркинсона. Эксперименты проводились на клетках, растущих в нормальных условиях и клетках, подвернутых окислительному стрессу, индуцированного перекисью водорода. Было показано, что АДА и ДДА в концентрациях 0,1–10 мкМ не обладали токсическим эффектом на терминально дифференцированные нейроны, включая субпопуляцию дофаминергических нейронов, полученные ИПС клеток здорового донора. При изучении влияния перекиси водорода на жизнеспособность нейронов было показано его преимущественное токсическое действие на дофаминергические нейроны (ТН-положительные клетки). В условиях окислительного стресса АДА и ДДА в концентрации 5 мкМ обладали нейропротекторным действием как на нейрональные предшественники, так и на зрелые нейроны, дифференцированные из ИПС клеток человека, полученных как от нормальных доноров, так и от пациентов с болезнью Паркинсона. Было отмечено, что АДА и ДДА в концентрации 5 мкМ при длительном культивировании нейрональных предшественников (до 6 суток) обладали токсическим эффектом на эти клетки, снижая их количество примерно в 2,5 раза. Полученные результаты следует учитывать при разработке лекарственных средств на основе эндоканнабиноидов. *Работа выполнена при поддержке гранта РФ (проект № 21-15-00103).*

ПРИНЦИПЫ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНОЙ СЕТЧАТКИ

М.А. Островский^{1,3}, М.П. Кирпичников^{2,3}

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; ²Институт биорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ³МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

Протезирование дегенеративной сетчатки – первое, наиболее реальное и ближайшее применение методов оптогенетики в клинической практике.

Ганглиозные клетки дегенеративной сетчатки – наиболее перспективны для оптогенетического протезирования.

Катионный и анионный каналы родопсины наиболее реальные на сегодняшний день «инструменты» для оптогенетического протезирования ганглиозных клеток.

Адено-ассоциированный вирус, сопряженный со специфичным для данного нейрона промотором, является наиболее приемлемым вектором для доставки гена родопсина к нервным клеткам сетчатки.

Опыты на животных не позволяют оценить качество восстановленного зрения. Первые результаты клинических испытаний показали несомненную перспективность оптогенетического протезирования дегенеративной сетчатки.

«Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2020-795, внутренний номер 13.1902.21.0027)».

1. Sahel, J.A., Boulanger-Scemama, E., Pagot, C. *et al.* Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nature Medicine* (2021). <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4>.

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЗРЕНИЯ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ

С.Ш. Гапизов^{1,2,3}, Л.Е. Петровская², А.Ю. Малышев¹, Г.Р. Смирнова¹, Д.Е. Колодова¹, О.С. Иджилова¹, Е.А. Крюкова^{1,2}, О.В. Некрасова², Д.А. Долгих^{1,2,3}, М.П. Кирпичников^{2,3}, М.А. Островский^{1,3}

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; ²Институт биорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ³МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

Одной из главных причин слепоты являются заболевания, приводящие к нейродегенеративным поражениям сетчатки глаза (пигментный ретинит, возрастная макулярная дистрофия и другие), которые сопровождаются потерей чувствительности фоторецепторных клеток и патологическими изменениями различных типов нейронов. Инновационным подходом для восстановления зрения является оптогенетическое протезирование, то есть придание нейронам сетчатки светочувствительности при помощи экспрессии в них светочувствительных белков – опсинов. В качестве инструментов оптогенетического протезирования были выбраны каналы родопсины, в частности, катионный (ChR2), возбуждающий передачу нервного импульса, и анионный (ACR2), тормозящий ее. Целью нашей работы является создание генетических конструкций, обеспечивающих моделирование ON-OFF взаимодействий рецептивного поля ганглиозных клеток (ГК) сетчатки путем направленной экспрессии светочувствительных белков в центральном и периферическом отделах с помощью специальных якорных последовательностей.

Основной проблемой на пути достижения этой цели является обеспечение экспрессии гена опсина на периферии ГК, поскольку механизмы периферической (дендритной) локализации белков в нейронах изучены недостаточно. Нами получены конструкции, содержащие ген ChR2 с нацеливающей последовательностью PSD95.FingR, которая обеспечивает взаимодействие с белком постсинаптической плотности PSD-95, а также ChR2 с последовательностью миозин-связывающего домена меланофилина (MBD). Проводится изучение применимости для оптогенетического протезирования новых ретинальных белков с повышенной светочувствительностью, в частности, ACR2 с модифицированной топологией и средневолнового (MW) опсина позвоночных. *Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2020-795, внутренний номер 13.1902.21.0027).*

ВЫЯВЛЕНИЕ НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ СЕТЕВОГО И СЕМАНТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПУБЛИКАЦИЙ

Ф.Т.Алескеров^{1,2}, П.Д.Бахтин², А.С.Ломакина², О.Е.Хуторская¹, В.И.Якуба^{1,2}

¹Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН; ²НИУ «Высшая школа экономики», Москва

С применением алгоритмов интеллектуального анализа больших данных был выделен набор из более чем 10 тыс. публикаций по нейродегенеративным заболеваниям. На таком объеме данных проведен семантический анализ публикаций по более чем 30 нейродегенеративным заболеваниям. На основе полученных данных были применены методы анализа цитирований с использованием сетевых моделей и оценок центральности элементов исследования в контексте кластеров: групп заболеваний, направлений исследований по заболеваниям. Предложенная методика позволяет выявлять наиболее значимые публикации по каждому из направлений тематик по заболеваниям (клиника, генетика, фармакология, и др.), а также позволяет получить представление о ходе развития исследований по широкой группе нейродегенеративных заболеваний и выявить возникающие наиболее актуальные направления исследований в определенные временные периоды.

РОЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

И.Н. Абдурасулова *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*

В настоящее время общепризнано, что сбалансированный кишечный микробиоценоз важен для нормальной жизнедеятельности организма, а изменение состава населяющих кишечник микроорганизмов (дисбиоз) является причиной многих заболеваний. Имеется ряд данных, указывающих на вовлечение микробиоты кишечника в развитие рассеянного склероза (РС) – аутоиммунного демиелинизирующего заболевания ЦНС, поражающего людей трудоспособного возраста. Установлено, что

нейровоспаление аутоиммунные реакции играют роль на начальных этапах РС, а нейродегенерация является причиной прогрессирования заболевания и инвалидизации заболевших. На экспериментальной модели РС – экспериментальном аллергическом (аутоиммунном) энцефаломиелите (ЭАЭ) продемонстрировано вовлечение кишечной микробиоты в развитие заболевания и показано, что она может влиять на ключевые патогенетические звенья – проницаемость гематоэнцефалического барьера, дифференцировку Th17 клеток. Не только патогенные, но и симбиотические бактерии (*Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp.), населяющие кишечник, имеют в своих белках потенциально энцефалитогенные последовательности, которые могут активировать и праймировать патогенные Th17 клетки. Предположение, что кишечный дисбиоз является ключевым моментом в развитии РС, нашло подтверждение в наших экспериментальных и клинических исследованиях. У крыс с индуцированным ЭАЭ мы выявили характерные изменения состава микробиоты кишечника у животных с симптомами заболевания и бессимптомным течением. В исследованиях на животных показано, что введение пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 снижает тяжесть ЭАЭ и оказывает иммуномодулирующее действие. В когорте пациентов с РС было выделено 2 типа изменений кишечного микробиома в соответствие с высоким и низким уровнем Bacteroidetes. Каждый тип, в свою очередь, делился на 3 подтипа, отличающиеся содержанием Actinobacteria, Euryarchaeota и Verrucomicrobia. Выявленные паттерны КМ у пациентов могут отражать гетерогенную клинко-патоморфологическую картину РС, а также длительность и тяжесть заболевания, влияние проводимой терапии или особенности иммунного статуса. Так, пациенты с разными типами КМ различались субпопуляционным составом циркулирующих Th клеток: доля Th2 была выше у пациентов с 1 типом КМ, доля Th17 – у пациентов со 2 типом КМ, при этом у пациентов с подтипом 2.2 КМ было также увеличено количество DP Th17, а у пациентов с подтипом 2.1 КМ – Th17.1. Полученные результаты подтверждают гипотезу о роли кишечной микробиоты в патогенезе РС и свидетельствуют, что КМ может представлять новую патогенетическую мишень для иммуномодуляции.

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА МЫШЕЙ, ПРОШЕДШИХ ТЕСТ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО ПЛАВАНИЯ

И.Н. Власов, Е.В. Филатова, П.А. Сломинский, М.И. Шадрин

Институт молекулярной генетики, НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Депрессивные расстройства – одни из самых тяжелых и широко распространенных аффективных расстройств. По данным ВОЗ, депрессией в мире страдает более 260 млн. человек. Несмотря на активно ведущиеся исследования не существует единой ясной картины патогенеза болезни. Одним из способов исследования патогенеза депрессии являются животные модели. Среди всех используемых в исследовании депрессии моделей тест принудительного плавания является наиболее широко известным и часто используемым. Однако, несмотря на широту его применения, не существует ни одной работы, в которой проводилось бы профилирование транскриптома мозга грызунов, подвергшихся тесту принудительного плавания. Поэтому в этой работе мы провели транскриптомное профилирование гиппокампа крыс, подвергшихся тесту принудительного плавания. В исследовании были использованы ткани крыс, выведенных из эксперимента через 20 минут (группа 20 минут) и через 24 часа (группа 24 часа) после теста принудительного плавания. Было выявлено 14 значимо дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в группе 20 минут. В группе 24 часа значимо ДЭГ выявлено не было. Для 14 ДЭГ был проведен энричмент терминами GO Biological process, а также поиск взаимосвязей между генами на основании литературных данных и ко-экспрессии. Была выявлена группа из 5 ДЭГ (*Dusp1*, *Fos*, *Klf2*, *Ccn1* and *Zfp36*), продемонстрировавших взаимосвязь как на основании литературных данных, так и на основании паттернов ко-экспрессии.

ДИСФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ КАК ПРЕДПОСЫЛКА РАЗВИТИЯ СПОРАДИЧЕСКОЙ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Н.Г. Колосова, М.А. Тюменцев, Н.А. Муралева, Н.А. Стефанова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Все больше данных свидетельствует о том, что дисфункция митохондрий (М) является ранним событием в развитии спорадической (>95% случаев) болезни Альцгеймера (БА), но ее вклад в переход от здорового старения к развитию заболевания остается не ясным. Этот вопрос мы исследовали на крысах OXYS, у которых спонтанно развиваются ключевые признаки заболевания. Уже на «доклинической» стадии у крыс OXYS выявляются структурно-функциональные изменения М в нейронах гиппокампа и коры мозга, нарастающие при манифестации признаков БА (в возрасте 3–5 мес.) и их прогрессии (18–24 мес.). Так, в 20 дней в М коры и гиппокампа у крыс OXYS снижена активность комплекса IV дыхательной цепи, что типично для пациентов с БА, выявляются отклонения в динамике и трафике М на фоне изменений содержания и/или соотношения уровней белков слияния и деления М – MFN1, MFN2 и DRP1. Манифестация и прогрессия признаков БА – деструктивных изменений и гибели нейронов, синаптической недостаточности, гиперфосфорилирования тау-белка, усиленного накопления Aβ1-42 и образования амилоидных бляшек в мозге, снижения памяти и способности к обучению – происходят у крыс OXYS на фоне нарастающей дисфункции и значительного снижения удельного количества М в нейронах гиппокампа и коры мозга. В основе структурно-функциональных изменений М лежат изменения экспрессии соответствующих генов. Как показал анализ транскриптома (данных RNA-seq), экспрессия связанных с митохондриями генов в коре мозга крыс OXYS изменена в возрасте 20 дней («доклинический» период) и в периоды манифестации и прогрессии признаков БА. На всех стадиях развития заболевания изменения экспрессии генов также связаны с нейрональной пластичностью, каталитической активностью, липидными и иммунными процессами. Сравнение транскриптомов коры мозга крыс OXYS в возрасте 18 мес. и пациентов с БА выявило сходство в изменении экспрессии генов, связанных прежде всего с митохондриями, иммунной, эндокринной и кровеносной системами, сигнальной трансдукцией, нейронными и синаптическими процессами, гипоксией и апоптозом. Таким образом, установлено, что дисфункция митохондрий опосредует и/или даже инициирует патологические молекулярные каскады у крыс OXYS и может рассматриваться как предиктор развития БА у людей. *Исследование поддержано грантом РФФ № 19-15-00044.*

ДЛИННАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК Neat1 РЕГУЛИРУЕТ ОТВЕТ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НА СТРЕССОВЫЕ СТИМУЛЫ **М.С. Кухарский^{1,2}, О.А. Лыткина², Р.К. Овчинников^{1,2}, Е.А. Лыскова², Т.В. Шелковникова²**

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва;

²Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка

Длинные некодирующие РНК (днРНК) широко представлены в нервной системе млекопитающих и вовлечены в регуляцию множества внутриклеточных функций, таких как образование нейритов, синаптогенез, нейрональная пластичность и т.д. Для некоторых днРНК показана прямая связь с развитием нейродегенеративных (НДЗ) и психических заболеваний. Изменение уровня днРНК Neat1 наблюдается в ЦНС пациентов с болезнью Альцгеймера, эпилепсией, шизофренией и др. Однако до конца не ясно, какую роль Neat1 играет в нервной системе в норме и какие механизмы при патологических процессах требуют ее вовлечения. Нами была исследована роль нарушения функции днРНК Neat1 в нейропатологии с использованием генетически модифицированных мышей, в которых воспроизводятся два основных типа функционального нарушения работы гена, кодирующего Neat1: потеря функции и ее избыточность. В результате мы показали, что Neat1 может выступать в качестве независимого патогенетического фактора ряда НДЗ и психических расстройств. Было установлено, что отсутствие Neat1 у модельных животных изменяет возбудимость нейронов и ведет к нарушению адаптивного ответа на стрессовые стимулы на уровне целого организма. Ключевыми характеристиками фенотипа данной линии мышей являлись такие признаки как чрезмерная реакция на стресс, гиперактивность, дизингибирование, импульсивность. Анализ транскриптомов тканей коры головного мозга нокаутных мышей показал, что лишь небольшое количество генов значительно изменили свою экспрессию в ответ на потерю функции Neat1. В тоже время наблюдались изменения в альтернативном сплайсинге значительного числа генов, которые оказались функционально связаны с синаптическими функциями и мРНК процессингом. У мышей с эктопной экспрессией Neat1 в ЦНС также наблюдались нарушения поведенческих реакций, связанных с активностью и тревожностью. Мы предполагаем, что Neat1 выполняет функции тонкой настройки работы ЦНС, в частности поведенческих реакций, в стрессовых условиях на организменном уровне. Это согласуется с общими представлениями о том, что Neat1 представляет собой стресс-регулируемую РНК на клеточном уровне. *Исследование поддержано грантом РФФИ (№ 20-34-70059).*

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛОБНО-ВИСОЧНОЙ ДЕМЕНЦИИ НА ТРАНСГЕННЫХ МЫШАХ С МЕДЛЕННО ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ FUS-ПРОТЕИНОПАТИЕЙ

Е.А. Лыскова^{1,2}, С. Фуников³, А.П. Резвых^{3,4}

¹Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка; ²Институт биологии гена РАН, Москва;

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Москва; ⁴Московский физико-технический институт, Долгопрудный

Нарушение функций ДНК/РНК-связывающего белка FUS является ключевым звеном, объединяющим молекулярные механизмы развития некоторых форм бокового амиотрофического склероза (БАС) и лобно-височной деменции (ЛВД). Наиболее часто встречающиеся ассоциированные с болезнями мутации в гене FUS локализованы в домене сигнала ядерной локализации и вызывают накопление белка в цитоплазме. В линии трансгенных мышей с высоким уровнем экспрессии aberrантной формы белка FUS человека (FUS1-359) воспроизводятся основные патофизиологические характеристики БАС. В другой линии – L-FUS[1-359], с таким же числом встроенных копий трансгенной кассеты на 11 хромосоме, уровень экспрессии этой трансгенной кассеты значительно ниже по сравнению с первой линией животных, в которой встраивание трансгена катрировано на 12 хромосоме. Иммуногистохимическое окрашивание антителами против человеческого FUS выявило диффузно распределенные включения в цитоплазме нейронов у L-FUS[1-359] мышей в основном в лобной и височной долях головного мозга, что может быть причиной развития у них поведенческих и когнитивных нарушений. Гомозиготные животные уже в возрасте 5 месяцев проявляли сниженную тревожность в темно-светлой камере и приподнятом О-лабиринте, а уровень их социального взаимодействия также был снижен в тесте резидент-интродер по сравнению с контрольными животными дикого типа. Транскриптомы спинного мозга L-FUS[1-359] мышей были исследованы методом полногеномного секвенирования РНК. Были выявлены группы генов с измененной экспрессией. Биоинформационный анализ показал, что кодируемые выявленными генами белки вовлечены в процессы клеточной адгезии, организацию внеклеточного матрикса, влияют на процессы дифференцировки нейронов. Полученные данные указывают на то, что эти белки могут быть вовлечены в молекулярные каскады, обеспечивающие собственные защитные механизмы в двигательных нейронах для подавления FUS-протеинопатии. *Содержание животных обеспечено программой поддержки биоресурсных коллекций ИФАВ РАН и проведено на оборудовании ЦКП ИФАВ РАН в рамках Гос. задания ИФАВ РАН (ГЗ № 0090-2019-0005). Определение копийности и встраивания трансгена было поддержано грантом 075-15-2019-1661 Министерства науки и высшего образования РФ. Анализ секвенирования РНК был поддержан грантом РФФИ 20-34-90028.*

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО МИМЕТИКА NGF ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин

НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва

Физиологическая роль фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) в течение многих лет определяет задачи поиска фармакологически пригодных миметиков нейротрофина. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова в развитие гипотезы о фармакофорных свойствах наиболее экспонированных участков петлеобразных структур нейротрофинов, сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики 1-й, 3-й и 4-й петель NGF [Патент РФ №2410392, 2010; Патент США US 9,683,014 B2, 2017; Патент EP 2397488, 2019; Патент КНР CN 102365294 B, 2016]. Проведено сравнительное изучение нейропротекторной активности новых соединений на экспериментальной модели ишемического инсульта при транзиторной окклюзии средней мозговой артерии у крыс. Соединения вводили внутривенно в течение 7 дней после операции с разными

интервалами «терапевтического окна». Миметик 4-й петли NGF (гексаметилендиамид бис-(моносуцинил-L-глутамил-L-лизина)) обладал наибольшей активностью снижая объем ишемического повреждения, в зависимости от времени начала введения, на 20-60% и уменьшая проявления неврологических нарушений. Наиболее важно, что ГК-2 сохранял активность при увеличении терапевтического окна до 24 ч, что определяет возможные превосходства нового соединения перед известными нейропротекторами. С использованием Вестерн-блот анализа показано, что ГК-2 восстанавливал нарушенный гиппокампальный нейро- и/или глиогенез (по Ki/67) в гиппокампе и синаптогенез в стриатуме (по PSD-95). Установлено, что ГК-2 обладает, сходно с NGF, нейропротекторной, когнитотропной, антидепрессивной активностями, однако свободен от побочных эффектов полноразмерного белка, гиперальгезии и потери веса. ГК-2 малотоксичен (LD50 ~700 мг/кг, мыши), при хроническом введении не оказывает местно-раздражающего действия, лишен репродуктивной токсичности, не обладает аллергизирующими свойствами, иммуноотоксичностью, мутагенностью, канцерогенностью. Фармакокинетически установлено, что дипептид проникает через ГЭБ при системном введении. Разработана лекарственная форма соединения для внутривенного применения, фармакологическая эффективность которой подтверждена экспериментально. Таким образом, дипептидный миметик NGF ГК-2 можно рассматривать в качестве кандидата для нейропротекторной терапии ишемического инсульта. *РНФ (проект 18-15-00381).*

ЭКСПРЕССИОННОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ В ТКАНЯХ МОЗГА МЫШЕЙ С МФТП-ИНДУЦИРОВАННЫМИ МОДЕЛЯМИ РАННИХ СТАДИЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

М.М. Руденко¹, А.Х. Алиева¹, Е.В. Филатова¹, И.Н. Рыболовлев¹, А.А. Колачева², М.В. Угрюмов², П.А. Сломинский¹, М.И. Шадрин¹

¹Институт молекулярной генетики, НИЦ Курчатовский институт; ²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний и характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов среднего мозга. Нейродегенеративные процессы инициируются задолго до первых клинических проявлений, по которым ставят диагноз. Ввиду невозможности изучения эндогенных процессов, происходящих в мозге пациентов с БП на ранних стадиях, одним из основных подходов является исследование моделей, воспроизводящих самые ранние этапы патогенеза БП. Нами был проведен транскриптомный анализ тканей мозга мышей с МФТП-индуцированными моделями ранних досимптомных, поздней досимптомной и ранней симптомной стадий БП. Анализ проводился при помощи микрочипов «Illumina» (США) и ПЦР в реальном времени с использованием технологии TaqMan. В ходе проведенных работ показано последовательное усиление реакции транскриптома в развитие процессов нейродегенерации у мышей с МФТП-индуцированными моделями ранних стадий БП. Также было показано, что гены, вовлеченные в процессы миелинизации нейрона, митохондриального биогенеза и клеточного транспорта, изменяют свою экспрессию на самых ранних этапах развития нейродегенерации. Такие данные позволяют предполагать, что эти процессы могут участвовать в механизмах инициации нейродегенерации при БП. При экспрессионном анализе отдельных генов в тканях мозга мышей с МФТП-индуцированными моделями ранних стадий БП наблюдается разнонаправленное изменение экспрессии генов белков активаторов и репрессоров митохондриального биогенеза с преимущественным снижением их экспрессии. Снижение экспрессии генов белков активаторов митохондриального биогенеза приводит к усилению процессов нейродегенерации, что частично компенсируется снижением экспрессии генов белков репрессоров митохондриального биогенеза. Впервые были получены данные об изменении экспрессии гена *Anxa2*, вовлеченного в процессы клеточного транспорта. Полученные результаты позволяют рассматривать данный ген в качестве одного из наиболее вероятных генов-кандидатов БП. Корреляция изменений относительных уровней мРНК гена *Ver* в черной субстанции и периферической крови мышей с МФТП-индуцированными моделями БП позволяют рассматривать уровни мРНК этого гена как потенциальный биомаркер развития патологии на ранних клинических и доклинических стадиях БП.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Д.В. Телегина, О.С. Кожевникова, А.К. Антоненко, Н.Г. Колосова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Возраст – ведущий фактор риска возрастной макулярной дегенерации (ВМД), основной причины необратимой потери зрения людьми в возрасте старше 60 лет. Эффективных способов лечения ВМД нет, что обусловлено неполнотой знаний патогенеза. В его основе лежат характерные для старения изменения сетчатки, но механизмы, запускающие переход обычных возрастных изменений в патологический процесс, остаются неясными. Закономерно, что манифестации клинических проявлений заболеваний предшествуют и сопутствуют события, происходящие на молекулярном уровне, изучать которые на людях проблематично. Настоящее исследование выполнено на уникальной модели преждевременного старения – линии крыс OXYS, у которых развивается ретинопатия, по всем ключевым признакам соответствующая «сухой» форме ВМД у людей. Его целью было исследовать вклад изменений постнатального нейрогенеза сетчатки в развитие у крыс OXYS ВМД-подобной ретинопатии. Сетчатка млекопитающих во взрослом состоянии почти не способна к нейрогенезу *de novo*, в связи с чем заложенные в период ее формирования структурно-функциональные особенности могут иметь отдаленные эффекты в онтогенезе. Мы обнаружили, что крысы OXYS рождаются со значительно сниженной популяцией амакриновых и компенсаторно повышенными популяциями ганглионарных и горизонтальных нейронов в сетчатке. Постнатальное развитие сетчатки крыс завершается к 20 дню жизни и характеризуется у крыс OXYS сдвигом хронологии дифференцировки биполярных клеток и фоторецепторов и, как следствие, более поздним формированием наружного сетчатого слоя, состоящего из синапсов между фоторецепторами, биполярными и горизонтальными клетками. Задержка начала синаптогенеза в сетчатке крыс OXYS становится причиной повышенного уровня апоптоза и усиленной редукции нейронов. Таким образом, у крыс OXYS к моменту открытия глаз процессы

дифференцировки фоторецепторов и синаптогенез не завершены, что может приводить в дальнейшем к существенному изменению структуры и функций сетчатки. Полученные результаты позволили предположить, что задержка формирования сетчатки может быть предиктором развития признаков ВМД у крыс ОХУС и, возможно, этого заболевания у людей. *Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-15-00047.*

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ МАКРОФАГОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ GBA

Т.С. Усенко^{1,2}, А.А. Пантелеева^{1,2}, К.С. Башарова¹, М.А. Николаев^{1,2}, А.Е. Копытова¹, А.И. Безрукова¹, К.А. Сенкевич^{1,2}, И.В. Милюхина^{2,3}, Е.Ю. Захарова⁴, С.Н. Пчелина^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

³Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург; ⁴Научный центр медицинской генетики, Москва

Мутации в гене GBA являются фактором высокого риска с болезни Паркинсона (БП). Однако, не у каждого носителя мутаций в гене GBA развивается БП в течение жизни. Цель: проанализировать профиль экспрессии генов первичной культуры макрофагов периферической крови пациентов с БП, ассоциированной с мутациями в гене (GBA-PD) по сравнению с бессимптомными носителями мутаций в гене GBA (GBA-носители) и неврологически здоровыми индивидуумами (контроль) Секвенирование тотальной РНК первичной культуры макрофагов периферической крови 5 пациентов с GBA-БП, 4 GBA-носителей, 4 индивидуумов контрольной группы, проводили на приборе HiSeq1500 (Illumina, США). Анализ дифференциальной экспрессии генов с использованием пакета DESeq2 (v.1.30.1) в среде R (v.4.0.3). Дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ) были выбраны на основе порога кратности изменения экспрессии (FC) (FC>1.5) и порогозначимости FDR <0.05. Анализ обогащения функциональной принадлежности всех выявленных ДЭГов был проведен с помощью пакета fgsea (v.1.16.0) в среде R (v.4.0.3).

28 ДЭГов были выявлены у пациентов с GBA-БП по сравнению с контрольной группой, 8 ДЭГов у GBA-носителей по сравнению с контролем и 23 ДЭГа у пациентов с GBA-БП по сравнению с GBA-носителями. Согласно результатам анализа обогащения, выявленные гены были вовлечены в процессы, связанные с воспалительным ответом, аутофагией, митохондриальными сетями, передачей сигналов клеток. С помощью диаграммы Венна было выявлено два ДЭГа, HOOK2, JUNB, которые дифференциально экспрессировались у пациентов с GBA-БП и GBA-носителей по сравнению с контролем, что позволяет предположить, что изменение экспрессии этих генов характерно для всех носителей мутаций GBA, также было выявлено два ДЭГа, IL31RA, ACOD1, которые дифференциально экспрессировались у GBA-носителей по сравнению с контролем и GBA-БП и могут рассматриваться, как потенциальные генетические протективные факторы развития БП у носителей мутации GBA и 7 ДЭГов, COLEC12, RPL18, ARL4C, TPSTP1, TRIM13, BCL6, DUSP1, которые дифференциально экспрессировались у пациентов с GBA-БП по сравнению и с GBA-носителями, и контролем и могут рассматриваться как потенциальные триггеры БП среди носителей мутаций GBA. *Исследование поддержано грантом РНФ No. 19-15-00315.*

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БЕТА-СИНУКЛЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ДОФАМИНОВОЙ ТРАНСМИССИИ СИНАПТИЧЕСКИМИ ВЕЗИКУЛАМИ

К.Д. Чапров

Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка

Синаптическая передача нервного импульса посредством дофамина (ДА) используется во многих нейронных сетях и ее нарушения приводят к развитию тяжелых психических и неврологических заболеваний, в число которых входит болезнь Паркинсона (БП). Исследование механизмов, регулирующих оборот ДА и его захват синаптическими везикулами, является важным этапом на пути выявления молекулярных мишеней для разработки подходов к оптимизации ДА трансмиссии и коррекции ее нарушений. Важная роль отводится белкам семейства синуклеинов, однако непосредственный механизм их участия в регуляции ДА трансмиссии недостаточно изучен. В работе была изучена роль бета-синуклеина в регуляции ДА трансмиссии в синапсах ДА нейронов. Для моделирования нарушения функции синуклеинов были использованы линии мышей с конститутивными нокаутами синуклеинов. Было установлено, что в препаратах синаптических везикул, выделенных из дорзального стриатума мозга бессинуклеиновых мышей (тройной нокаут по всем трем синуклеиновым генам), уровень захвата радиоактивно-меченого ДА синаптическими везикулами существенно снижен. При этом уровни захвата ДА в препаратах синапсом не менялся, что свидетельствовало об отсутствии дефекта обратного захвата ДА транспортером DAT. Сравнительный анализ препаратов из мозга мышей с комбинациями нокаутов по синуклеинам выявил наиболее выраженное снижение уровня захвата ДА синаптическими везикулами при отсутствии бета-синуклеина. Добавление экзогенного бета-синуклеина как *in vitro* к очищенным везикулам, так и *in vivo* путем лентивирусной доставки стереотаксическими инъекциями экспрессионных кассет в мозг животных вело к повышению эффективности захвата ДА везикулами. Это первое экспериментальное доказательство роли бета-синуклеина в оптимизации захвата ДА синаптическими везикулами. На батарее линий нокаутных мышей с делецией генов синуклеинов в различных комбинациях была изучена чувствительность ДА нейронов черной субстанции к нейротоксину МФТП и показано, что именно бета-синуклеин потенцирует везикулярное поглощение MPP⁺ в ДА нейронах и их токсическое поражение. *Исследование поддержано грантом РНФ (№ 19-14-00064), содержание и размножение животных проведено на оборудовании ЦКП ИФВ РАН при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (№ 075-15-2020-795).*

НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ АКТИВАТОРОВ PGC-1 α ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ф.М. Шакова, Г.А. Романова

НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва

Тенденция роста заболеваемости цереброваскулярными патологиями требует разработки эффективных терапевтических стратегий, направленных на предупреждение острой и хронической ишемии мозга, коррекцию ее последствий и успешную реабилитацию. Одним из наиболее перспективных направлений патогенетически обоснованной таргетной терапии является фармакологическая индукция и активация транскрипционного коактиватора PGC-1 α – ключевого регулятора энергетического гомеостаза и механизмов толерантности мозга к ишемии. Фармакологических препаратов с известной способностью модулировать PGC-1 α имеется крайне мало. Цель исследования заключалась в выявлении потенциальной PGC-1 α -модулирующей активности двух препаратов, имеющих множественные нейропротекторные эффекты и принадлежащих разным фармакологическим группам – Мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) и Семакс (пептид-миметик АКТИГ(4-7); Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) – на модели фотохимически индуцированного тромбоза сосудов префронтальной коры головного мозга крыс. Препараты применяли 7-дневным курсом: Мексидол вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг, Семакс – интраназально в дозе 25 мкг/кг. Уровень экспрессии PGC-1 α и PGC-1 α -зависимых белков-маркеров биогенеза митохондрий (NRF1, TFAM, NDUFB2, SDHA, *cyt c1*, COX2, ATP5A), ангиогенеза (VEGF), синаптогенеза (SYN) в перинфарктной зоне оценивали иммуноблоттингом на протяжении 21 дня постшемического периода (1-е, 3-и, 7-е сутки после фототромбоза и начала терапии, 14 дней после отмены препарата). Уровень ядерного PGC-1 α оценивали иммуногистохимически. Было показано, что Мексидол и Семакс снижали количество дегенерирующих нейронов. Через 24 ч после фототромбоза была обнаружена супрессия PGC-1 α в зоне пенумбры, которая выявлялась на протяжении 21 дня постшемического периода и отражала прогрессивное уменьшение количества нейронов и снижение экспрессии PGC-1 α в отдельных нейронах. Показано, что курсовое введение препаратов Мексидол и Семакс сопровождалось поддержанием количества нейронов в пенумбре и экспрессии в них PGC-1 α , стимуляцией ядерной транслокации PGC-1 α и увеличением уровня белков-маркеров активации PGC-1 α . Исследование открывает новые перспективы фармакологической модуляции уровня PGC-1 α в ишемизированном мозге.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРА ГИМАНТАНА НА УРОВЕНЬ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В МОЗГЕ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ПАРКИНСОНОВСКОГО СИНДРОМА

Н.А. Воронина¹, В.Г. Кучеряну¹, Л.А. Ветрилэ¹, В.В. Голоборщева¹, И.Г. Капица², Т.А. Воронина²

¹НИИ общей патологии и патофизиологии; ²НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва

Одним из главных механизмов гибели nigrostriatalных дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона является нейровоспаление в результате активации микроглии, что приводит к усиленному выделению провоспалительных цитокинов в мозге, которые через транскрипционный фактор NF- κ B вызывают апоптоз ядра. В предыдущих наших исследованиях показано, что производный адамантана–гиммантан (Гим) оказывал антипаркинсонический и нейропротективный эффекты, снижая выраженность паркинсонической симптоматики на ранней фазе развития паркинсонического синдрома (ПС) у мышей, вызванного введением пронейротоксина МФТП [Воронина Н.А. и др., 2019]. Для выяснения механизма нейропротективного эффекта гиммантана изучали его воздействие на уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, Интерферона- γ (Ин- γ) и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в nigrocaudatalном комплексе мышей на ранней и поздней клинической фазе ПС у мышей.

Раннюю и позднюю клиническую фазу ПС создавали у мышей линии C57BL/6J системным введением МФТП в дозе 4 раза по 12 мг/кг и 4 раза по 20 мг/кг с интервалом 2 часа, соответственно [Ugrumov M.V. et al., 2011]. Гим вводили мышам в дозе 20 мг/кг предварительно каждый раз за 30 мин до введения МФТП. После извлечения мозга на 15 день от начала введения МФТП отделяли nigrocaudatalный комплекс, взвешивали и гомогенизировали в буфере для лизиса. После центрифугирования 10 000 g в течение 5 мин. супернатанты замораживали и хранили при температуре -85° C. Содержание цитокинов в структурах мозга мышей определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем производства «Cloud-Clone Corporation», США и считывающего устройства "ИФА-reader" "ImmunoChem-2100", США при длине волны $\lambda=450$ нм. Чувствительность метода для каждого цитокина составлял 3,0 пг/мл. Концентрацию цитокинов в nigrocaudatalном комплексе нормировали на мг ткани. Статистический анализ результатов проводили с использованием алгоритмов компьютерной программы "STATISTICA" 10.0 с помощью однофакторного дисперсионного анализа ONE-WAY ANOVA.

На ранней клинической фазе ПС в nigrocaudatalном комплексе мышей было обнаружено увеличение уровня IL-1 β , IL-6, Ин- γ и ФНО- α по сравнению с контролем. Предварительное введение Гим приводило к снижению содержания цитокинов IL-1 β с $2,56\pm 0,2$ пг/мг ткани до $2,1\pm 0,09$ пг/мг ткани ($p=0,38$), Ин- γ с $5,96\pm 0,5$ пг/мг/ткани до $4,6$ пг/мг ткани ($p=0,02$) и ФНО- α с $5,96\pm 0,5$ пг/мг ткани до $4,6\pm 0,28$ пг/мг ткани ($p=0,024$) в nigrocaudatalном комплексе мышей после введения МФТП в дозе 4 x 12 мг/кг. На поздней клинической фазе ПС, вызванной введением МФТП в дозе 4x20 мг/кг наблюдали увеличение уровня всех изученных цитокинов. Предварительное введение Гим уменьшало только уровень цитокина IL-6 с $1,22\pm 0,8$ пг/мг/ткани до $0,8\pm 0,1$ пг/мг ткани ($p=0,02$) в nigrocaudatalном комплексе мышей с поздней стадией ПС.

Гиммантан при предварительном применении был способен более эффективно предотвращать образование провоспалительных цитокинов на ранней клинической стадии паркинсонизма, чем на поздней. Предполагается, что антипаркинсонический эффект гиммантана осуществляется, в том числе, за счет снижения уровня провоспалительных цитокинов в nigrostriatalной системе.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЛАУКОМЫ: ИССЛЕДОВАНИЕ СИГНАЛЬНОГО ЛИПИДОМА ВОДЯНИСТОЙ ВЛАГИ Н.В. Азбукина¹, Д.В. Чистяков², С.В. Горяинов³, В.Е. Бакшеева², В.И. Котелин⁴, С.Ю. Петров⁴, М.Г. Сергеева², Е.Н. Иомдина⁴, Е.Ю. Зерний^{2,5}

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики и ²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,

МГУ им. М.В. Ломоносова; ³Российский университет дружбы народов; ⁴НМИЦ глазных болезней имени Гельмгольца;

⁵Институт молекулярной медицины, Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова, Москва

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – широко распространенное нейроофтальмологическое заболевание, ассоциированное с аномалиями циркуляции водянистой влаги (ВВ) и повышением внутриглазного давления, и характеризующееся повреждением ганглиозных нейронов сетчатки, прогрессирующей оптической нейропатией и потерей зрения. Нейродегенеративные процессы при ПОУГ отличаются комплексным патогенезом, включающим окислительный стресс, эксайтотоксичность и другие факторы. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) и их производные оксилипины являются сигнальными липидами, регулирующими нейровоспаление и выживаемость нейронов. Оксилипины подгруппы простагландинов регулируют отток ВВ через трабекулярную сеть и увеосклеральный путь, и используются для терапии ПОАГ. Настоящая работа посвящена исследованию биохимических механизмов ПОАГ путем определения паттернов сигнальных липидов ВВ, включая омега-3 и омега-6 ПНЖК, оксилипины, а также производные фосфолипидов. С использованием таргетного липидомного анализа измерены уровни указанных липидных медиаторов в образцах ВВ пациентов с различными стадиями ПОУГ и здоровых индивидуумов. С применением статистических подходов ANCOVA и PLS-DA выявлены изменения содержания этих соединений, сопровождающие рост внутриглазного давления и прогрессирование заболевания. Кроме того, с помощью биоинформатического анализа предсказаны пути биосинтеза выявленных липидных маркеров ПОУГ. Показано, что, несмотря на разнообразие идентифицированных липидов (22 соединения), изменения, связанные с ПОУГ, обеспечиваются небольшим набором медиаторов, включающим 12,13-DiHOME, 9- и 13-NODE/KODE, арахидоновую кислоту и лизо-ФАТ. Эти наблюдения согласуются с уровнем экспрессии ферментов, продуцирующих выявленные медиаторы в тканях глаза, включая цитохромы P450 и фосфолипазы A2. В целом, полученные данные указывают на вклад путей с участием арахидоновой кислоты и ФАТ, а также окислительного стресса в патогенез ПОУГ и предлагают новые мишени для терапии этого заболевания. Примечательно, что аналогичные липидомные изменения обнаружены в слезной жидкости пациентов, что говорит о перспективности мониторинга ее состава в качестве неинвазивной диагностики глаукомы. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-15-00123).

ИЗМЕНЕНИЕ МАРК-ЗАВИСИМОГО ФОСФОРИЛОВАНИЯ АЛЬФА В-КРИСТАЛЛИНА В МОЗГЕ С ВОЗРАСТОМ И ПРИ РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Н.А. Муралева, Н.А. Колосова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Фосфорилирование – наиболее распространенная форма посттрансляционных модификаций белков в организме. С возрастом фосфорилирование белков увеличивается, сопровождается нарушением протеостаза и становится одной из причин развития возраст-зависимых заболеваний, включая болезнь Альцгеймера (БА). Молекулярный шаперон альфаВ-кристаллин (CryAB) участвует в регулировании протеостаза, обеспечивая контроль качества амилоида-бета (A β) и тау белка – основных патологических белковых агрегатов при БА – снижая их токсическое действие на окружающие клетки. МАРК-зависимое фосфорилирование (через p38МАРК и ERK1/2 киназы) определяет активность CryAB и находится в динамичном равновесии в физиологических условиях, однако, его изменение в мозге с возрастом и при развитии БА остается не известным. Исследование на уникальной модели преждевременно-стареющих крыс OXYS, у которых развиваются нейродегенеративные изменения мозга, аналогичные признакам БА у людей, показало, что повышение активности МАРК-зависимого фосфорилирования CryAB ассоциировано с развитием и активным прогрессированием признаков БА. Мы сравнили содержание белков CryAB, фосфо- (p-) Ser59-CryAB и p-Ser45-CryAB в мозге крыс OXYS на разных стадиях развития признаков БА, включая доклиническую, с изменением экспрессии генов p38МАРК и ERK1/2 сигнальных путей (sp) в гиппокампе и префронтальной коре. Наиболее значимые изменения выявлены в p38МАРК-зависимом фосфорилировании CryaB. Уровень p-Ser59-CryAB в мозге крыс Вистар (контроль) увеличивался с возрастом на фоне активации p38-МАРКsp. Подобные, но более значимые, изменения сопровождали развитие признаков БА у крыс OXYS. Совместная локализация Ser59-CryAB с A β на стадии активного прогрессирования признаков БА может рассматриваться как ответ на накопление белковых агрегатов для снижения их цитотоксичности. С возрастом в мозге крыс обеих линий ERK1/2sp активируется. Повышение уровня ERK1/2-зависимого фосфорилирования CryAB (pSer45-CryAB) выявлено на всех стадиях развития признаков БА у крыс OXYS. Таким образом, старение и развитие признаков БА происходят на фоне активации МАРК-зависимого фосфорилирования CryAB, которая значимо выше на всех стадиях развития БА, включая «доклиническую». Работа поддержана грантом РФФ № 19-15-00044.

КОГНИТОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДИПЕПТИДНОГО МИМЕТИКА МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГСБ-214 НА МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А.А. Волкова^{1,2}, П.Ю. Поварнина¹

¹НИИ фармакологии им. В.В. Закусова; ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) – нейротрофин, которому уделяется большое внимание в связи с нейропротекторными и нейродегенеративными свойствами, а также с его ролью в поддержании пластичности мозга. В литературе имеется большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о высоком терапевтическом потенциале BDNF для

лечения болезни Альцгеймера (БА). Применение BDNF в клинике ограничено неудовлетворительными фармакокинетическими свойствами и нежелательными побочными эффектами. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова на основе оригинальной гипотезы о том, что фармакофорными являются наиболее экспонированные участки петлеобразных структур нейротрофинов, был создан димерный дипептидный миметик 1-й петли BDNF гептаметилендиамид бис(N-моноосукцинил-L-метионил-L-серина) (ГСБ-214) [1] [Патент РФ №2410392, 2010; Патент US 9,683,014, 2017; Патент EP2397488, 2019; Патент CN102365294, 2016]. Методом Вестерн-блот анализа было показано, что ГСБ-214 активирует специфические для BDNF TrkB рецепторы и их PI3K/AKT и PLC γ пострецепторные сигнальные пути, без активации MAPK/ERK [2]. Целью данной работы было изучение мнемотропной активности ГСБ-214 на скополаминовой (SC) и стрептозотоциновой (STZ) моделях БА у крыс-самцов Вистар в тесте распознавания нового объекта. SC вводили в/б в дозе 2 мг/кг в течение 20 дней, затем в течение 10 дней вводили ГСБ-214 в дозах 0,05; 0,1 и 1,0 мг/кг (в/б). Тест распознавания нового объекта проводили на 32 и 33 день от начала введения SC. STZ вводили с помощью стереотаксиса в желудочки мозга в дозе 3 мг/кг. Введение ГСБ-214 (0,1 мг/кг, в/б) начинали через 1 ч после операции и продолжали в течение 13 дней. Тест проводили на 19 и 20 день после операции. Установлено, что на обеих моделях ГСБ-214 корректировал нарушения памяти. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки дипептида ГСБ-214 в качестве потенциального лекарственного средства для терапии БА. РНФ (проект 18-15-00381)

1. Гудашева Т.А. и др. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора // *Биоорг. химия*. 2012. Т. 38, № 3. С. 280–290.
2. Gudashева T.A. et al. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats // *Drug Des. Devel. Ther.* 2016. V. 10. P. 3545-3553

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДА-ЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ К МФТП У МЫШЕЙ С ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ ИНАКТИВАЦИЕЙ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

В.В. Голоборщев¹, Е.В. Тетерина², Н.А. Воронина¹, Р.К. Овчинников^{2,3}, В.Г. Кучеряну¹, С.Г. Морозов¹

¹НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва; ²Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка;

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва

Избирательное поражение ДА-ергических нейронов нигростриатной системы является одним из основных компонентов патогенеза болезни Паркинсона (БП). Установлено, что альфа-синуклеин, локализованный преимущественно в пресинаптических окончаниях, вовлечен в регуляцию высвобождения и захвата дофамина синаптическими везикулами и принимает участие в оптимизации процессов нейротрансмиссии в ДА-ергических нейронах. Нарушения его структуры, экспрессии и внутринейронной локализации приводят к формированию цитотоксических включений. В настоящее время в рамках изучения функции альфа-синуклеина при БП широко используются генетически модифицированные животные с селективной инактивацией гена альфа-синуклеина, а на высокотехнологичной установке CatWalk XT (Noldus) регистрировали ранние клинические признаки двигательных расстройств. По окончании тестирования животных забивали методом цервикальной дислокации и производили анализ уровней дофамина и его метаболитов (ДОФУК и ГВК) в стриатуме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Сравнительный анализ мышечных линий с генетическим нокаутом альфа-синуклеина и животных дикого типа, получавших токсин МФТП, выявил значительное снижение дофамина и его метаболитов в стриатуме, а также показал наличие изменений некоторых показателей походки, преимущественно иллюстрирующих интенсивность и форму контакта конечности с поверхностью. Однако проведенные базовые моторные тесты не продемонстрировали МФТП-индуцированных изменений ни в одной группе мышей.

НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ 1,4-НАФТОХИНОНОВ В МОДЕЛЯХ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПАРАКВАТОМ И 6-ОНДА *IN VITRO*

Е.С. Менчинская¹, Е.А. Чингизова¹, Е.А. Пислягин¹, Е.Ю. Сабуцкий¹, Д.Н. Пелагеев^{1,2}, С.Г. Полоник¹, Д.Л. Аминин^{1,3}

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток; ²Школа естественных наук, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток; ³Департамент биомедицинских наук и биологии окружающей среды, Медицинский университет Гаосюна, Тайвань

В настоящем исследовании мы оценили способность 1,4-нафтохинонов (1,4-NQ), составляющих комбинаторную мини-библиотеку из 44 соединений, защищать от гибели нейрональные Neuro-2a клетки и повышать их жизнеспособность в двух моделях *in vitro* болезни Паркинсона, вызванной нейротоксинами, паракватом (PQ) и 6-ОНДА. Была оценена способность соединений увеличивать жизнеспособность клеток, ингибировать образование активных форм кислорода (ROS) и оксида азота (NO) в клетках, влиять на проницаемость биомембран, клеточный цикл и митохондриальный мембранный потенциал в присутствии нейротоксинов, а также исследована антирадикальная активность 1,4-нафтохинонов. Было показано, что вещества U-134, U-573, U-623 и U-624, в концентрациях 0,1 и 0,01 μ M, повышали жизнеспособность клеток, обработанных паракватом, а вещества U-134, U-624, U-572, U-504, U-643, повышали жизнеспособность клеток, обработанных 6-ОНДА. Соединения U-

134, U-572, U-623, U-643 и U-625 (0,1 μM) нормализовали количество клеток в S-фазе по сравнению с PQ на 27-47% , а соединения U-134, U-572 и U-643 (0,1 μM) в присутствии 6-OHDA восстанавливали популяцию клеток в фазах S на 32-53% и фазе G2/M на 7-16%. PQ и 6-OHDA вызывали заметное увеличение количества ROS и продукцию NO в Neuro-2a клетках. Вещества U-134, U-572, U-623 и U-643 значительно снижали эти показатели в клетках, подвергшихся воздействию параквата, а соединения U-143, U-572 и U-643 – в клетках, обработанных 6-OHDA. U-625 был неэффективен. Также вещества U-134, U-572 и U-643 восстанавливали мембранный митохондриальный потенциал в клетках, обработанных обоими нейротоксинами. Вещества U-134, U-572, U-623, U-643 и U-625 проявили высокое радикал-связывающее действие в бесклеточном тесте DPPH в концентрациях 0,01 и 0,1 μM . Предполагается, что нейропротективный механизм действия изученных соединений связан с их выраженной антиоксидантной активностью. Таким образом, исследованные вещества показали себя как перспективные нейропротекторы в *in vitro* моделях болезни Паркинсона. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №19-14-00047.

НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ОСНОВЕ РАБОТЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ROLE OF SEROTONIN RECEPTORS IN REGULATION OF ASTROCYTE MORPHOLOGY AND FUNCTIONS

E. Ponimaskin

Hannover Medical School, Hannover, Germany

Astrocytes are an important component of the cellular network and crucial for proper brain function. They express receptors for serotonin (5-HT), an important neurotransmitter regulating various cellular processes and physiological functions. We have recently demonstrated that the serotonin receptors 4 (5-HT_{4R}) and 7 (5-HT_{7R}) are expressed in hippocampal astrocytes, both *in vitro* and *in vivo*. Using fluorescence microscopy, we established that 5-HT_{4R} activation leads to morphological changes of astrocytes by triggering RhoA activity via G α 13-mediated signaling, which then boosts filamentous actin assembly. Further, 5-HT_{4R}-RhoA signaling changes glutamatergic synaptic transmission: It increases the frequency of miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) in mixed cultures and reduces the paired-pulse-ratio (PPR) of field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) in acute slices. These findings render astrocytic 5-HT_{4R} signaling as a previously unrecognized molecular pathway involved in the functional regulation of excitatory synaptic circuits. Moreover, we developed a novel multi-threshold event detection (MTED) approach to analyze astrocyte Ca²⁺ dynamics shaped by serotonergic signaling and morphological changes. By stimulating primary astrocytes with 5-HT receptor subtype specific agonists, we receive distinct responses of astrocytic Ca²⁺ event patterns, which indicates a direct impact of the 5-HT signaling pathway.

РОЛЬ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ АСТРОГЛИИ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ПО ДАННЫМ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

О.Л. Власова¹, А.И. Ерофеев¹, Е.И. Герасимов¹, С.А.Пушкарева¹, А.А. Бородинова², А.В. Большакова¹,
А.Б. Салмина³, П.М. Балабан², И.Б. Безпрозванный^{1,4}

¹Лаборатория молекулярной нейродегенерации Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург; ²Лаборатория клеточной нейробиологии обучения, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва; ³Научный центр неврологии, Отдел исследований мозга, Лаборатория экспериментальной нейроцитологии, Москва; ⁴Отделение физиологии юго-западного медицинского центра Техасского университета, Даллас, США

Астроциты играют важную роль в поддержании и регуляции работы нейронных сетей головного мозга. За счет высвобождения глутаминергических астроцитов воздействуют на рецепторы нейронов, модулируя нейрональную возбудимость, синаптическую передачу и пластичность. Астроциты в ответ на стимул отвечают внутриклеточными волнами кальция [Ca²⁺]. При распространении этой волны происходит выброс серина, цитокинов и лактата, которые модулируют активность нейронов [1]. Способность астроцитов высвобождать глутамат позволяет регулировать функцию NMDA-рецепторов, тем самым контролируя возбуждение в сети нейронов [2]. Астроциты тесно связаны с патогенезом и патологическими процессами нейродегенеративных заболеваний (НДЗ)[3], поэтому возможность управлять их активностью становится актуальной и необходимой задачей при лечении НДЗ. В качестве основного метода для активации астроцитов в данной работе используется метод оптогенетики. Проведенные исследования показали рост активности пирамидальных нейронов гиппокампа в ответ на оптическую стимуляцию астроглиальных клеток, трансдуцированных вирусом AAV5_pZac2.1_GfaABC1D_ChR2(H134R) и AAV5_GfaABC1D_opto-a1AR-EYFP. Для обоих вирусов были определены световые режимы, при которых наблюдалось достоверное изменение частоты спонтанных токов. В докладе, также, приведены предварительные результаты оптогенетической стимуляции астроцитов и регистрации ответных полевых возбуждающих постсинаптических потенциалов (пВПСП) у нейронов. В работе продемонстрирована реакция нейронов гиппокампа на световую активацию астроглиальных клеток. В дальнейшем планируется проведение исследований по оптической индукции долговременной потенциации и соответствующих поведенческих тестов. Работа поддержана грантом Российского научного фонда 20-65-46004 (ОЛВ).

1. Salmina A B, Gorina Y V, Erofeev A I, Balaban P M, Bezprozvanny I B eta Vlasova O L 2021 Rev. Neurosci.
2. Halassa M M eta Haydon P G 2009 Annu. Rev. Physiol. 72 335–55
3. Toniolo S, Sen A eta Husain M 2020 Int. J. Mol. Sci. 21 1–37

РОЛЬ АСТРОЦИТОВ ПРИ НАРУШЕНИЯХ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

А.В. Зайцев, Т.Ю. Постникова

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

Долговременная синаптической пластичность является важнейшим нейронным механизмом памяти, и любые нарушения синаптической пластичности часто сопровождаются ослаблением когнитивных функций. Молекулярные механизмы долговременной синаптической потенциации чрезвычайно разнообразны, зависят от типа синапсов, особенностей стимуляции, вызывающей пластичность, а также начального состояния синапса. Согласно современным концепциям, химический синапс включает в себя не только нейрональные пресинаптическую и постсинаптическую части, но также глиальные компоненты – астроциты и микроглию. Глиальные клетки могут принимать активное участие во многих синаптических процессах, в том числе оказывать существенный вклад при индукции и поддержании потенциации синапсов. При многих патологических состояниях, например, судорожных состояниях, происходит нарушение механизмов пластичности. Молекулярные и синаптические механизмы этих нарушений пока мало изучены. В данном докладе мы сделаем акцент на роли астроцитов в этих процессах. Показано, что в эпилептической ткани мозга крысы меняются число и морфологические и функциональные характеристики астроцитов. В частности, происходят морфологические изменения отростков астроцитов и изменения кальциевой динамики в астроцитах. NMDA-зависимый механизм синаптической пластичности может ослабляться и замещаться другими механизмами, в том числе зависимыми от активации mGluR-рецепторов и кальций-проницаемых AMPA-рецепторов. Эти изменения могут быть напрямую связаны с нарушениями нейрон-глиальных взаимодействий. *Исследование поддержано грантом РФФ 21-15-00430.*

ДИСФУНКЦИЯ ГЛИИ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КАК ВОЗМОЖНАЯ ПРЕДПОСЫЛКА РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Е.А. Рудницкая, Т.А. Козлова, А.О. Бурняшева, Н.А. Стефанова, Н.Г. Колосова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Болезнь Альцгеймера (БА) – неизлечимое нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной сенильной деменции. Показано, что бессимптомный период БА может протекать десятилетиями, но вопрос о том, когда начинается развиваться БА и что этому способствует, остается открытым. Появились указания на то, что траекторию развития мозга и вероятность развития БА в дальнейшем могут определять предпосылки, возникающие в период постнатального завершения развития мозга, в том числе – малый вес при рождении и образование aberrантных нейронных сетей, обусловленное генетическими и/или средовыми факторами. Природа этих длительных эффектов не ясна. Этот вопрос мы исследовали на преимущественно стареющих крысах ОХУС (ИЦиГ) – модели самой распространенной (>95%) спорадической формы БА. Нами выявлен феномен задержки созревания мозга крыс ОХУС по сравнению с крысами Вистар (контроль), о котором свидетельствуют отставание физического развития, формирования рефлексов и двигательных стереотипов, сдвиг пиков постнатального нейрогенеза и образования мшистых волокон в зубчатой извилине гиппокампа, а также сдвиг перинатальных пиков апоптоза в гиппокампе и префронтальной коре в критический период постнатального развития мозга (0-20 дни жизни). Анализ плотности и соотношения клеток нейронального ряда (нейробластов, незрелых и зрелых нейронов) выявил у крыс ОХУС задержку миграции нейронов в кору мозга, меньший размер ядер нейронов гиппокампа и коры. Наиболее существенными были изменения плотности и соотношения клеток глиального ряда (незрелых и зрелых астроцитов, микроглии) в гиппокампе и префронтальной коре, которые свидетельствуют о недостаточности астроцитарной поддержки и снижении плотности микроглии у крыс ОХУС, способных приводить к нарушению синаптогенеза в критический период постнатального развития мозга. Задержка в созревании мозга компенсируется у крыс ОХУС к окончанию ювенильного периода, но может вносить существенный вклад в развитие ранних нейродегенеративных изменений и других признаков БА в дальнейшем. Таким образом, получено экспериментальное доказательство того, что особенности созревания мозга в ранний постнатальный период могут способствовать ускоренному старению мозга – основному фактору риска болезни Альцгеймера. *Работа поддержана грантом РФФ № 19-15-00044.*

АСТРОГЛИАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ДИНАМИКИ В НЕЙРОНАХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

А.Б. Салмина^{1,2}, Е.В. Харитоновна², Я.В. Горина², Н.А. Малиновская², Е.Д. Хилажева², Е.А. Тепляшина², И.В. Потапенко², А.В. Моргун², Ю.К. Комлева², О.Л. Лопатина²

¹Научный центр неврологии, Москва; ²Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск

При нейродегенерации альцгеймеровского типа дисфункция митохондрий клеток нейроваскулярной единицы развивается по типу их повышенной фрагментации, появления aberrантных форм (например, т.н. удлинённые MOAS митохондрии, выступающие в качестве «защищенных» от митофагии органелл), гиперпродукции активных форм кислорода, нарушенной митофагии. Нарушения митохондриальной активности и динамики провоцируют aberrантные межклеточные взаимодействия и развитие апоптоза. Мы обнаружили, что астроциты при экспериментальной БА характеризуются способностью высвобождать митохондрии во внеклеточное пространство *in vitro*, этот процесс блокируется ингибиторами активности НАД⁺-гликогидролазы/CD38, гликолиза и ремоделирования F-актина. Митохондрии, присутствующие во внеклеточном пространстве, характеризуются гиперполяризованным состоянием, преобладанием процессов разделения митохондрий над их слиянием. Токсическое действие Аβ приводит к дисбалансу в экспрессии белков-регуляторов слияния и разделения (MFN1, MFN2, DRP1). Установлено, что развитие митохондриальной дисфункции сопровождается разнонаправленными изменениями уровня лактата в ткани и в ликворе, изменениями уровня НАД⁺, в этих условиях астроциты демонстрируют максимальную по сравнению с другими клетками сохранность своего энергетического метаболизма. Повышение уровня экспрессии CD38, Сх43 в

клетках нейрональной, астроглиальной и эндотелиальной природы в гиппокампе животных при экспериментальной болезни Альцгеймера, а также в модельных условиях *in vitro*, свидетельствует о развитии в них митохондриальной дисфункции и продукции активных форм кислорода поврежденными митохондриями. Изучение механизмов повреждения митохондрий в клетках головного мозга при хронической нейродегенерации актуально для разработки новых методов коррекции неврологического дефицита, обусловленного нарушениями энергетического метаболизма и изменениями процессов нейропластичности. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-2547.2020.7).

АКТИВАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ АСТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ Prx-6 ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ МОЗГА ПРИ ИШЕМИИ/РЕОКСИГЕНАЦИИ

Е.А. Туровский, Е.Г. Варламова

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пушкино

Ишемия-подобные условия (OGD) отражают практически весь спектр событий, происходящих во время церебральной ишемии, включая индукцию окислительного стресса, Ca^{2+} -перегрузку, глутаматную эксайтотоксичность, активацию процессов некроза и апоптоза в клетках мозга. В работе исследованы механизмы защитного действия антиоксидантного фермента пероксиредоксина-6 (Prx-6) на клетки гиппокампа в условиях OGD/реоксигенации. Установлено, что 24-часовая инкубация смешанных клеточных культур гиппокампа с Prx-6 не влияет на генерацию обратимой фазы OGD-индуцированного увеличения ионов Ca^{2+} в цитозоле ($[Ca^{2+}]_i$), но ингибирует глобальное повышение $[Ca^{2+}]_i$ в астроцитах полностью и в нейронах на 70%. При этом после 40 минут OGD происходит подавление некроза клеток и особенно в популяции астроцитов. Данный эффект связан с комплексным действием Prx-6 на нейроглиальные сети. В качестве антиоксиданта, Prx-6 оказывает более выраженный и направленный на астроциты эффект, по сравнению с экзогенным антиоксидантом – витамином E (Vit E). Prx-6 подавляет продукцию АФК в митохондриях за счет повышения антиоксидантной емкости клеток и изменения экспрессии генов, кодирующих белки-регуляторы редокс-статуса. В виду тесной связи $[Ca^{2+}]_i$ и внутриклеточных АФК, такой эффект Prx-6 является одним из его защитных механизмов. Помимо этого, Prx-6 подавляет эффективно не только некроз, но и апоптоз во время OGD и реоксигенации. Инкубация с Prx-6 приводит к активации базовой экспрессии генов, кодирующих нейропротекторные киназы – PI3K, СаMKII, PKC, противоапоптотические белки – Stat3 и Bcl-2, одновременно с ингибированием экспрессии сигнальных киназ и факторов, вовлеченных в активацию апоптоза – Ikk, Src, Та-кВ, Caspase-3, p53, fas и др. Такой эффект на базовую экспрессию генома прекодиционирует клетки, что выражается в ингибировании каспазы-3 во время OGD/реоксигенации. Существенный эффект Prx-6 показан на подавление уровня экспрессии провоспалительного цитокина IL-1 β и фактора TNF α , а также гены, кодирующие субъединицы NMDA- и каинатных рецепторов, что установлено впервые для данного антиоксидантного фермента. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ No 20-04-00053.

РАЗВИТИЕ ДИСФУНКЦИИ ГИППОКАМПА, НАРУШЕНИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА И ТРЕВОЖНОСТИ У МЫШЕЙ, НЕ ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ NLRP3 ИНФЛАММАСОМЫ

Ю.К. Комлева^{1,2}, О.Л. Лопатина^{1,2}, Я.В. Горина^{1,3}, А.Н. Шуваев³, Н.А. Малиновская^{1,3}, А.И. Черных³, И.В. Потапенко³, Е.А. Пожиленкова^{1,2}, А. Б. Салмина^{2,4}

¹Кафедра биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск; ²Центр коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии», Красноярск; ³НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, Красноярск; ⁴Отдел исследований мозга, Научный центр неврологии, Москва

Нейровоспаление классифицируется как триггер поведенческих изменений и когнитивных нарушений при многих неврологических состояниях. Независимо от причины нейровоспаления, ключевыми молекулами, которые определяют нейрпатологические состояния, являются внутриклеточные мультибелковые сигнальные инфламмосомы. Все больше данных показывают, что воспалительный ответ, опосредованный NLRP3 инфламмосомами, связан с началом и прогрессированием широкого спектра заболеваний ЦНС. Однако остается неясным, играет роль ли инфламмосома NLRP3 в ЦНС в обучении, развитии тревоги и нейрогенезе у взрослых. Цель исследования: оценить вклад NLRP3 инфламмосом в развитие тревожности у мышей и выявить ее потенциальное участие в формировании эмоциональной памяти и нейрогенеза гиппокампа. Материалы и методы исследования: мыши-самцы C57BL/6 (WT), NLRP3-нокаутные мыши в возрасте 3-4 месяца. Поведенческие, иммуногистохимические и электрофизиологические подходы были применены для оценки роли нейровоспаления в лимбической системе мышей. Результаты: В этом исследовании мы описываем взаимосвязанные нейрофизиологические механизмы при отсутствии инфламмосомы экспрессии NLRP3 у мышей. К ним относятся следующие: развитие тревожности, снижение запоминания и обучения; нарушение нейрогенеза взрослых; уменьшение и изменение морфологии астроцитов в головном мозге; повышенная возбудимость в базолатеральной миндалине; нарушение активации в аксонах пирамидных клеток зоны гиппокампа CA1 у мышей NLRP3KO, в частности, через коллатеральный путь Шаффера; и нарушение синаптической трансдукции в пирамидных клетках, опосредованное затруднением высвобождения нейромедиатора из пресинаптического сайта в CA3 зоне гиппокампа. Заключение: Настоящее исследование продемонстрировало новые данные о том, что базальный уровень инфламмосомы NLRP3 в мозге мышей необходим для обусловленной кондиционированием пластичности вентрального гиппокампа и базолатеральной миндалины. Блокирование NLRP3 нарушает синаптическую трансдукцию и вызывает тревожное поведение, а также затрудняет обучение, предполагая, что стерильное воспаление низкой степени, опосредованное экспрессией NLRP3, играет ключевую роль в консолидации памяти. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-2547.2020.7 и гранта РФФИ 20-015-00472.

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ. МОЛЕКУЛЯРНАЯ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ

УЧЕНИЕ И.П. ПАВЛОВА О ЗАМКАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МОЗГА В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОЙ НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ

В.Г. Скребицкий

Научный центр неврологии, Отдел исследования мозга, Москва

В основу изучения нейрофизиологических механизмов замыкания временной связи легла гипотеза Дональда Хебба (1949) о существовании синапсов, эффективность которых возрастает при совпадении во времени разрядов пре- и постсинаптических нейронов. Экспериментальная проверка этой гипотезы была осуществлена в работе Яна Буреша и др. (1968), показавшей возможность пластической перестройки синапсов, на модели выработки условного рефлекса на отдельной клетке. В дальнейшем, было показано, что важным условием работы «синапсов Хебба» является подавление тормозных входов к регистрируемому нейрону (Skrebitsky, Cherkova, 1998). В естественных условиях, подавление тормозных входов к таламическим и корковым нейронам является следствием активации ретикулярной формации среднего мозга во время ориентировочного рефлекса (Skrebitsky, Sharonova, 1976). В дальнейшем, было показано на корковых нейронах, что критическим условием работы синапса Хебба является возрастание концентрации Ca^{++} в постсинаптической мембране нейрона. Это приводит к активации биохимического каскада, который может транспонироваться в клеточное ядро, запускать CREBS и синтез новых белков. Однако, до последнего времени открытым оставался вопрос о том, почему белковый синтез локализован только в тех синапсах, которые были предварительно активированы выделением медиатора. Исследования последних десятилетий, выявившие возможность локального синтеза белка в шипиках дендритов, приблизили к пониманию этого вопроса. Было показано, что в шипиках дендритов содержатся мРНК, рибосомы и факторы трансляции, что делает возможным прямую модификацию синапсов, посредством регуляции локального синтеза белка. Ранее нами (Wenzel et al, 1985) и другими исследователями было показано, что LTP- одна из форм Хеббовской пластичности сопровождается увеличением площади постсинаптического уплотнения шипика дендрита, что увеличивает эффективность активированного синапса. Все эти данные, полученные в последние десятилетия, позволяют раскрыть Павловское понятие «замыкание временной связи» в терминах современной нейрофизиологии. *Поддержано Грантом РФФИ 20-015-00215.*

РОЛЬ ЦИТОКИНЗАВИСИМЫХ ПУТЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Е.Д. Бажанова^{1,2,3}, А.В. Литовченко^{1,2}, Ю.М. Забродская^{2,4}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; ²Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова ФМБА, Санкт-Петербург; ³Астраханский государственный университет, Астрахань; ⁴Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. А.Л. Поленова – филиал НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Исследование механизмов лекарственной устойчивости, связанных с нейровоспалением, может лечь в основу новой стратегии терапевтического лечения фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ). Цель работы – изучить участие механизмов нейровоспаления в развитии фармакорезистентности при эпилепсии у человека. Исследовали экспрессию белков, участвующих в регуляции воспаления и апоптоза, в эпилептическом очаге и перифокальной зоне височной доли головного мозга на материале, полученном интраоперационно от пациентов с ФРЭ, оперированных в РНХИ им. Поленова (Western blotting, иммуногистохимия), проводили мультиплексный анализ уровней цитокинов в плазме крови, патоморфологическую оценку структурных изменений в эпиочаге (гистохимия, иммуногистохимия). Впервые проведен комплексный анализ цитокинового профиля и сигнальных путей нейровоспаления и апоптоза у пациентов с ФРЭ. В коре выявлена фокальная дисплазия, частичная атрофия, сателлитоз, нейронофагия, в белом веществе – эпилептическая лейкоэнцефалопатия. Уровни VEGF, GRO, TNF- α , IL-4 и т.д. в крови были повышены, EGF, IL-2, -8 – снижены. Проникновение цитокинов интерлейкинового ряда и семейства TNF- α в кровь указывает на нейровоспаление, а высокое содержание ростовых факторов – на повышенную проницаемость ГЭБ. Увеличение содержания TNF- α в эпиочаге (кора, белое вещество височной доли) и повышенная экспрессия FAS свидетельствует об активации иммунных клеток в мозге больных ФРЭ, и об индукции внешнего пути апоптоза. В перифокальной зоне эти процессы протекают менее интенсивно. В эпиочаге выявлено повышение содержания фосфорилированной формы транскрипционного фактора NF- κ B, что говорит об активации транскрипции провоспалительных и антиапоптотических генов. Динамика экспрессии p53, caspase-9 и -3 в височной доле характерна для реализации апоптоза при эпилепсии. Таким образом, в эпиочаге у пациентов с ФРЭ активируются митохондриальный и внешнерецепторный пути апоптоза. Можно заключить, что нейровоспаление в эпиочаге и перифокальной зоне височной доли и дисбаланс антиапоптотической системы в перифокальной зоне способствуют прогрессированию дегенерации в очаге гипервозбудимости, возникновению эпилептической энцефалопатии и могут быть причиной развития терапевтической резистентности. *Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 20-015-00127).*

ПАР-1 ЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ И ЕЕ ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Л.Р. Горбачева^{1,2}, М.Д. Галков^{1,2}, А.Е. Иванова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Рецепторы, активируемые протеазами (ПАР), относятся к классу семидоменных рецепторов, связанных с G-белком. Экспрессия их обнаружена во многих тканях, что позволяет предположить их участие в разных процессах, в том числе и в повреждении нервной ткани и ее последующей дегенерации. Тип и характеристики повреждающего стимула могут определять выраженность нейродегенеративных повреждений. В связи с этим особое значение имеет использование комплексных подходов при анализе протекторного действия исследуемых веществ и механизмов их влияния. Имеющиеся данные об участии ПАР в дегенерации и протекции нервной ткани недостаточны. Нами проведено исследование влияния активации ПАР-1 на развитие

нейродегенерации, вызванной эксайтотоксичностью, ишемией и воспалением. Установлено, что характер влияния ПАР-1 определяется типом агониста, активирующего рецептор. Так, тромбин, в отличие от активированного протеина С (АПС) и нового пептида-агониста ПАР-1, вызывает в высоких концентрациях индукцию апоптоза, гибель клеток и активацию провоспалительного транскрипционного фактора NFκB при эксайтотоксичности в первичной культуре нейронов крыс. Интересным является тот факт, что новый пептид-агонист ПАР-1 по своему действию подобен АПС. Анализ влияния пептида на процессы нейродегенерации как в моделях *in vitro*, так и *in vivo*, показал выраженное защитное действие. В модели фотоиндуцированной ишемии на мышцах внутривенное введение пептида способствовало стабилизации ГЭБ, уменьшению очага повреждения и сохранность неврологического статуса животных на фоне ишемии. При этом, использование в экспериментах мышей, нокаутных по β-аррестину2, выявило необходимость данного белка для протекторного действия пептида. Известно, что усугубление повреждения при ишемии связано с запуском процесса воспаления в нервной ткани. Нами продемонстрировано непосредственное противовоспалительное действие пептида на культивируемые аналоги тучных клеток. При этом как пептидом, так и АПС купировали тромбин- и липополисахарид-вызванную активацию клеток. Таким образом, ПАР-1 зависимая регуляция может выступать ключевой мишенью, способной изменять целый ряд факторов, потенцирующих повреждение мозга при ишемии. *Исследование выполнено в рамках научного проекта РФФИ № 19-015-00529 и государственного задания МГУ № 121032300071-8.*

СВОЙСТВА ГАМКЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫЕ КАИНАТНЫЕ И АМРА-РЕЦЕПТОРЫ

В.П. Зинченко¹, А.М. Косенков¹, С.Г. Гайдин¹, А.И. Сергеев¹, Л.П. Долгачева¹, С.Т. Тулеуханов²

¹Институт биофизики клетки ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино; ²Казахский национальный Университет, АлмаАты, Казахстан

Кальций-проницаемые каинатные и АМРА-рецепторы (CP-KARs и CP-AMPArs), наряду с NMDA рецепторами, играют важную роль в пластичности и регуляции высвобождения нейромедиаторов. Вход Ca²⁺ в клетку через эти рецепторы может индуцировать высвобождение нейромедиатора, которое не зависит от активности NMDARs и потенциал-зависимых кальциевых каналов. Однако нейроны, экспрессирующие эти рецепторы, не полностью охарактеризованы, и мишени этих нейронов не идентифицированы. В данной работе с помощью оригинального метода визуализации нейронов, содержащих CP-KARs и CP-AMPArs, в зрелой (14 DIV) нейроглиальной культуре гиппокампа обнаружены две субпопуляции нейронов, экспрессирующие эти рецепторы. Данные нейроны визуализировали по характерному раннему плато-подобному Ca²⁺-сигналу в ответ на агонист этих рецепторов – домоевую кислоту (DoA) и селективный агонист GluK1-содержащих КА рецепторов – АТРА. Нейроны обеих субпопуляций оказались ГАМКергическими. Агонисты CP-KARs и CP-AMPArs селективно индуцируют ранний плато-подобный Ca²⁺-сигнал в этих нейронах, но не вызывает деполяризацию, необходимую для возбуждения, что приводит к опережающей секреции ГАМК и подавлению возбуждения в иннервируемых нейронах. Кроме того, ГАМКергические нейроны, экспрессирующие CP-KARs и CP-AMPArs, также быстрее реагируют на деполяризацию, чем большинство глутаматергических нейронов. Подавление активности CP-AMPArs увеличивало активность ГАМКергических нейронов, экспрессирующих CP-KARs, предполагая, что нейроны, экспрессирующие CP-AMPArs, иннервируют ГАМКергические нейроны, экспрессирующие CP-KARs. По-видимому, в процессе развития нейронов в культуре в течение 14 дней нейронная сеть самоорганизуется, в результате чего устанавливаются функциональные связи между нейронами, экспрессирующими CP-AMPArs и CP-KARs. Нейроны, экспрессирующие CP-AMPArs, включают больший процент кальбиндин-позитивных нейронов (40%). Эти нейроны реагируют на возбуждение DoA медленнее, чем нейроны, экспрессирующие CP-KARs. Предполагается, что наличие быстро-связывающих кальциевых белков способствует реализации тормозного потенциала этих нейронов при гипервозбуждении. Полученные результаты предполагают, что CP-KARs и CP-AMPArs тормозных нейронов участвуют в механизме опережающего высвобождения ГАМК при гипервозбуждении.

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИЗИРУЕМЫХ ПРОЛИФЕРАТОРОМ ПЕРОКСИСОМ, В МОЗГЕ КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

А.А. Коваленко¹, М.В. Захарова¹, А.П. Шварц¹, А.В. Демина¹, А.И. Рогинская¹, М.О. Грязнова¹, Т.Б. Мелик-Касумов², О.Е. Зубарева¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; ²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Около 30% больных эпилепсией не поддаются лечению традиционными препаратами, что делает актуальным поиск новых методов терапии. В настоящее время активно обсуждается роль кишечно-мозговых взаимодействий в патогенезе эпилепсии. Ключевым элементом этих взаимодействий являются рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом (PPARs), их агонисты за счет нейропротекторных и противовоспалительных эффектов рассматриваются как перспективные средства для терапии эпилепсии, при этом изменения экспрессии генов PPARs в мозге в процессе эпилептогенеза остаются малоизученными. В данной работе методами ОТ-ПЦР и Вестерн-блоттинга исследована динамика экспрессии генов различных типов PPARs в мозге при развитии эпилептических процессов в литий-пилокарпиновой (ПК) модели височной эпилепсии. Наиболее выраженные нарушения обнаружены для гена PPAR альфа: снижение его экспрессии наблюдалось как в латентную (3 и 7 дней после введений ПК), так и хроническую (60 дней после введений ПК) фазы модели в различных областях мозга: вентральном и дорзальном гиппокампе (VH, DH), медиальной префронтальной и височной коре (mPFC, TC). Уменьшение экспрессии гена PPAR гамма выявлено в mPFC в хроническую фазу и в DH на разных сроках тестирования. Изменения экспрессии гена PPAR бета/дельта носили волновой характер: увеличение продукции его мРНК в VH в латентную фазу сменялось снижением в mPFC в хроническую фазу модели. С учетом нейропротекторных свойств агонистов PPARs, уменьшение экспрессии генов этих рецепторов может свидетельствовать о подавлении естественных защитных механизмов в процессе эпилептогенеза. Усиление

экспрессии гена PPAR бета/дельта в латентную фазу модели может отражать кратковременную активацию нейропротекторных механизмов, которая, однако, не сохраняется по мере развития эпилептических процессов. Показано также, что экспрессия гена PPAR гамма (но не других PPARs) усиливается в ВН после 30-ти дневного введения пробиотика *Bifidobacterium longum* (BL). BL частично корректировал изменения уровня тревожности, но не отменял ПК-индуцированные нарушения социального поведения и когнитивных функций. Полученные данные могут быть использованы при разработке новых методов лечения эпилепсии. *Поддержано РФФИ, грант №20-515-00020 и БРФФИ, грант №М20Р-328.*

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОДЕМЕНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛИБЕНКЛАМИДА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

М.Н. Карпенко, А.С. Зубов, Н.С. Пестерева, Т.В. Тютюнник

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

На сегодняшний день молекулярные механизмы развития когнитивных нарушений при нейродегенеративных и метаболических заболеваниях частично раскрыты. Однако появление данных о плейотропных эффектах гипогликемических препаратов в отношении когнитивных нарушений, свидетельствует о включении мишеней препаратов данного класса в патогенез нарушения когнитивной функции. Целью данной работы было выявление новых звеньев патогенеза когнитивных нарушений, купируемых глибенкламидом (ГД). Эксперимент проведен на 20 самцах крыс Вистар. В возрасте 4 месяцев у животных тестировали когнитивные функции в тесте «Водный лабиринт Морриса (ВЛМ)» и в тесте «У-лабиринт». В возрасте 7 месяцев крыс разделили на две группы – группа 1 (ежедневное интраперитонеальное (i.p.) получала ГД в дозе 50 мкг/кг на протяжении 30 дней, n=10; группа 2 получала ежедневное i.p. введение хлорида натрия в дозе 1 мл/крысу на протяжении 30 дней. На 8-ой месяц жизни сохранность когнитивных функций проверяли в тесте ВЛМ и У-лабиринта. В гиппокампе и стриатуме крыс определяли содержание моноаминов методом ВЭЖХ-ЕД. Активность кальпаинов в нервных окончаниях анализировали методом зимографии. Как и следовало ожидать, при старении у животных развивался когнитивный дефицит. Введение ГД по выбранной схеме приводило к увеличению времени пребывания в зоне, где находилась платформа в тесте ВЛМ (45,1 (38,9; 53,3) сек) по сравнению с контролем (37,85 (26,72; 41,29) сек), $p = 0,014$. ГД также увеличивал % чередования норок (74,8 (58,5; 86,1)) по сравнению с контрольными животными в молодом и более старшем возрасте, $p = 0,0001$, $p = 0,004$ соответственно. Таким образом, введение ГД, действительно, приводит к улучшению пространственного обучения и памяти. Механизмы противодементного действия ГД могут быть связаны с выявленным нами увеличением содержания дофамина (нг/мг белка в пробе) от 65.4 ± 7.8 в контрольной группе до 121.5 ± 9.0 в группе с введением ГД ($p=0,007$) в клетках стриатума и увеличением содержания норадреналина от 10.9 ± 0.5 в контрольной группе до 15.4 ± 0.4 в группе с введением ГД ($p=0,021$) в клетках гиппокампа, а также с обнаруженной нами способностью ГД предотвращать высвобождение из синаптических окончаний во внеклеточную среду протеаз семейства кальпаинов.

СУПРАСПИНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ БОЛЕВЫХ СИГНАЛОВ И ОСОБЕННОСТИ ИХ РЕАЛИЗАЦИИ ПРИ КИШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

О.А. Любашина^{1,2}, А.С. Волкова², А.А. Михалкин¹, И.Б. Сиваченко¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; ²Институт фармакологии им. А.В. Валдьмана,

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Нарушениям в супраспинальных механизмах контроля болевой чувствительности отводят ведущую роль в патогенезе хронических болевых синдромов. Однако нейрофизиологические процессы, обеспечивающие супраспинальную обработку и дифференцировку разных типов болевых сигналов, а также перестройки в них при определенных видах патологии, остаются малоизученными. Это существенно сдерживает разработку эффективных методов лечения хронических болей разного генеза. Поэтому целью нашего исследования являлось определение нейрональных механизмов, обеспечивающих селекцию висцеральных и соматических болевых стимулов супраспинальными структурами, и изучение особенностей реализации этих механизмов при кишечном воспалении. Работа выполнена на анестезированных уретаном самцах крыс линии Вистар (здоровых и с колитом) с применением микроэлектродной регистрации активности нейронов и иммуногистохимического определения экспрессии в них c-fos белков. В норме при регистрации импульсной активности впервые обнаружены группы нейронов продолговатого мозга, селективным образом отвечающие на висцеральное (растяжение толстой кишки) и соматическое (сдавливание хвоста) болевые воздействия. При изучении экспрессии c-fos белков в бульбарных, вышележащих стволовых и субкортикальных структурах головного мозга выявлены отличающиеся по морфометрическим характеристикам популяции клеток, которые по-разному реагируют на висцеральную и соматическую боль. Впервые показано, что колит сопровождается усилением реакций нейронов продолговатого мозга на висцеральные и соматические болевые стимулы с параллельным ухудшением их дифференцировки в стволовых и переднемозговых структурах, различные клеточные популяции которых становятся одинаково реактивными к разным видам боли. При этом генерализованно снижается ноцицептивная активность ключевых образований мозга, запускающих эндогенные механизмы обезболивания. Данные свидетельствуют о существовании на разных уровнях головного мозга специализированных нейронных сетей, обеспечивающих селективный контроль разных видов болевой чувствительности. Выявленные при кишечном воспалении нарушения в функционировании этих сетей могут способствовать сочетанному патогенезу хронических абдоминальной и соматической болей. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №18-015-00055).*

СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗОВ МОЗГА В ИЗУЧЕНИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ВЕРХНЕГО ДВУХОЛМИЯ И ДОРСАЛЬНОГО ЯДРА ШВА У БЕЛОЙ МЫШИ

И.И. Али-Заде, Л.С. Али-Заде, Е.А. Мокрушина, И.В. Проничев

Удмуртский государственный университет, Ижевск

Дорсальное ядро шва (ДЯШ) – премоторное образование тектофациальной системы у белой мыши. Но о взаимодействиях верхнего двухолмия (ВД) и ДЯШ до сих пор много не известно. В связи с этим, цель работы – создание модели переживающих срезов мозга и изучение взаимодействий ВД и ДЯШ на ней. В исследовании использовали переживающие срезы мозга 26 половозрелых нелинейных белых мышей обоего пола массой 22–28 г. Изготовление и инкубацию переживающих срезов проводили по стандартным методикам. В первой серии на электронейромиографе «Нейро-МВП-w» регистрировали электрическую активность нейронов ДЯШ до и после отключения ВД; во второй – электрическую активность нейронов ВД до и после отключения ДЯШ. Отключение структур производили методом распространяющейся депрессии. Жизнеспособность модели переживающих срезов мозга была 30 минут, что оптимально для регистрации электрической активности нейронов в ДЯШ/ВД до и после отключения ВД/ДЯШ. При погружении электрода в ДЯШ регистрировали средние значения амплитуды 11,1 мкВ при средних значениях частоты 380 Гц. После отключения ВД снижалась электрическая активность нейронов в ДЯШ: на 1-ой минуте – снижение средней амплитуды до 10,3 мкВ и частоты до 346 Гц, на 3-ей – показатели амплитуды составили 10,5 мкВ, частота выросла до 481 Гц, на 5-ой – значения амплитуды и частоты не менялись. Изменения показателей амплитуды носили достоверный характер ($p < 0,05$). Выявить достоверность изменений показателей частоты не удалось. При погружении электрода в ВД регистрировали средние значения амплитуды 11,7 мкВ при средних значениях частоты 1174 Гц. Регистрация активности нейронов в ВД при отключении ДЯШ показала, что средняя амплитуда достоверно снижалась: на 1-ой минуте – до 11 мкВ, на 3-ей – до 10,4 мкВ, на 5-ой – до 10,6 мкВ. О взаимодействии ВД и ДЯШ можно судить по созданной модели переживающих срезов, поскольку отключение одной структуры вызывало изменение электрической активности в другой, при этом, характер взаимодействия, по-видимому, может быть обусловлен действием различных механизмов.

РЕЦЕПТОРЫ СЛЕДОВЫХ АМИНОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ КРОВИ: СВЯЗЬ С ФОРМОЙ И ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

З.М. Муружева^{1,2}, И.С. Ивлева¹, А.О. Анпилова¹, В.А. Майстренко¹, О.С. Тумашова¹, М.Н. Карпенко¹

¹Институт экспериментальной медицины; ²Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург

Патогенез болезни Паркинсона (БП) изучается на протяжении многих лет. За последние годы были собраны экспериментальные доказательства, указывающие на патофизиологическую значимость следовых моноаминов и их рецепторов при различных расстройствах ЦНС, в том числе и при БП. Помимо этого, остается открытым вопрос о степени вовлечения в патогенез заболевания нейровоспаления. Цель – определить уровень экспрессии мРНК TAAR1 и TAAR2 в лейкоцитах, а также содержание цитокинов в крови пациентов с болезнью Паркинсона в зависимости от формы и стадии заболевания. Пациенты и методы. В исследование вошло 80 пациентов с диагнозом «болезнь Паркинсона» в возрасте от 52 до 80 лет, 32 мужчины и 48 женщин. Стадия заболевания устанавливалась в соответствии с модифицированной шкалой Хен и Яра. Пациенты были разделены на 2 подгруппы: со стадией 1,0-2,0 (подгруппа БП1, n=34), со стадией 2,5-3,0 (подгруппа БП2, n=46). По форме заболевания пациенты разделились следующим образом – у 31 пациента дрожательная форма (ДФ), у 49 – акинетико-ригидная форма (АРФ). Контрольную группу составили 15 здоровых добровольцев. Уровень цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО) в плазме крови определяли методом ИФА. Методом обратной транскрипции с последующей полимеразно-цепной реакцией в реальном времени определяли уровни мРНК TAAR1/2. Результаты. Уровень мРНК TAAR1 в обеих подгруппах оказался значимо ниже, чем у контроля и составил в подгруппе БП1 – $(0,91 \pm 0,1$ у.е.), в подгруппе БП2 – $(0,6 \pm 0,1$ у.е.) против $(1,6 \pm 0,4$ у.е.) в контрольной группе ($p < 0,05$). Уровень мРНК TAAR2 в подгруппах не отличался от контрольной – БП1 $(1,3 \pm 0,2$ у.е.), БП2 $(1,1 \pm 0,2$ у.е.) против $(1,1 \pm 0,3$ у.е.). Уровень TAAR2 у пациентов с ДФ оказался значимо ниже, чем у пациентов с АРФ – $(0,8 \pm 0,2$ у.е.) против $(1,5 \pm 0,2$ у.е.), $p < 0,05$. Содержание ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО не зависело от формы БП. У подгруппы БП2 уровень ИЛ-8 составил $(5,1 \pm 1,1$ пг/мл) и оказался значимо ниже, чем у подгруппы БП1 $(23,3 \pm 9,2$ пг/мл), $p < 0,05$. Также была выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнем ИЛ-8 и стадией заболевания, $R = -0,3$. По остальным цитокинам отличий выявлено не было. Заключение. Следовые амины могут быть вовлечены в патогенез БП. ИЛ-8 может рассматриваться как прогностический маркер перехода от ранней к развернутой стадиям БП.

ФОТОКОНТРОЛЬ ГЛУТАМАТНЫХ ИОНОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ АМИНОСОДЕРЖАЩИМИ ПРОИЗВОДНЫМИ АЗОБЕНЗОЛА

М.В. Николаев

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

Фотопереклюватели ионных каналов являются перспективными инструментами для изучения биофизики синаптических процессов и функционирования нейронных сетей. Разработка таких соединений – интенсивно развивающееся направление современной нейрофармакологии, и к настоящему времени разработаны фотопереклюватели для некоторых ионных каналов. Это небольшие и довольно простые структуры, которые потенциально могут иметь несколько мишеней в условиях живого организма. Мы изучили возможность фотоконтроля глутаматных рецепторов с помощью аминокислотосодержащего производного азобензола DENAQ – эффективного фотопереклювателя калиевых ионных каналов. Эксперименты проведены на нативных глутаматных рецепторах нейронов гиппокампа крысы (пэтч-кламп регистрация агонист-вызванных токов). В присутствии DENAQ в условиях комнатного освещения наблюдалось глубокое угнетение NMDA рецепторов. При освещении клетки монохроматическим светом (420–460 нм) активность вещества резко снижалась. Процесс фотопереключения быстрый и полностью обратимый. В случае AMPA рецепторов, напротив, наблюдалось слабое потенцирование ответов, которое также было

светозависимым. Детальный анализ развития эффектов DENAQ на NMDA и AMPA рецепторы помог выявить сложный молекулярный механизм его действия. Суммарный равновесный эффект достигается комбинацией светонезависимого угнетения и светозависимого потенцирования. Угнетение является неконкурентным и не связано с блокадой ионного канала. Потенцирование, по всей вероятности, достигается дополнительной активацией каналов. В случае AMPA рецепторов превалирует потенцирующий эффект, а для NMDA рецепторов более выражено угнетение. Характеристики участков связывания и структурные детерминанты, определяющие угнетающее и потенцирующее действие требуют дальнейших исследований. Наша работа открывает новые возможности для создания эффективных фотопереклюателей глутаматных ионотропных рецепторов. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00218.*

МЕТОД ЭКСПАНСИОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ МОРФОЛОГИИ НЕЙРОНОВ И ОЦЕНКИ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКОВ

Е.И. Пчицкая¹, А.В. Раковская¹, К.З. Деревцова¹, И.Б. Безпрозванный^{1,2}

¹Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; ²Отделение физиологии Юго-Западного Медицинского центра Техасского университета, Даллас, США

Методы флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения позволяют преодолеть дифракционный предел конфокального микроскопа, тем не менее их реализация и применение в исследованиях остается технически сложной и дорогостоящей. Метод экспансионной микроскопии (ProExM) позволяет улучшить разрешение конфокального микроскопа за счет увеличения размеров исследуемого образца до 4х раз при использовании стандартного протокола и до 10 раз при использовании адаптированного [1, 2]. В ProExM флуоресцентно-меченые антитела или экспрессирующиеся в клетке белки сшиваются с гелевой матрицей, в которую заключаются образец, после чего производится его физическое анизотропное расширение. Это позволяет получать изображения с разрешением до 25 нм глубоко в тканях на обычных флуоресцентных микроскопах, на расстояниях, ограниченных только рабочим расстоянием объектива. В данном исследовании методика ProExM адаптирована для визуализации морфологии нейронов в тканях мозга трансгенных мышей, экспрессирующих белок GFP в отдельных нейронах, и кластеризации локализуемого в эндоплазматическом ретикулуме белка STIM1/2 на поверхности клеточной мембраны. Для усиления сигнала фиксированные срезы мозга и клетки, экспрессирующие YFP-STIM1/2, окрашивались первичными антителами к белку GFP и Alexa Fluor 488 конъюгированными вторичными антителами. Для обеспечения сшивки белковых молекул образцы обрабатывались химическими агентами MA-NHS или Акрилоил-Х, и заключались в гель. После обработки протеиназной К гель последовательно расширился в воде 3 раза. С помощью ProExM удалось добиться увеличения размера нейронов в 3,5 раза, что позволило визуализировать мельчайшие детали их морфологии и кластеры белка STIM1/2. Экспансионная микроскопия является перспективным методом для исследования ультраструктуры нейронов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-45-01004 (Безпрозванный И.Б.)

1. Chozinski T.J., Halpern A.R., Okawa H., Kim H.J., Tremel G.J., Wong R.O.L., Vaughan J.C. (2016) Expansion microscopy with conventional antibodies and fluorescent proteins. *Nat. Methods*. 13: 485–488.
2. Деревцова К. З., Пчицкая Е. И., Раковская А. В., Безпрозванный И. Б. (2021) Применение метода экспансионной микроскопии в нейробиологии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 107, № 4–5: 568–583.

ОСОБЕННОСТИ ПОТЕНЦИАЦИИ ГАМК_A И ГЛИЦИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ СВЯЗЫВАНИИ МОДУЛЯТОРОВ В ТРАНСМЕМБРАННЫХ МЕЖСУБЪЕДИНИЧНЫХ ИНТЕРФЕЙСАХ

А.В. Россохин

Научный центр неврологии, Москва

Торможение в ЦНС опосредуется активацией рецепторов γ -аминомасляной кислоты А типа (ГАМК_AР) и глициновых рецепторов (ГлиР), являющихся мишенями для многочисленных модуляторов, которые потенцируют или угнетают их функции. Мы показали, используя пэтч-кламп регистрацию в конфигурации “целая клетка”, что общие анестетики (этомидат, ЭТМ) и фенаматы (мефенамовая кислота, МФК) в низких концентрациях потенцируют токи, активируемые ГАМК, в изолированных клетках Пуркинье мозжечка, но подавляют токи, активируемые глицином в изолированных пирамидных нейронах гиппокампа крысы. Мы установили также, что потенцирующие эффекты ЭТМ и МФК не являются аддитивными, что указывает на общий сайт связывания этих веществ. Для определения структурных детерминант, ответственных за различие в действии этих веществ на ГАМК_AР и ГлиР, мы использовали крио-ЭМ структуры $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ ГАМК_AР (6X3Z, 6X3V) и построили модель $\alpha 1\beta$ ГлиР по гомологии с $\alpha 1$ ГлиР (3JAE). При помощи метода Монте-Карло минимизации энергии мы определили основные структурные детерминанты связывания ЭТМ и МФК в $\beta(+)/\alpha(-)$ межсубъединичном интерфейсе ГАМК_AР. Наши модели предсказывают, что остатки M2 сегмента Arg19' и Asn15' $\beta 2$ субъединицы и остаток M1 сегмента Gln-26' $\alpha 1$ субъединицы необходимы для потенциации рецептора и способствуют увеличению времени жизни рецептора в открытом состоянии. ЭТМ и МФК, взаимодействуя с боковой цепью остатка Arg19', продлевают время жизни рецептора в открытом состоянии. Перечисленные выше остатки отсутствуют в межсубъединичных интерфейсах $\alpha 1\beta$ ГлиР, что объясняет отсутствие потенциации в наших экспериментах. Наши модели также позволили объяснить специфичность потенцирующих эффектов ЭТМ и МФК по отношению к ГАМК_AР, содержащим $\beta 2/3$, но не $\beta 1$ субъединицу.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-015-00215.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИКТАЛЬНЫХ РАЗРЯДОВ

А.В. Чижов^{1,2}, Д.В. Амахин², Е.Ю. Смирнова^{1,2}, А.В. Зайцев²

¹Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Процесс, определяющий распространение иктального разряда (ИР), до сих пор не ясен. В корково-гиппокампальных срезах мы наблюдали ИР, которые распространяются со скоростями от 1 мм/с и выше. Механизмы такого медленного распространения были изучены в математической модели. Модель использует в качестве базового элемента ранее разработанную модель одной нейронной популяции в виде модели неравновесной динамики статистического ансамбля нейронов, а также включает в рассмотрение взаимодействие популяций ГАМК- и глутаматергических нейронов и динамику ионов. Было обнаружено, что модель согласуется с экспериментальными регистрациями методом двухэлектродного патч-клампа и регистрациями внеклеточной концентрации калия. Моделирование показывает, что два основных фактора вызывают ИР: (i) повышенная нейрональная активность, приводящая к накоплению хлоридов и последующему деполяризующему эффекту ГАМК, и (ii) повышение внеклеточного калия. Локальная синаптическая передача, сопровождаемая локальной экстразией калия и ГАМК-опосредованным накоплением хлоридов, лежит в основе распространения волнового фронта ИР. Напротив, диффузия калия во внеклеточное пространство – это более медленный процесс, который не влияет на скорость ИР. Короткие интериктально-подобные разряды, составляющие ИР, распространяются намного быстрее, чем фронт ИД. По мере развития ИР, накопление ионов натрия внутри нейронов, входящих через потенциал-зависимые и глутаматергические каналы, активирует натрий-калиевый насос, который прекращает разряд. Знание механизма генерации и распространения ИР способствует разработке новых методов лечения эпилепсии. Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект 21-15-00416).

ВОЗРАСТ ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij ПОСЛЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО КИНДЛИНГА

К.Р. Аббасова, Д.А. Сидоренко, Е.Т. Цыба

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Нейроанатомические субстраты ответственные за две формы эпилепсии – конвульсивную и неконвульсивную отличаются. Генерализованная абсансная эпилепсия относится к неконвульсивной форме эпилепсии для инициации, которой показана исключительная роль кортико-таламо-кортикальной сети. Лимбическая система не участвует в патогенезе генерализованной абсансной эпилепсии. Особый интерес представляет взаимодействие абсанс эпилепсии с различными формами эпилепсии, что не редко встречается в клинических случаях. Молекулярные и сетевые особенности двух форм эпилепсии исследуются на разных моделях. Пентилентетразоловая модель генерализованной эпилепсии широко используется для изучения механизмов генеза припадков и их нейрофизиологических последствий. При этом исследований о взаимодействиях двух форм эпилепсии ограничено. Целью исследования было изучить влияние пентилентетразолового киндлинга на динамику развития абсансной эпилепсии. Работа была проведена на крысах линии WAG/Rij (n=18) и Wistar (n=18). ПТЗ – киндлинг проводили с 14 постнатального дня. Киндлинг проводился через день. Животные считались киндлинрованными (раскаченными) если в течение 3 последующих дней введения ПТЗ фиксировались 4–5 стадии тяжести судорог. Максимальное введение ПТЗ не превышало 30-ти инъекций вещества. Было показано, что крысы линии WAG/Rij устойчивы к ПТЗ-киндингу, по сравнению с крысами Wistar, которые были раскачены на 12–14 введения ПТЗ. Анализ пик-волновых разрядов показал, что у крыс линии WAG/Rij экспериментальной группы в возрасте 73 дня индекс асимметрии был выше по сравнению с крысами контрольной группы. Средняя продолжительность пик-волновых разрядов достоверно значимо отличалось в возрасте ПД73; ПД90 и ПД120. У крыс в возрасте ПД150 и ПД180 достоверно значимых различий зарегистрировано не было. Мы предполагаем, что устойчивость к фармакологическому киндингу с возрастом у крыс линии WAG/Rij обеспечиваются механизмами, лежащие в основе абсансов и связанных с ними созревание пик-волновых разрядов, возможно, имеет антагонистическое действие против вторичной генерализации лимбических судорог в процессе киндлинга.

ПРОВОДИМОСТЬ МЕМБРАНЫ НЕЙРОНА КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ В МОДЕЛИ ОСТРОГО СУДОРОЖНОГО СОСТОЯНИЯ *IN VITRO*

Д.В. Амахин, Е.Б. Соболева, А.В. Чижов, А.В. Зайцев

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

Эпилепсия – распространенное неврологическое нарушение, характеризующееся возникновением спонтанных припадков. С помощью хемоконвульсантов или изменения ионного состава экстраклеточной среды активность нейронов энторинальной коры и гиппокампа во время эпилептического приступа может быть воспроизведена в условиях *in vitro* – переживающем срезе головного мозга крысы. Большинство исследований механизмов эпилептиформной активности сосредоточено на изменениях свойств синаптической передачи и характера ионной динамики во время эпилептоподобного состояния, но не способности нейронов интегрировать входящий синаптический сигнал. В рамках данной работы, методом патч-кламп в конфигурации «целая клетка» исследовались изменения входной проводимости мембраны нейронов глубоких слоев энторинальной коры, происходящие в *in vitro* модели эпилептического статуса. Было продемонстрировано, что регулярная генерация синхронизованных залпов эпилептиформной активности приводит к увеличению входной проводимости мембраны этих нейронов. Добавочная проводимость активируется и поддерживается на высоком уровне в результате входа ионов кальция внутрь клетки, происходящего во время разряда. Ранее нами было продемонстрировано, что эпилептоподобная активность приводит к экспрессии кальций-проницаемых АМРА-рецепторов (КП-АМРА-Р) на постсинаптической мембране нейронов, у которых в норме рецепторы этого типа отсутствуют. В ходе выполнения данной работы было показано, что блокада КП-АМРА-Р посредством

их селективного антагониста ИЭМ-1460 приводит к устранению добавочной кальций-зависимой проводимости, в результате чего частота разрядов в срезе энторинальной коры увеличивается примерно на 70%. Схожий, но менее выраженный эффект оказывала фармакологическая блокада NMDA-рецепторов. Эксперименты с применением экстраклеточной стимуляции показали, что добавочная кальций-зависимая проводимость снижает вероятность инициации эпилептиформного разряда за счет шунтирующего эффекта. Таким образом, кальций-зависимые изменения проводимости мембраны динамически регулируют возбудимость нейронов во время генерации синхронизованных разрядов и могут влиять на течение эпилептического приступа. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ, проект 21-15-00416.*

ЭКЗО-ЭНДОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ У ТРАНСГЕННЫХ FUS-МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

П.Н. Григорьев¹, Г.А. Хисамиева², А.Л. Зефирова¹, М.А. Мухамедьяров¹

¹Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ; ²Казанская государственная медицинская академия – филиал РМАНПО МЗ РФ, Казань

В экспериментах на двигательных нервных окончаниях диафрагмы мышей с моделью бокового амиотрофического склероза на ранней досимптомной стадии заболевания с использованием флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы экзоцитоза и эндоцитоза синаптических везикул. В качестве модели бокового амиотрофического склероза были использованы трансгенные FUS-мышцы возрастом 40–60 дней, в качестве контроля были использованы мыши дикого типа аналогичного возраста. Обнаружено, что при раздражении двигательного нерва с частотой 50 имп/с продолжительностью 1 мин в присутствии флуоресцентного красителя FM 1-43 (6 мкМ) в нервных окончаниях отмечалось яркое свечение красителя вследствие его захвата синаптическими везикулами, прошедшими экзо-эндоцитоз. Однако, средняя интенсивность свечения нервных окончаний у препаратов трансгенных FUS-мышей оказалась достоверно более низкой, чем в контроле. На следующем этапе окрашенные препараты подвергались высокочастотному раздражению (50 имп/с) двигательного нерва в стандартном растворе. В этом случае раздражение вызывало выброс FM 1-43 из нервных окончаний, а скорость снижения интенсивности свечения отражала динамику процессов экзоцитоза синаптических везикул. Однако достоверные отличия между кривыми выгрузки FM 1-43 из нервных окончаний трансгенных и контрольных мышей обнаружены не были. Таким образом, у трансгенных FUS-мышей с моделью бокового амиотрофического склероза уже на ранней досимптомной стадии заболевания обнаруживается нарушение механизмов пресинаптического везикулярного цикла. *Исследование поддержано грантом РФФ №19-15-00329.*

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

А.В. Дёмина¹, А.П. Шварц¹, М.О. Грязнова¹, А.М. Ищенко², А.В. Зайцев¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; ²ГНИИ особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург

Височная эпилепсия – хроническое неврологическое заболевание, выражающееся спонтанными судорогами и сопровождающееся психоэмоциональными нарушениями, осложняющими подбор терапии. Около трети случаев не поддаются лечению, поэтому актуально изучение механизмов эпилептогенеза и применение превентивной терапии в группах риска развития эпилепсии. Подавление процессов нейровоспаления и окислительного стресса в период эпилептогенеза могут снизить риск возникновения заболевания. Целью работы была оценка противозипилептогенного действия экспериментального подавления процессов нейровоспаления и окислительного стресса в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии. После индукции судорог у 7-недельных самцов крыс Вистар животных делили на 4 группы и в течение первых 10 дней вводили в/б: 1) анакинру (100 мг/кг, антагонист рецептора интерлейкина-1. Гос. НИИ ОЧБ), 2) коктейль антиоксидантов (альфа-токоферол 250 мг/кг, аскорбат 100 мг/кг, S-аденозилметионин 25 мг/кг), 3) анакинру + коктейль антиоксидантов, 4) растворители (физ. р-р и масло). Контрольные крысы получали раствор LiCl и растворители. В период введения препаратов оценивали массу крыс и выживаемость. Через 7 дней после судорог (латентная фаза) оценивали поведение в открытом поле, через 2 месяца в хроническую фазу модели оценивали формирование спонтанных судорог и поведенческих нарушений в тестах открытое поле и темно-светлая камера. Было выявлено, что ни один из вариантов терапии не повлиял на динамику массы тела животных и их выживаемость. Статистически значимого влияния на вероятность возникновения спонтанных судорог также не обнаружено. В поведенческих тестах у пост-судорожных крыс без лечения выявлено увеличение локомоторной активности в обе фазы модели. Введение только анакинры снизило тревожность крыс в латентную фазу. Введение только антиоксидантов снижало двигательную гиперактивность в латентную фазу, однако в хроническую фазу крысы этой группы проявляли повышенную тревожность в темно-светлой камере. Особых эффектов комбинированной терапии выявлено не было. Таким образом, применение антиоксидантной или противовоспалительной терапии снижало поведенческие нарушения в латентную фазу. Вопрос о перспективности комбинированной терапии остался открытым. *Работа поддержана грантом РФФ 20-75-00127.*

ПРИМЕНЕНИЕ АНАКИНРЫ И МЕМАНТИНА В ПЕРИОД ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗА РАЗДЕЛЬНО, НО НЕ В КОМБИНАЦИИ, СНИЗИЛО ВЫРАЖЕННОСТЬ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

А.В. Дёмина¹, О.Е. Зубарева¹, А.М. Ищенко², А.В. Зайцев¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; ²ГНИИ особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург

Височная эпилепсия – тяжелое неврологическое заболевание, проявляющееся спонтанными судорожными припадками и сопровождающееся психоэмоциональными и когнитивными нарушениями, осложняющими подбор терапии. Около трети случаев не поддаются лечению, поэтому перспективным подходом предполагается превентивная терапия эпилепсии у людей, предрасположенных к её развитию. Дисбалансу возбуждающих и тормозных процессов в мозге, лежащему в основе патологии, могут способствовать гиперактивация NMDA-рецепторов и гиперпродукция интерлейкина-1β, приводя к избыточной активности глутаматергических синапсов. Целью работы была оценка эффективности раздельного и комбинированного применения блокатора NMDA-рецепторов мемантина и антагониста рецептора интерлейкина-1 (анакинра, Гос. НИИ ОЧБ) при курсовом введении в период эпилептогенеза для предотвращения неврологических и поведенческих нарушений у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии. Судороги индуцировали у 7-недельных самцов крыс Вистар, после чего крыс делили на 4 группы и в течение первых 10 дней вводили в/б: 1) анакинру (100 мг/кг первые 5 дней, затем 50 мг/кг ещё 5 дней), 2) мемантин (5 мг/кг), 3) анакинру + мемантин, 4) физ. р-р. Контрольные крысы получали только раствор LiCl. Через 1,5 месяца в хроническую фазу модели оценивали формирование спонтанных судорог и поведенческих нарушений в тестах предпочтение раствора сахарозы, открытое поле, социальное взаимодействие, условно-рефлекторное замирание. Обнаружено, что применение только анакинры или только мемантина, но не их комбинации, способствовало снижению частоты и длительности спонтанных судорог. В поведенческих тестах у пост-судорожных крыс без лечения выявлено увеличение локомоторной активности, снижение времени социальных взаимодействий, нарушение памяти и обучаемости. Введение только анакинры повысило активность социальных взаимодействий. Введение только мемантина улучшило показатели памяти, но способствовало проявлению ангедонии. Комбинированная терапия привела к снижению времени локомоции, улучшило показатели памяти, однако способствовало ангедонии. Таким образом, применение мемантина или анакинры в период эпилептогенеза раздельно оказало более выраженный терапевтический эффект, чем их комбинация. *Работа поддержана грантом РФФ 21-15-00430.*

ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В СИНАПСАХ СА3-СА1 ГИППОКАМПА ПОСЛЕ КРАТКОГО ПЕРИОДА ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ *IN VITRO*

Ю.Л. Ергина, Д.В. Амахин, Е.Н. Вылекжанина, Е.Б. Соболева, А.В. Чижов

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

Использование кратковременного воздействия эпилептиформной активности (ЭА) позволяет выявить наиболее ранние изменения и получить данные о наиболее легко запускаемых процессах эпилептогенеза. Синапсы СА3-СА1 гиппокампа отличаются высокой пластичностью, а использование гиппокампальных переживающих срезов делает удобным моделирование эпилептиформной активности *in vitro*. Мы оценили воздействие короткого периода ЭА *in vitro* на свойства синаптической передачи в синапсах СА3-СА1 гиппокампа. Электрофизиологические эксперименты были выполнены на переживающих срезах мозга крыс Вистар (20–23 дней), содержащих энторинальную кору и гиппокамп. Для вызова ЭА, срезы помещались на 20 мин в проэпилептический раствор (в ммоль/л): 0,25 MgSO₄, 1,25 NaH₂PO₄, 2,0 CaCl₂, 8,5 KCl, 13,3 глюкозы, 24 NaHCO₃, 120 NaCl, 0,054-аминопиридина; pH 7,3–7,4. Изменения глутаматергической передачи оценивались спустя 1 час после ЭА. Полевые возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) отводили от радиального слоя поля СА1. Нами было получено, что краткосрочный период эпилептиформной активности приводит к увеличению амплитуды пВПСП, амплитуды пресинаптического популяционного спайка и увеличению уровня базовой нейротрансмиссии в области СА1. Чтобы объяснить наблюдаемые изменения, мы исследовали изменения глутаматергической и ГАМК-ергической передачи методом пэтч-кламп. Частота миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов (ВПСТ) не менялась после периода эпилептиформной активности, что указывает на то, что вероятность высвобождения медиатора осталась неизменной. Об этом же свидетельствует и отсутствие изменений парного отношения в экспериментах с регистрацией ответов пирамидных нейронов на парный стимул. Анализ биофизических свойств нейронов показал, что входное сопротивление также не меняется. В то же время, в экспериментах с интактным торможением было показано увеличение АМПА-рецептор-опосредованных токов после периода эпилептиформной активности. Таким образом, эпилептиформная активность *in vitro* приводит к усилению сетевой активности, но не влияет на пресинаптические свойства глутаматергической передачи, а также не сопровождается изменением биофизических свойств пирамидных нейронов. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФ: 21-15-00416.*

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОМА ОДИНОЧНОГО «ОБУЧЕННОГО» КОМАНДНОГО НЕЙРОНА УЛИТКИ *HELIX LUCORUM*

А.Н. Золотарь, А.П. Белецкий, А.Б. Зюзина, Н.В. Баль, А.Х. Винарская, Н.А. Асеев, П.М. Колосов, П.М. Балабан

Лаборатория клеточной нейробиологии обучения, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Беспозвоночные животные, в частности, моллюски, обладающие просто устроенной ЦНС, способностью к реализации сложных поведенческих программ, а также сходством молекулярных механизмов формирования памяти с участием нейронов мозга млекопитающих, являются удобными моделями для изучения процесса формирования памяти и обучения. Объектом нашего исследования стала наземная улитка *Helix lucorum*. В качестве модели ассоциативного обучения использовали формирование оборонительного условного рефлекса избегания раздражающего стимула, в исполнении которого командная роль отводится четырём нейронам Pa2 и Pa3 парных париетальных ганглиев. После проведения обучения животных указанные

нейроны извлекали из ЦНС, выделяли фракцию тотальной РНК и подготавливали библиотеки кДНК для секвенирования транскриптома на платформе Illumina. Проведённое с использованием scRNA-Seq исследование изменения транскриптома нейронов Pa2/Pa3 в ответ на ассоциативное обучение позволило нам провести сборку транскриптома *de novo*, а также выявить различия в экспрессии генов этих нейронов в пассивном состоянии (предполагаемый «маркерный» ген Pa2 – ген нейропептида F, Pa3 – FMRFамида), и изменения их транскрипционных программ в ответ на двухнедельное обучение. В ответ на выработку оборонительного условного рефлекса избегания 324 гена дифференциально экспрессируются по отношению к контрольным образцам (у 192 повышается уровень экспрессии, а у 32 – снижается, q -value <0,1). Анализ генной онтологии изменивших профиль экспрессии генов показал преобладание категорий трансляции, среди которой выделяется группа генов метаболизма тРНК, репликации ДНК, везикулярного транспорта, наряду с регуляцией транскрипции и специализации клеток нервной системы. Также анализ данных секвенирования показал, что в ответ на ассоциативное обучение командных нейронов Pa2/Pa3 вовлечены такие эпигенетические регуляторы, как фактор сплайсинга RBFOX1, регуляторы ремоделинга хроматина nBAF-комплекса и изоформы гистона H2A, наряду с белком статин-1A, который связывают с обучением, ассоциированным со страхом у млекопитающих животных. *Выполнение этого исследования было поддержано грантом РФФИ №20-15-00408.*

ВЛИЯНИЕ ГЛИБЕНКЛАМИДА НА СОДЕРЖАНИЕ ДОФАМИНА И НОРАДРЕНАЛИНА В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

А.С. Зубов¹, Т.В. Тютюнник^{1,2}, Т.И. Зубова¹, М.Н. Карпенко^{1,3}

¹Институт экспериментальной медицины; ²Санкт-Петербургский государственный университет;

³Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

Глибенкламид (ГД) – сахароснижающий препарат на основе сульфонилмочевины, применяемый как средство терапии сахарного диабета 2-го типа. Действие глибенкламида на ЦНС, в частности, на нейромедиаторный обмен, до сих пор плохо изучено. В экспериментах использовали четыре группы самцов крыс Вистар – 1 (ежедневное интраперитонеальное (i.p.) введение ГД в дозе 10 мкг/кг на протяжении 10 дней, $n=10$); 2, 3 (ГД в дозе 25 мкг/кг или 50 мг/кг соответственно, по аналогичной схеме, $n=10$), и 4 (ежедневное i.p. введение хлорида натрия в дозе 1 мл/крысу на протяжении 10 дней). На восьмой день эксперимента 5-ти животным из каждой группы вводили ЛПС i.p. в дозе 1 мг/кг. По окончании эксперимента животных декапитировали, извлекали стриатум и гиппокамп. Концентрацию норадреналина (НА) и дофамина (ДА) в образцах измеряли при помощи ВЭЖХ-ЭД. Данные выражали как нг/мг белка в пробе и представляли в виде $m \pm SEM$, использовали MANOVA с *post hoc* критерием Тьюки. Установлено, что введение ГД по выбранной схеме приводит к дозозависимому увеличению содержания ДА в клетках стриатума от 65,4±7,8 в группе 1, до 72,4±3,2 в группе 2, 102,1±15,6 в группе 3 и 121,5±9,0 в группе 4. (здесь и далее нг/мг белка), $p_{13}=0,041$, $p_{14}=0,004$, $p_{34}=0,007$, $p_{32}=0,041$. Содержание НА значимо отличалось от показателей группы 1 (4,3±0,9) только в группе 3 и составило 7,9±1,2, $p_{13}=0,039$. При этом, при введении ЛПС установлено, что уровень НА в стриатуме у крыс группы 2 (+ЛПС) составляет 12,5±2,0 выше, чем у той же группы 2 (-ЛПС) – 3,3±1,0, $p=0,022$. Уровень НА в стриатуме у крыс группы 1 (+ЛПС) составил 2,7±1,0, $p=0,028$ vs 5,7±1,50 у крыс группы 1 (-ЛПС), $p=0,049$. Уровень ДА в стриатуме у 3 группы крыс (+ЛПС) на 8-ой день составил 117,2±14,5, что больше, чем у контрольной группы (-ЛПС) 57,6±11,4, $p=0,02$. В гиппокампе уровень НА у 3 группы крыс (+ЛПС) на 8-ой день составил 1,7±0,4, выше по сравнению с уровнем НА в той же группе 3 (-ЛПС) 0,7±0,2, $p=0,016$, а так же увеличивается по сравнению с контрольной группой (-ЛПС) 1,7±0,3, $p=0,042$ и с контрольной группой (+ЛПС) 0,9±0,2, $p=0,015$. Выводы. Таким образом, введение ГД приводит к увеличению содержания ДА и НА в стриатуме, НА в гиппокампе, в условиях эндотоксинемии эффекты ГД сохраняются.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ГАМК-ЭРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ

А.П. Ивлев, Е.П. Александрова, Е.В. Черниговская

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

Несмотря на то, что электрофизиологические исследования не показали участия гиппокампа в реализации судорог на начальных этапах развития эпилепсии у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ), мы предположили, что гиппокамп играет важную роль в эпилептогенезе. У крыс данной линии в течение первых трёх месяцев жизни происходит развитие аудиогенной эпилепсии. Ранее было показано, что у крыс линии КМ наблюдается задержка в формировании структуры гиппокампа по сравнению с крысами линии Вистар (Kulikov et al 2020), которая продолжается до конца 2-го месяца жизни. ГАМК принимает участие в развитии нейронов гиппокампа (Ganguly et al, 2001). В связи с этим было решено проанализировать механизмы регуляции ГАМК-эргической системы, возможно приводящие к развитию судорожной готовности. Исследование было проведено на наивных крысах линии КМ на 15, 60 и 120 дни постнатального развития. В качестве контроля использовали крыс линии Вистар соответствующего возраста. Было обнаружено, что на 15 день постнатального онтогенеза в гиппокампе крыс линии КМ снижена экспрессия GAD67 и парвальбумина по сравнению с крысами Вистар данного возраста, что свидетельствует о низкой продукции ГАМК. Наряду с этим показано повышение уровней VGAT и субъединиц ГАМК-а рецепторов, что может быть компенсаторным эффектом. К 60 дню постнатального развития повышается содержание парвальбумина и GAD67, и снижаются уровни VGAT и субъединиц ГАМК-а рецепторов. Подобные различия сохраняются и у взрослых крыс со сформированной судорожной готовностью. Также показано более позднее увеличение экспрессии и активности транспортера хлора KCC2. Только к 60 дню постнатальной жизни уровень KCC2 достигает показателей крыс линии Вистар, у которых к 15 дню жизни уровень KCC2 достигает уровня взрослых животных, что приводит к переходу работы ГАМК-а рецепторов от возбуждающего к ингибирующему (Peerboom et al, 2021). Возможно, у крыс линии КМ подобный переход происходит позже. Выводы. Задержка в формировании гиппокампа крыс линии КМ может быть вызвана нарушением развития ГАМК-эргических нейронов, что может приводить к возникновению отклонений в формировании нейронных связей, и может являться одной из причин развития судорожной готовности.

ЕДИНИЧНЫЙ ЭПИЗОД ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ СУДОРОГ ВЫЗЫВАЕТ ПРОЛОНГИРОВАННОЕ НАРУШЕНИЕ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ В ГИППОКАМПЕ КРЫС

К.Х. Ким, Т.Ю. Постникова, А.М. Трофимова, А.В. Зайцев

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

Генерализованные судороги часто приводят к нарушениям памяти, причиной может быть потеря нейронов в гиппокампе и нарушение молекулярных механизмов формирования памяти. Нами было показано, что в течение первой недели после пентилентетразол-индуцированного эпилептического статуса (ЭС) наблюдалось нарушение механизма индукции долговременной синаптической потенциации (ДВП) в СА1 гиппокампа крыс. Осталось невыясненным, насколько длительны эти нарушения. Целью работы явилось изучение особенностей формирования ДВП и морфоструктурных изменений в гиппокампе крыс через 30 дней после пентилентетразол-индуцированного ЭС. Исследование проводилось на переживающих срезах мозга крыс Вистар. Полевые возбуждающие постсинаптические потенциалы отводили от радиального слоя поля СА1 гиппокампа. ДВП вызывали высокочастотной стимуляцией. Нейродегенерация в гиппокампе была исследована с помощью метода окрашивания по Нисслю. Выявлено, что ДВП ослаблена через месяц после ЭС по сравнению с контролем ($1,29 \pm 0,07$ у.е., $n=13$ и $1,49 \pm 0,05$ у.е., $n=11$ соответственно), и это ослабление сопровождалось снижением числа нейронов в поле СА3 (на 21%) и хилуса (на 17%) гиппокампа. Ослабление выработки потенциации может быть связано с нарушением свойств и локализации NMDA-рецепторов. Так, конкурентный антагонист NMDA-рецепторов D-AP5 (50 мкМ) блокировал индукцию ДВП как в контрольных, так и в экспериментальных срезах ($1,02 \pm 0,07$ у.е., $n=6$ и $0,97 \pm 0,07$ у.е., $n=8$ соответственно). Однако при использовании каналоблокатора NMDA-рецепторов МК-801 (10 мкМ) ДВП сохранялась у больших животных ($1,35 \pm 0,09$ у.е., $n=11$) и не вырабатывалась у контрольных ($0,97 \pm 0,05$ у.е., $n=7$). Также антагонист mGluR1 FTIDC (5 мкМ) блокировал выработку ДВП у больших крыс ($1,04 \pm 0,06$ у.е., $n=8$) и не влиял на величину пластичности у контрольных ($1,40 \pm 0,07$ у.е., $n=6$). Полученные данные могут свидетельствовать о перисинаптической локализации NMDARs, которые активируются под действием mGluR1 после высокочастотной стимуляции. Таким образом, выявлены пролонгированные нарушения синаптической пластичности, сопровождающиеся нейродегенерацией в поле СА3 и хилусе гиппокампа, вызванные однократно перенесенными генерализованными судорогами. *Работа выполняется при поддержке государственного задания ИЭФБ РАН №075-00408-21-00.*

ОБРАТИМАЯ МЕДЛЕННАЯ ДЕСЕНСИТИЗАЦИЯ ПРОТОН-АКТИВИРУЕМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ ASIC1a

М.С. Комарова, А.Р. Бухарев, Н.Н. Потапова, М.В. Николаев, Д.Б. Тихонов

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

Протон-активируемые каналы семейства ASIC широко представлены во многих органах и тканях, и особенно – в нервной системе, где участвуют в ряде нормальных и патологических процессов. Среди всех членов семейства только гомомерным ASIC1a рецепторам присущ феномен тахифилаксии (медленной десенситизации) – постепенного снижения амплитуды ответов в ходе серии активаций. Хотя этот процесс известен уже долгое время, его механизмы все еще плохо изучены. Так, ранее тахифилаксия ASIC1a каналов считалась необратимым процессом. В данной работе на клетках линии СНО, экспрессирующих рекомбинантные крысиные γ ASIC1a каналы, с использованием метода пэчч-кламп была показана частичная обратимость этого процесса. Восстановление ответа происходило в диапазоне десятков минут, что отличает эту медленную десенситизацию от других типов десенситизации ASIC1a: быстрой и равновесной. Воздействие, уменьшающие амплитуду ASIC-опосредованных токов – деполаризация и использование ингибитора 9-аминоакридина – уменьшали скорость развития медленной десенситизации. Напротив, увеличение амплитуд ответов с использованием потенцирующего соединения амитриптилина или активация более сильным закислением приводило к ускорению развития медленной десенситизации. Также было показано, что тахифилаксия не обусловлена входом ионов натрия внутрь клетки, а повышение концентрации экстраклеточного кальция приводит к замедлению её развития. Таким образом, медленная десенситизация является важной характеристикой гомомерных ASIC1a каналов и её влияние следует учитывать при оценке действия модуляторов и изучении функций этих каналов в норме и при патологии. *Работа поддержана грантом РНФ 21-14-00280.*

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ФОРМ BDNF В РАЗВИТИИ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д.А. Ланшаков¹, Е.В. Сухарева¹, В.В. Булыгина¹, Т.С. Калинина¹, С.Ю. Золотарева², Е.В. Денисов²

¹ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск; ²Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ онкологии, Томск

На функционирование адаптивных систем мозга во взрослом возрасте влияют непосредственно предшествующий онтогенез и стрессорные воздействия в его критические периоды. Активность нейронов префронтальной коры (mPFC) играет решающую роль в механизмах устойчивости к депрессивно-подобному поведению. Непосредственный интерес представляют гены, нарушение экспрессии которых в mPFC в ранний постнатальный период предрасполагает к развитию психопатологий в последующем. Одним из генов изменение экспрессии которого может связать программирующий эффект стрессорных воздействий в ранний постнатальный период является мозговой нейротрофический фактор Bdnf. Bdnf синтезируется в виде преформы и претерпевает сложный процессинг клеточными протеазами в зрелую форму. Каждая из форм оказывает своё действие через свой тип рецепторов. Для оценки влияния экспрессии каждой из форм Bdnf в неонатальной префронтальной коре, при помощи TET-ON лентивирусных векторов, специфически работающих в нейронах, в неонатальной mPFC крысят была запущена экспрессия с третьего по восьмой день жизни про- (LV-proBDNF), зрелой (LV-BDNF), а также мутантной (LV-proBDNF_mut) – не способной процессингу формы Bdnf. Временное повышение экспрессии всех форм приводило к повышению тревожности и депрессивно-подобного поведения в ювенильном возрасте на 30-й день жизни. По данным полнотранскриптомного исследования запуск экспрессии лентивирусных конструкторов доксициклином на восьмой день жизни приводит к отчетливо различным изменениям транскриптома mPFC, в зависимости от экспрессируемой формы Bdnf.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИСОЧНОЙ КОРЫ МОЗГА ПАЦИЕНТОВ С РЕФРАКТЕРНОЙ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

С.Л. Малкин¹, В.А. Хачатрян^{1,2}, Е.В. Федоров², Т.Ю. Постникова¹, Г.П. Диеспиров¹, Д.А. Амахин¹, Е.Б. Соболева¹, Ю.Л. Ергина¹, Е.Ю. Смирнова², А.В. Зайцев^{1,2}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; ²НМИЦ им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

Височная эпилепсия — это тяжёлое расстройство центральной нервной системы, связанное с нарушением баланса возбуждения и торможения в мозге, ведущим к развитию повторяющихся судорожных припадков. В настоящее время до 30% случаев эпилепсии являются рефрактерными, то есть, устойчивыми к доступным в клинической практике методам фармакотерапии. Одним из подходов к лечению рефрактерной височной эпилепсии является хирургическое удаление очагов генерации судорог, которые как правило расположены в височной коре, гиппокампе, или миндалине. Это позволяет добиться устойчивой ремиссии примерно в 60% случаев. Изучение морфологических и функциональных особенностей нейрональных сетей в эпилептических очагах пациентов с рефрактерной височной эпилепсией необходимо для понимания механизмов патогенеза этого заболевания и разработки новых подходов к его лечению. Мы проанализировали электрофизиологические свойства нейронов, а также морфологические особенности ткани височной коры пациентов, полученные в ходе хирургического лечения рефрактерной височной эпилепсии у детей. Свойства нейронов исследовались методом patch-clamp в переживающих срезах, изготовленных из послеоперационного материала, полученного в ходе нейрохирургических операций. Неиспользованный для электрофизиологических экспериментов материал фиксировался в формалине для последующего приготовления гистологических срезов и окраски по методу Ниссля. Мы обнаружили, что нейроны в эпилептических очагах пациентов с рефрактерной височной эпилепсией детского возраста характеризуются крайне высокой возбудимостью. Они генерируют потенциалы действия в ответ на минимальную деполяризацию, и способны поддерживать высокую частоту разрядов. При этом, для них было характерно высокое входное сопротивление мембраны, до 1 ГОма, что и лежит в основе высокой возбудимости этих клеток. Исследование гистологических препаратов выявило такие нарушения, как астроглиоз, нарушения структуры коры, и очаги нейровоспаления. Выявленные особенности могут лежать в основе патологического процесса, приводящего к генерации фармакорезистентных судорог у данных пациентов. *Работа поддержана грантом РНФ № 20-75-00131.*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ ОККЛЮЗИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ У КРЫС: КОРТИКОСТЕРОН, НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ И НЕЙРОТРОФИНОВЫЙ ОТВЕТ В ГИППОКАМПЕ И ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ НА РАННИХ СРОКАХ

М.В. Онуфриев, Ю.В. Моисеева, М.А. Касаткина, М.Р. Новикова, Н.В. Гуляева

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

В доклинических исследованиях для моделирования ишемического инсульта у грызунов в качестве альтернативы используются два классических метода окклюзии средней мозговой артерии – методы Longa (LM) и Koizumi (KM). В результате прямого сравнения этих моделей на мышах (Smith et al, 2015; Morris et al, 2016) выявили как сходство, так и важные различия между ними. В настоящем исследовании было проведено сравнение данных двух моделей на крысах в контексте кортикостероидного и нейротрофинового ответов и нейровоспаления. Ни объем инфаркта на 3-й день, ни неврологический дефицит и потеря веса не различались в этих моделях, но уровень смертности, как правило, был выше в группе KM. В то время как обе группы показали повышение уровней АКТГ в сыворотке крови через 3 дня после окклюзии, только крысы KM продемонстрировали повышение уровня кортикостерона и ИЛ-1β в крови по сравнению с соответствующими ложнооперированными группами. Накопление кортикостерона было выявлено в ипсилатеральной фронтальной коре и гиппокампе у крыс обеих групп, а также в контралатеральном гиппокампе группы KM. Уровень ИЛ-1β и BDNF увеличивался в ипсилатеральном гиппокампе и с обеих сторон во фронтальной коре в группе KM, но не в группе LM. Полученные данные демонстрируют различия в KM и LM, показывая, что высвобождение и аккумуляция кортикостерона, уровень ИЛ-1β и BDNF в гиппокампе и фронтальной коре более выражены у крыс KM, чем LM. *Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-015-00519а.*

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНЫХ АППАРАТОВ И ПОПУЛЯЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СЕРДЦЕ КРЫСЫ

Е.И. Чумасов^{1,2}, Е.С. Петрова¹, Е.А. Колос¹, Д.Э. Коржевский¹

¹Институт экспериментальной медицины; ²Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург

Известно, что при развитии таких сердечно-сосудистых заболеваний, как атеросклероз, ишемия миокарда, сердечная недостаточность и гипертрофия сердца, в различных отделах сердца животных и человека увеличивается популяция тучных клеток. Совместного исследования распределения тучных клеток и нервных структур в сердце млекопитающих в возрастном аспекте не проводилось. В настоящей работе, используя иммуногистохимические нейральные маркеры: белок PGP 9.5, тирозингидроксилазу и синаптофизин, проведено сравнительное исследование нервных аппаратов в сердце крыс в возрасте 3–4 и 23 мес. Кроме того, были изучены распределение и плотность популяции тучных клеток. Для идентификации тучных клеток применяли гистохимический метод окраски толуидиновым синим, который позволяет изучать зрелые формы тучных клеток, содержащие сульфат гепарина. Подсчет тучных клеток проводили в стенке левого и правого желудочков и в ушках предсердий молодых и старых крыс с помощью программы ImageJ (NIH, США). Анализ полученных данных показал, что места локализации тучных клеток в различных отделах сердца совпадают с зонами холинергической и симпатических иннервации тканей сердца. Установлено, что с возрастом во всех изученных отделах сердца наблюдается ослабление иннервации тканей. Особенно это касается симпатической иннервации. Отмечено уменьшение плотности симпатических сплетений, наличие дистрофических и дегенеративных изменений тирозингидроксилаза-иммунопозитивных терминальных аксонов. Установлено, что на фоне снижения симпатической иннервации в эпикарде и миокарде предсердий и желудочков у старых животных увеличива-

ется популяция тучных клеток. Предполагается, что увеличение числа тучных клеток в сердце при старении организма происходит в ответ на недостаток катехоламинов и связано с особенностями секреции тучными клетками специализированных биологически активных веществ (гепарина, гистамина, серотонина), действие которых направлено на поддержание местного тканевого гомеостаза и компенсаторно-приспособительных реакций сердца животного.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ГИППОКАМПе В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ У МОЛОДЫХ КРЫС

Т.Ю. Постникова, Г.П. Диеспилов, Е.Н. Вылекжанина, А.В. Зайцев

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

Височная эпилепсия (ВЭ) у детей является распространенным неврологическим расстройством, и в дальнейшем может приводить к трудностям в обучении и социализации. Однако специфика происходящих изменений в мозге при ВЭ в раннем возрасте изучена недостаточно. Цель работы – исследование механизмов формирования долговременной синаптической потенциации (ДВП) и морфологических изменений в гиппокампе крыс в хроническую фазу литий-пилокарпиновой модели ВЭ у молодых крыс. ЭС индуцировали у крыс Вистар в возрасте 21 день пилокарпином (30 мг/кг). Контрольным животным вводили NaCl. Исследования проведено через 31–35 дней после ЭС. Степень нейродегенерации оценивали на фронтальных криосрезках мозга (20 мкм), окрашенных по Нисслю. Астроглиоз выявляли иммуногистохимически с помощью биомаркера для астроцитов GFAP. Электрофизиологические эксперименты выполнены на переживающих срезах мозга. Полевые возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) отводили от радиального слоя поля CA1 гиппокампа. ДВП вызывали высокочастотной стимуляцией (ВЧС). У контрольных крыс ВЧС вызывала выраженную потенциацию ответов ($1,89 \pm 0,11$). У экспериментальных крыс ДВП снижалась до $1,50 \pm 0,08$. Антагонист NMDA-рецепторов МК-801 (10 мкМ) блокировал выработку ДВП у крыс контрольной группы ($1,08 \pm 0,11$), но не изменял ее у экспериментальных крыс ($1,54 \pm 0,10$). Блокатор метаболитных глутаматных рецепторов 1-го подтипа I группы (mGluR1) FTICD (5 мкМ) не влиял на выработку ДВП у контрольных крыс ($1,72 \pm 0,12$), и снижал уровень потенциации у экспериментальных ($1,14 \pm 0,05$). ЭС сопровождался гибелью нейронов во всех исследуемых областях гиппокампа. В поле CA1 у экспериментальных крыс наблюдалось увеличение площади, занимаемой GFAP-положительными клетками ($25,2 \pm 4,7\%$) по сравнению с контролем ($6,8 \pm 0,1\%$). Таким образом, ЭС, перенесенный в ювенильном периоде развития, в дальнейшем приводит к гибели нейронов, увеличению площади, занимаемой астроцитами и нарушениям механизмов синаптической пластичности в гиппокампе крыс. Через месяц после ЭС выявлен NMDA-независимый механизм индукции пластичности, обусловленный работой КП AMPA- и mGluR1-рецепторов. *Исследование поддержано грантом РНФ 21-15-00430.*

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР НЕРВНЫХ КЛЕТОК ГИППОКАМПА ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ NIF-ПРОЛИЛГИДРОКСИЛАЗЫ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА *IN VITRO*

М.О. Савюк, М.В. Ведунова, Е.В. Митрошина, А.А. Полозников

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

Болезнь Альцгеймера (БА) — это одна из самых распространенных форм деменций, характеризующаяся нарушениями памяти, мышления и речи. Одним из факторов, стимулирующих генерацию β -Амилоида ($A\beta$) является гипоксия. Важную роль в клеточной адаптации к гипоксии играет индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1 α), который активирует экспрессию более 70 генов, поддерживающих жизнеспособность клетки. Концентрация HIF-1 контролируется действием NIF-пролил гидроксилазы (PHD). Фармакологическое ингибирование PHD представляет перспективным подходом для разработки эффективных методов коррекции БА. Было проведено исследование спонтанной кальциевой активности нейрон-глиальных культур гиппокампа мыши при остром и хроническом фармакологическом моделировании β -амилоидоза *in vitro*. Ингибитор PHD, любезно предоставленный НТЦ «Биоклиникум», применялся ежедневно с 14 DIV в концентрации 15 мкМ. Кальциевый имиджинг проводился на 21-й день культивирования. Основные параметры кальциевых осцилляций и характеристики, описывающие связность нейрон-глиальных сетей, были проанализированы с помощью разработанного нами ранее алгоритма анализа имиджинговых данных, основанного на принципах компьютерного зрения (Mitroshina et al., 2020). При однократной аппликации $A\beta$ не было выявлено достоверных изменений по исследуемым характеристикам. При хроническом применении $A\beta$ наблюдалось значимое снижение уровня кальциевой активности и связности сети в группе « $A\beta$ » относительно интактной группы. Применение ингибитора PHD сохраняло основные характеристики кальциевой активности (частота и длительность осцилляций, число клеток, проявляющих активность) на уровне интактных культур. Коэффициент корреляции кальциевых событий, характеризующий связность сети, в группе « $A\beta$ » составил $0,34 \pm 0,13$. «Интakтные» – $0,8 \pm 0,04^*$, «Ингибитор PHD» – $0,46 \pm 0,19$. Аналогичные изменения наблюдается и по показателю, характеризующему отношение количества имеющихся функционально значимых межклеточных связей к максимально возможному их количеству («Интakтные» – $99,77 \pm 0,14\%$, « $A\beta$ » – $35,30 \pm 21,01\%^*$, «Ингибитор PHD» $57,14 \pm 29,02\%$). Это говорит о частичном сохранении кальциевых характеристик и нейропротекторном эффекте ингибирования PHD при моделировании БА. *Работа выполнена в рамках государственного задания (Соглашение № 0729-2020-0061).*

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ СУБЪЕДИНИЦ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ В СТРИАТУМЕ КРЫС В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

К.К. Ситдикова^{1,2}, В.Д. Дергачев², Е.Е. Яковлева^{2,3}, Е.Р. Бычков², П.Д. Шабанов²

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого; ²Отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, Институт экспериментальной медицины; ³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Глутаматные NMDA рецепторы играют важную роль в развитии различных нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона. При болезни Паркинсона изменяются взаимодействия между глутаматом и дофамином в стриатуме, который выполняет функцию моторного контроля. Антагонисты NMDA рецепторов широкого спектра действия облегчают некоторые моторные симптомы болезни Паркинсона, но эти положительные эффекты сопровождаются нежелательными побочными эффектами. Для лучшего понимания процессов, лежащих в основе развития данного заболевания, нам необходимо иметь больше информации об изменении экспрессии рецепторов NMDA в головном мозге после дофаминергической дегенерации нейронов. Цель нашего исследования – оценить уровень экспрессии генов, кодирующих субъединицы GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D глутаматных NMDA рецепторов в стриатуме после инъекции 6-OHDA. Дегенерацию дофаминергических нейронов индуцировали интрацеребровентрикулярным введением 6-OHDA в дозе 1,5 мг/кг. Контрольной группе вводили физиологический раствор. После извлечения мозга и отделения стриатума мы выделяли РНК и проведением реакции обратной транскрипции получали ДНК. Для оценки уровня экспрессии генов GRIN2A, GRIN2B, GRIN2C и GRIN2D, кодирующих субъединицы GluN2A, GluN2B, GluN2C и GluN2D, проводилось ПЦР в реальном времени. В результате, у крыс, получавших инъекции 6-OHDA, экспрессия субъединиц GluN2A, GluN2B и GluN2C в стриатуме была снижена более чем в 2 раза (GluN2A: 32±7%, GluN2B: 40±6%, GluN2C: 31±5%), при этом экспрессия субъединиц GluN2D не претерпела значительных изменений. Эти результаты демонстрируют чувствительность экспрессии субъединиц GluN2A, GluN2B и GluN2C к дегенерации дофаминергических окончаний в стриатуме.

УВЕЛИЧЕНИЕ ВХОДНОЙ ПРОВОДИМОСТИ МЕМБРАНЫ НЕЙРОНОВ ЭНТОРИНАЛЬНОЙ КОРЫ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ ТЕРМИНАЦИИ ИКТАЛЬНОГО РАЗРЯДА В МОДЕЛИ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ *IN VITRO*

Е.Б. Соболева, Д.В. Амахин, А.В. Чижов, А.В. Зайцев

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

Эпилепсия – одно из наиболее распространённых неврологических заболеваний, характеризующееся возникновением спонтанных судорожных припадков. На данный момент остается не ясным, что определяет длительность и тайминг залпов нейронной активности во время эпилептического приступа. В ряде исследований показано, что в *in vivo* моделях эпилепсии входная проводимость мембраны нейронов изменяется вследствие перенесенных судорожных состояний, что потенциально может оказывать влияние на возбудимость нейронной сети и быть фактором, определяющим течение эпилептического приступа. Основные закономерности развития эпилептической активности могут быть воспроизведены в моделях *in vitro*, что в данной работе позволило применить электрофизиологические методики для исследования роли изменений входной проводимости мембраны в протекании эпилептоподобного состояния. Исследование проводилось на переживающих срезах головного мозга крыс породы Вистар. Осуществлялась патч-кламп регистрация пирамидных нейронов глубоких слоёв энторинальной коры. В целях воспроизведения одиночных эпилептических припадков (иктальных разрядов) в условиях *in vitro* применялся перфузирующий раствор со сниженной концентрацией ионов магния, повышенной концентрацией ионов калия и добавлением хемоконовульсанта 4-аминопиридина. В ходе выполнения работы было показано, что входная проводимость мембраны нейрона примерно двукратно возрастает к концу иктального разряда, после чего снижается до исходных значений за 10-20 секунд. Данный прирост проводимости не блокируется внутриклеточным ВАРТА, что указывает на то, что она не зависит от внутриклеточной концентрации ионов кальция. При этом, прирост проводимости мембраны совпадает по времени с гиперполяризацией мембраны, наблюдаемой по окончании иктального разряда и вызываемой усилением работы Na/K-АТФазы, и сопровождается значительным ослаблением спонтанной сетевой активности. Таким образом, предварительные данные позволяют предполагать, что одним из механизмов терминации эпилептического припадка может быть снижение возбудимости нейрона за счет увеличения проводимости мембраны. Конкретный вид ионных каналов, опосредующих данный прирост проводимости, на данный момент еще не идентифицирован. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект 21-15-00416.

ИЗМЕНЕНИЕ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ АСТРОЦИТОВ ПРИ ГИПОКСИИ *IN VIVO*

А.Б. Тяглик¹, А.А. Федотова^{1,2}, К.И. Морозова², М.С. Шестопалова¹, А.В. Залыгин¹, В.А. Олейников¹, Н.А. Браже^{1,2},

А.В. Семьянов^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шелякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Гипоксия может приводить к нарушениям функционирования клеток головного мозга. Особенности метаболизма и устройства электронтранспортной цепи (ЭТЦ) нейронов и астроцитов предполагают функциональные различия в условиях дефицита кислорода. Цель исследования: оценить влияние гипоксии на состояние ЭТЦ митохондрий в астроцитах при одновременной количественной оценке степени оксигенации крови в сосудах головного мозга мышей в условиях *in vivo* при помощи микроспектроскопии комбинационного рассеяния (КР, рамановское рассеяние). Исследование выполнено на мышках линии C57Bl/6 (возраст 5–7 месяцев), экспрессирующих GFP ($\lambda_{ex}=473$ нм, $\lambda_{em}=510$ нм) в астроцитах. Вирусный вектор (pAAV.GfaABC1D.PI.Lck-GFP.SV40) доставляли с помощью стереотаксической инъекции в соматосенсорную кору. Регистрацию спектров КР от астроцитов, соседних с ними клеток и близлежащих сосудов проводили через краниальное окно под общей инъекционной анестезией. Длительность гипоксии составляла 15-20 минут с последующей реоксигенацией. Спектры КР сосудов соответствовали спектрам окси- и дезоксигемоглобина. На основе спектров проводили калибровку для оценки степени

оксигенации крови при гипоксии и реоксигенации. Спектры КР, зарегистрированные от клеток мозга в условиях *in vivo*, представляли собой совокупность пиков, связанных с колебаниями связей в гемах восстановленных цитохромов С и В-типов, липидах, белках. Используя интенсивности перечисленных пиков, оценивали относительное содержание восстановленных цитохромов С и В-типов в ЭТЦ митохондрий. При гипоксии относительное количество восстановленных цитохромов в митохондриях астроцитов увеличивалось в большей степени, чем в окружающих клетках, что свидетельствует о значительной степени заполненности ЭТЦ электронами. Астроциты отличались более медленным снижением относительного количества восстановленных цитохромов при реоксигенации, что указывает на перепополнение ЭТЦ митохондрий электронами после гипоксии. Накопление электронов в ЭТЦ при реоксигенации может приводить к их переносу на молекулу O₂ на комплексах III или I с образованием активных форм кислорода, являющихся причиной развития окислительного стресса в тканях. Таким образом, долгосрочные последствия гипоксии в головном мозге могут быть опосредованы необратимыми изменениями в работе астроцитов.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ БЛОКАДЫ КИНАЗ RIPK1, SRC И ИККВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ *IN VIVO*

М.Д. Уразов, М.В. Ведунова, Е.В. Митрошина

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

Целью работы явилось изучение роли киназ RIPK1, SRC и ИККВ в регуляции устойчивости малых лабораторных животных к действию острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) *in vivo*. Исследование было проведено на самцах мышей линии C57BL/6. Экспериментальные животные были разделены на следующие группы: «Интактные» (n=10), «Контроль» – моделирование ОГБГ (n=19), и экспериментальные группы с превентивным внутрибрюшинным введением блокаторов киназ RIPK1 (Necrostatin-1), SRC (Dasatinib) и ИККb (CAS 873225-46-8) и моделированием ОГБГ (n=10). Necrostatin-1, Dasatinib и CAS 873225-46-8 вводились в концентрациях 25 мкг/кг, 10 мкг/кг и 1 мкг/кг соответственно за 40 минут до моделирования ОГБГ. Животных на 10 минут помещали в герметичную барокамеру, в которой создавали давление 220–240 мм рт. ст., что соответствует высоте 10 000 м над уровнем моря. Подъем на «высоту» производился со скоростью 183 м/с в течении 1 минуты. Оценивалось время жизни животных, выживаемость, время потери и восстановления позы. Животных, время жизни на высоте которых составляло менее 3 минут относили к группе низкоустойчивых, от 3 до 7 минут – к среднеустойчивым, более 7 минут – к высокоустойчивым. Выживаемость животных в группе «Контроль» составила 16%, в группе «SRC» – 25%, «ИККВ» – 8%. Блокада RIPK1 киназы повышала данный показатель до 50%. В контрольной группе 74% животных являлись среднеустойчивыми, 21% – высокоустойчивыми, 5% – низкоустойчивыми. Показано, что при блокаде киназы RIPK1 92% животных являлись среднеустойчивыми, 8% низкоустойчивыми. Применение ингибиторов SRC и ИККb киназ не изменяло распределение устойчивости животных к действию гипоксии. Через 24 часа после моделирования ОГБГ проводилось оценка общей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных в установке IR Actimeter. На 1-е сутки после ОГБГ отмечалось достоверное снижение дистанции, пройденной животными в центральной зоне в 2 раза, в группах с применением ингибиторов киназ двигательная активность животных не отличалась от показателей интактной группы. Таким образом, исследования *in vivo* продемонстрировали, что блокада киназ RIPK1 и SRC повышает адаптационные возможности организма на фоне моделирования ОГБГ. Работа выполнена в рамках государственного задания (Соглашение № 0729-2020-0061).

ИНГИБИРОВАНИЕ И ПОТЕНЦИРОВАНИЕ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ У НАСЕКОМЫХ АНТИКОНВУЛЬСАНТАМИ

И.М. Федорова, Д.Б. Тихонов

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

Многие лекарственные препараты оказывают различное или даже противоположное воздействие на нервную систему позвоночных и беспозвоночных. Мы изучили действие блокаторов потенциал-управляемых натриевых каналов на нервно-мышечную синаптическую передачу у личинок *Calliphora vicina* и *Tenebrio molitor* а также у имаго *Periplaneta americana*. Лидокаин и карбамазепин ингибировали нервно-мышечную передачу насекомых в соответствии с классическим механизмом действия на натриевые каналы. Однако, мы обнаружили, что противосудорожные препараты фенитоин и ламотриджин существенно усиливают синаптическую передачу. Потенцирующий эффект был выражен при низких уровнях внеклеточного кальция и исчезал или сменялся умеренным ингибированием при повышении концентрации кальция. Аналогичное кальций-зависимое действие наблюдалось для блокатора калиевых каналов 4-аминопиридина. На фоне 4-аминопиридина фенитоин и ламотриджин также не оказывали потенцирующего действия. Наши результаты свидетельствуют, что фенитоин и ламотриджин действуют как ингибиторы калиевых каналов в нейронах насекомых и вызывают деполаризацию мембран, что облегчает поступление кальция в нервные терминалы и приводит к потенцированию передачи.

ВЛИЯНИЕ НООТРОПНЫХ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ ГАМКА И СТРИХНИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГЛИЦИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИЗОЛИРОВАННЫХ НЕЙРОНАХ МОЗГА

И.Н. Шаронова, Ю.В. Буканова

Научный центр неврологии, Москва

Регуляторные пептиды представляют собой биологически активные вещества, оказывающие выраженное влияние на функции нервной системы. К числу таких пептидов относится класс глипролинов, представляющих собой короткие пролин и глицин содержащие пептиды обладающие относительной устойчивостью к биодegradации. Основные эффекты этих пептидов

были изучены на поведенческих моделях, в то время как данные о клеточных и рецепторных механизмах их действия ограничены. В настоящей работе при регистрации активности лиганд-управляемых каналов в изолированных нейронах мозга с помощью пэтч-кламп метода исследовали эффекты двух глипролинов – синтетического пептида семакс и эндогенного нейрпептида циклопролилглицина (сРГ). В экспериментах на клетках Пуркинье обнаружили, что при совместной аппликации ГАМК (2 мкМ) и пептидов семакс или сРГ в концентрации 0,1-10 мкМ заметных изменений амплитуды и кинетики токов, вызываемых ГАМК, не происходит. При введении семакса или сРГ в концентрации 1 мкМ в перфузирующий раствор в большинстве зарегистрированных нейронов наблюдали постепенный рост амплитуды ГАМК-тока, который достигал максимальной величины на 4-5-ой минуте после начала аппликации пептидов. При отмывании пептидов из перфузирующего раствора амплитуда ответа постепенно уменьшалась, либо возвращаясь к контрольным значениям, либо сохраняясь увеличенной в течение всего периода наблюдений (десятьки минут). На пирамидных нейронах гиппокампа обнаружили, что семакс и сРГ в концентрациях 0,1-1 мкМ усиливают десенситизацию глицин-активируемых хлорных токов при коротких аппликациях с агонистом и уменьшают пиковую амплитуду тока при введении пептидов в перфузирующий раствор. Относительно медленное развитие эффектов этих пептидов и их неполная обратимость указывают на участие систем вторичных посредников в их реализации и/или опосредованное действие, связанное с активацией других регуляторных систем. Обнаруженное усиление активности ГАМКА рецепторов под действием Семакса и сРГ может быть одним из механизмов, обеспечивающих нейропротекторные свойства этих пептидов. Ослабление под их действием тонического торможения в нейронах гиппокампа, связанного с активностью внесинаптических глициновых рецепторов, может облегчать синаптическую пластичности и память. *Поддержано грантом РФФИ 20-015-00215.*

ЗАКИСЛЕНИЕ ЦИТОПЛАЗМЫ УГНЕТАЕТ МОБИЛИЗАЦИЮ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ

Р.Д. Мухамедзянов¹. А.Л. Зефирова^{1,2}. А.В. Захаров^{1,3}. К.А. Мухутдинова². Ю.Г. Одношвикина¹. А.М. Петров^{1,2,4}

¹Казанский государственный медицинский университет, кафедра нормальной физиологии; ²Институт нейронаук, Казанский государственный медицинский университет; ³Казанский федеральный университет; ⁴Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань

Известно, что в процессе синаптической активности внутри нервного окончания (НО) происходят изменения pH, связанные с работой протонной помпы и везикулярных транспортеров нейромедиатора, которые встраиваются в пресинаптическую мембрану после экзоцитоза синаптических везикул (СВ), сохраняя функциональную активность. Однако значимость такого фактора, как величина цитоплазматического pH, не выяснена. Эксперименты проведены на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы белых мышей и кожно-грудинной мышцы озерных лягушек (*Rana ridibunda*) в осенне-зимний период в соответствии со стандартами по использованию лабораторных животных. Потенциалы концевой пластинки (ПКП) регистрировали внутриклеточно, стеклянными микроэлектродами. Флуоресценцию наблюдали с помощью микроскопа Olympus BX-51WI. Краситель FM1-43 (5 мкМ) использовали для оценки эндо-экзоцитоза СВ. В экспериментах на мышце мыши использовали насыщенный кислородом раствор Кребса, в экспериментах на мышце лягушки использовали раствор Рингера, pH растворов поддерживали на уровне 7,3–7,4 при температуре 20°C. Для блокирования сокращений мышечных волокон использовали d-тубокурарин (2–5 мкМ). Для индукции закисления цитоплазмы использовали модифицированные растворы Кребса и Рингера, в которых часть хлорида натрия была замещена на пропионат натрия. Обнаружено, что в диафрагме мыши и кожно-грудинной мышце лягушки внутриклеточный ацидоз вызывает выраженное снижение секреции нейромедиатора в начальную минуту 20 Гц-стимуляции. Это сопровождается резким замедлением освобождения FM1-43 в ходе экзоцитоза синаптических везикул в ответ на стимуляцию. Эксперименты с оценкой захвата FM1-43 показали отсутствие нарушений эндоцитоза синаптических везикул. Закисление полностью предотвращало действие проникающего через мембраны агента (24-гидроксистерина), усиливающего мобилизацию синаптических везикул. Мы предполагаем, что понижение внутриклеточного pH угнетает нейротрансдукцию за счет замедления доставки синаптических везикул в сайты экзоцитоза при интенсивной активности. Этот механизм может регулировать секрецию нейромедиатора по принципу отрицательной обратной связи. *Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ № 20-015-00507.*

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИЗОСОМНЫХ ФЕРМЕНТОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕТАБОЛИЗМ ЦЕРАМИДОВ, В ПАТОГЕНЕЗЕ МУЛЬТИСИСТЕМОЙ АТРОФИИ

А.И. Безрукова¹. К.С. Башарова¹. Д.А. Богданова¹. К.А. Сенкевич^{1,2}. А.С. Журавлев¹. А.К. Емельянов^{1,2}.

Е.В. Грачева⁴. И.В. Милохина^{2,4}. Г.В. Байдакова⁵. Е.Ю. Захарова⁵. С.Н. Пчелина^{1,2,3}. Т.С. Усенко^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

³Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; ⁴Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН,

Санкт-Петербург; ⁵Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

Синуклеинопатии – это группа нейродегенеративных заболеваний, к которым относятся болезнь Паркинсона (БП), деменция с тельцами Леви (ДТЛ) и мультисистемная атрофия (МСА). На сегодняшний день молекулярные механизмы развития синуклеинопатий остаются неизвестными. Последние данные указывают на ключевую роль дисфункции лизосомы, в частности, нарушения метаболизма церамидов в патогенезе синуклеинопатий. Цель данного исследования заключалась в оценке лизосомной активности при синуклеинопатиях. В исследование вошло 163 пациента с БП с отсутствием деменции, 28 пациентов с БП с деменцией (БПД), 44 пациентов с ДТЛ, 30 пациентов с МСА и 159 индивидуумов контрольной группы. Уровень экспрессии генов GBA, SMPD1, GLA оценивался методом количественной ПЦР в режиме реального времени в CD45⁺ клетках периферической крови. Активность ферментов (глюкоцереброзидаза (GCase), альфа-галактозидаза (GLA), кислая сфингомелиназа (ASMase)) и концентрацию их субстратов (лизосфинголипидов) (гексозилсфингозин (HexSph) (глюкозилсфингозин

(GlcSph) + галактозилфосфингозин (GalSph)), глоботриаозилфингозин (LysoGb3), лизосфингомиелин (LysoSM)) измеряли с помощью жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией в сухих пятнах крови. Нами была выявлена повышенная концентрация HexSph у пациентов с МСА, ДТЛ, БПД по сравнению с БП и контролем ($p < 0,01$). Пациенты с МСА характеризовались пониженной экспрессией гена SMPD1 по сравнению с БПД и контролем ($p < 0,05$). Активность ASMase была снижена у пациентов с МСА, ДТЛ, БПД по сравнению с БП ($p < 0,05$), а также у пациентов с МСА по сравнению с контролем ($p < 0,0001$). Более того, концентрация LysoSM была снижена у пациентов с МСА по сравнению с ДТЛ и контролем ($p < 0,05$). Интересно отметить, что у пациентов с МСА активность GLA была повышена по сравнению с пациентами с БП и контролем ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о роли дисфункции лизосом в патогенезе синуклеинопатий и более выраженном изменении лизосомной активности, в частности, изменении активности ASMase (SMPD1, ASMase, LysoSM) у пациентов с МСА. *Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-015-00116.*

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА ПРИ СТАРЕНИИ

П.А. Вишнякова

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

Гипоталамус является наиболее важным интегратором вегетативной и эндокринной регуляции и отвечает за рост, развитие, репродуктивную функцию и метаболизм. Старение сопровождается морфофункциональными изменениями нейронов автономной нервной системы. Тем не менее, нейрохимические особенности дорсомедиального (ДМЯ) ядра гипоталамуса при старении остаются малоисследованными. Цель исследования: выявление различий иммуногистохимических характеристик нейронов ДМЯ гипоталамуса между молодыми и старыми крысами. Исследование проводилось с наблюдением основных биоэтических правил. Проводили выявление сиртуин 1-, нейрональной синтазы оксида азота (nNOS)-, кальбиндин- (КБ), кальретинин- (КР) иммунореактивных (ИР) нейронов в ДМЯ у молодых (2-3 месяца) и старых крыс (2-2,5 года) иммуногистохимическими методами и вестерн-блоттингом. У молодых самцов и самок в ДМЯ выявлялся небольшой процент nNOS-иммунопозитивных нейронов. У старых животных процент nNOS-ИР нейронов и степень иммунофлуоресценции к nNOS достоверно увеличивались. КБ-ИР нейроны в ДМЯ обладали интенсивной флуоресценцией в обеих возрастных группах. Наибольший процент КБ-ИР нейронов выявлялся в вентральной области ДМЯ. Процент КБ-ИР нейронов достоверно снижался почти в два раза у старых животных, при этом у самок выявлялся больший процент КБ-ИР нейронов по сравнению с самцами. При старении процент КР-ИР нейронов в ДМЯ достоверно увеличивался у самцов и самок. Sirt1 содержится в подавляющем большинстве (от $95 \pm 1,3\%$ до $97 \pm 0,9\%$) нейронов ДМЯ гипоталамуса молодых и старых крыс самцов и самок без достоверных различий по этому показателю между группами. Однако наблюдались достоверные различия по средней оптической плотности. Выраженная флуоресценция в ДМЯ наблюдается у молодых. У старых животных показатель средней оптической плотности снижался в ДМЯ с $43 \pm 2,3$ до $27 \pm 1,9$. Экспрессия nNOS и КР увеличивалась, а КБ снижалась по данным вестерн-блоттинга. Следовательно, при старении происходят разнонаправленные изменения нейрохимического состава ДМЯ гипоталамуса, проявляющиеся в снижении экспрессии nNOS и КБ, увеличении экспрессии КР. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).*

ПРИМЕНЕНИЕ КАНАЛРОДПСИНА-2. ЭКСПРЕССИРОВАННОГО В АСТРОЦИТАХ, В ЦЕЛЯХ КОНТРОЛЯ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

Е.И. Герасимов¹, А.И. Ерофеев¹, С.А. Пушкарева¹, А.В. Большакова¹, А.А. Бородинова², П.М. Балабан²,

И.Б. Безпрозванный^{1,3}, О.Л. Власова¹

¹Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; ²Лаборатория клеточной нейробиологии обучения, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва; ³Отделение физиологии Юго-Западного медицинского центра Университета Техаса, Даллас, Техас, США

Астроциты играют важную роль в поддержании и регуляции нейронных сетей в головном мозге. Они способны влиять на активность нейронов, регулируя внесклеточную концентрацию ионов калия, а также нейромедиаторов, благодаря экспрессии на их мембране большого количества переносчиков электрогенных медиаторов (глутамата, ГАМК, глицина). Высвобождая глиотрансмиттеры, астроциты воздействуют на нейрональные рецепторы, модулируя возбудимость нейронов, синаптическую передачу и пластичность. Астроциты в ответ на стимул реагируют внутриклеточными кальциевыми волнами [Ca^{2+}]. При распространении этой волны высвобождаются серин, цитокины и лактат, которые модулируют активность нейронов (Salmina et al. 2021). Способность астроцитов высвобождать глутамат позволяет регулировать функцию NMDA-рецепторов, тем самым контролируя возбуждение в сети нейронов. Астроциты тесно связаны с патогенезом и патологическими процессами нейродегенеративных заболеваний, поэтому способность контролировать их активность становится актуальной и необходимой задачей при их лечении. В качестве основного метода активации астроцитов в данной работе используется метод оптогенетики, позволяющий избирательно, с физиологическим пространственно-временным разрешением, регулировать активность астроцитов гиппокампа. Цель исследования заключалась в оценке влияния оптогенетической активации астроцитов, экспрессирующих ионотропный опсин (ChR2), на электрофизиологическую активность нейронов гиппокампа мышей. Анализ электрофизиологической активности нейронов проводился путем измерения количества спонтанных токов до и после оптогенетической активации астроцитов методом patch-clamp в режиме фиксации потенциала конфигурации «целая-клетка». Результаты исследований показали повышение активности пирамидных нейронов гиппокампа в ответ на оптическую стимуляцию астроцитов содержащих вирус AAV5 pZac2,1 GfaABC1D_ChR2(H134R)-mCherry, и позволили определить режим световой стимуляции

астроглии. В импульсном режиме $t=100$ мс, $T=1$ с ($1,39\pm 0,14$) и непрерывном режиме $t=5$ с наблюдалось значительное изменение частоты сВПСТ ($1,81\pm 0,15$) относительно значения базового уровня. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 20-65-46004 (OLV).*

ДАБ-19 – НОВЫЙ АНТАГОНИСТ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ КЛАССА ДИАЗЕПИНО-[1,2- α]-БЕНЗИМИДАЗОЛОВ М.Ю. Дронь¹-О.И. Барыгин¹-Д.В. Мальцев²-Л.Н. Диваева³

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; ²Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ, Волгоград; ³НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета, Ростов-на-Дону

Работа посвящена поиску новых потенциально клинически-толерантных блокаторов NMDA-рецепторов. В текущее время в медицинской практике известны лишь два препарата – блокатора NMDA-рецепторов: мемантин и кетамин; первый используется при болезни Альцгеймера, в то время как второй – как быстродействующий антидепрессант. Эксперименты проводились на пирамидных нейронах гиппокампа крысы линии Вистар. Методом локальной фиксации потенциала в конфигурации целая клетка были исследованы производные диазепинобензимидазолов, в ряду которых самым активным оказался ДАБ-19 (11-[4-трет-бутилбензил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2- α]-бензимидазола гидробромид), ИК50 которого при потенциале на мембране -80 мВ в отсутствие магния составила $11,0\pm 0,6$ μ М, а коэффициент Хилла $1,03\pm 0,14$. Действие ДАБ-19 было неконкурентным и потенциал-зависимым. Кроме того, для него была характерна частичная ловушка. Эти факты позволяют утверждать, что основным молекулярным механизмом действия ДАБ-19 на NMDA рецепторы является блокада поры канала. Слабое ингибирование при положительных потенциалах свидетельствует в пользу того, что помимо блокады поры канала NMDA рецепторов, ДАБ-19 может оказывать на них аллостерическое действие. Кроме того, ДАБ-19 ингибировал 2 других основных подтипа ионотропных глутаматных рецепторов – кальций-проницаемые и кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы (ИК50= $4,8\pm 0,9$ μ М и $15,5\pm 1,5$ μ М, соответственно). Способность ДАБ-19 ингибировать и NMDA, и AMPA рецепторы в низкомикромолярных концентрациях представляется уникальной и стимулирует дальнейшую его разработку в качестве потенциального нейропротектора и/или инструмента для *in vitro* исследований. *Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-1502020-916 от 16.11.2020 г.).*

АКТИВАЦИЯ SK КАНАЛОВ ВОССТАНАВЛИВАЕТ НАРУШЕННЫЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ КОРЫ МОЗЖЕЧКА МЫШЕЙ-МОДЕЛЕЙ АТАКСИИ

П.А. Егорова¹-И.Б. Безпрозванный^{1,2}

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; ²Юго-Западный медицинский центр Университета Техаса, Даллас, Техас, США

Спиноцеребеллярная атаксия 2-го типа (СЦА2) является неизлечимым наследственным заболеванием, вызываемым экспансией полиглутамина в белке атаксин-2. В случае СЦА2 так же, как и в случае большинства других типов атаксий, в первую очередь наблюдается поражение клеток Пуркинью (КП) коры мозжечка – крупных эфферентных нейронов, передающих информацию от коры мозжечка к ядрам мозжечка и другим глубинным структурам мозга. В регуляции пейсмекерной активности КП важную роль играют кальций-активируемые калиевые каналы малой проводимости (SK каналы). В экспериментах нашей лаборатории методом патч-кламп на срезах мозжечка было показано, что КП мышей-моделей СЦА2 трансгенной линии SCA2-58Q генерируют активность с измененной частотой и регулярностью, однако нарушенные нейрофизиологические свойства КП восстанавливаются при добавлении в омывающий раствор активаторов SK каналов. Методом внеклеточной регистрации активности КП от одиночного отведения на анестезированных уретаном животных также было показано, что регулярность активности КП нарушена в случае мутантных животных по сравнению с мышами дикого типа того же возраста. Было продемонстрировано, что внутрибрюшинные инъекции активатора SK каналов хлорзоксазона (CHZ) значительно повышают регулярность активности КП в случае анестезированных СЦА2 мышей. Далее методом регистрации импульсной активности КП мозжечка бодрствующих животных с использованием иммобилизующей платформы Mobile HomeCage (Neurotar, Финляндия) нами было показано, что спонтанная активность КП мозжечка бодрствующих СЦА2 мышей также нарушена, а именно – изменена генерация простых и сложных спайков, значительно повышена вариабельность межимпульсного интервала. Нами было продемонстрировано, что долговременные систематические внутрибрюшинные инъекции 30 мг/кг CHZ восстанавливали регулярность активности КП, а также значительно улучшали моторную активность мутантных мышей. Полученные данные подтверждают гипотезу о том, что SK каналы представляют собой потенциальную мишень для терапевтического лечения атаксии. *Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 19-15-00184.*

УРОВЕНЬ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В CD45+ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ СИНУКЛЕИНОПАТИЯХ

А.С. Журавлев¹-А.О. Лавринова¹-Д.Г. Кулабухова^{1,2}-М.А. Николаев^{1,2}-Х.Д. Фаюд¹-И.В. Милюхина^{2,4}

А.А. Тимофеева²-С.Н. Пчелина^{1,2,3}-А.К. Емельянов^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ Курчатовский институт», Гатчина;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

³Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; ⁴Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург

Синуклеинопатии являются группой нейродегенеративных заболеваний, которая характеризуется патологическими включениями белка альфа-синуклеина (SNCA) в различных отделах мозга, с поражением как нейрональных, так и глиальных клеток. К ним относятся болезнь Паркинсона (БП), включая БП с деменцией (БПД), деменция с тельцами Леви (ДТЛ) и мультисистемная атрофия (МСА).

тисистемная атрофия (МСА). Наиболее распространенными видами синуклеинопатий являются БП и ДТЛ. К настоящему времени большинство исследований по оценке уровня SNCA в клетках периферической крови посвящено БП, в то время как изменение этого показателя при других синуклеинопатиях остается малоизученным. Целью исследования являлась оценка концентрации белка SNCA в CD45⁺ клетках периферической крови пациентов с БП, БПД, ДТЛ, МСА и индивидуумов контрольной группы. В исследование вошли 112 пациентов с БП (средний возраст 62,55±7,89 лет), 24 с БПД (средний возраст 75,5±5,79 лет), 55 с ДТЛ (средний возраст 73,13±9,64 лет) и 25 с МСА (средний возраст 61,07±6,39 лет). Группа контроля состояла из 101 человека (средний возраст 62,21±8,81 лет). CD45⁺ клетки выделялись из венозной крови в градиенте плотности раствора фикола (Биолот, Россия) с последующей магнитной сепарацией (ручной сепаратор MACS (Miltenyi Biotec, США), колоноки miniMACS типа MS (Miltenyi Biotec, США)). Оценка концентрации SNCA в CD45⁺ клетках периферической крови проводилась методом иммуноферментного анализа с применением коммерческого набора Human alpha-synuclein ELISA Kit (Thermo Scientific, США). Статистическая обработка данных проводилась в программе SPSS 21.0.

Впервые показана повышенная концентрация SNCA в CD45⁺ клетках периферической крови пациентов с МСА (10,2 (2,16÷37,48)) и БПД (13,16 (0,78÷35,96)) по сравнению с группой контроля (6,07 (0,46÷22,42)) ($p=0,03$, $p<0,0001$, соответственно). Также обнаружена повышенная концентрация данного белка в CD45⁺ клетках периферической крови пациентов с БПД по сравнению с группой пациентов с БП (7,19 (0,46÷36,8)) ($p<0,0001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что МСА и БПД характеризуются повышением уровня альфа-синуклеина в CD45⁺ клетках периферической крови. *Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант №20-015-00116/2020).*

НОКДАУН САМКПВ СНИЖАЕТ НЕЙРОНАЛЬНЫЙ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ

Н.И. Зернов¹, И.Б. Безпрозванный^{1,2}, Е.А. Попугаева¹

¹Санкт-Петербургский политехнический Университет Петра Великого, Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербург, Россия; ²Юго-западный медицинский центр Университета Техаса, Отделение физиологии, Даллас, США

Болезнь Альцгеймера (БА) — самое распространенное нейродегенеративное заболевание в мире. На сегодняшний день механизм возникновения БА неизвестен. В клеточных моделях БА показано, что из-за переизбытка Ca²⁺ в ЭПР снижается активность нейронального депо-управляемого входа кальция (нДУВК) (Sun et al, Neuron 2014). нДУВК необходим для защиты грибовидных шипиков от амилоидной токсичности. Положительные модуляторы нДУВК демонстрируют терапевтический эффект — восстанавливают индукцию долговременной потенциации (LTP) в срезах мозга 5хFAD мышей (Porugaeva et al, Mol Pharmacology, 2019). Кальций/кальмодулин зависимая киназа второго типа (СаМКII) принимает активное участие в индукции LTP в нейронах гиппокампа. Предполагается, что кальций входящий через нДУВК необходим для поддержания активности СаМКII в состоянии покоя в нейронах гиппокампа. В настоящей работе исследована роль СаМКII в регуляции нДУВК в нейронах гиппокампа. В качестве блокатора СаМКII использовали соединение KN-62. Для ингибирования экспрессии СаМКII в нейронах гиппокампа использовали shРНК, комплементарную к мышиной СаМКIIβ. Методом иммунофлуоресцентного анализа показано, что KN-62 вызывает снижение экспрессии активной формы СаМКII (рСаМКII) в первичных гиппокампальных нейронах более чем на 30%. Методом кальциевого имиджинга показано, что воздействие соединения KN-62 на культуру гиппокампа вызывает снижение амплитуды нДУВК в some нейронах более чем в 2 раза. Также обнаружено, что нокдаун СаМКIIβ вызывает снижение амплитуды нДУВК в дендритных шипиках первичных нейронов гиппокампа более чем на 30%. В нейронах гиппокампа нДУВК образован трюичным комплексом TRPC6/ORAI2/STIM2 (Zhang et al, J Neurosci, 2016). Вероятно, эффект нокдауна СаМКIIβ на амплитуду нДУВК связан с уменьшением площади головки шипиков, так как нами обнаружено снижение процента грибовидных и пеньковых шипиков более чем на 60% и 70%, соответственно. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-75-10026).*

ЭФФЕКТЫ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ ПРИ МАРГАНЦЕВОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

И.С. Ивлева, М.Н. Карпенко

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Повышение содержания марганца (Mn) в организме приводит к развитию марганцевой энцефалопатии (МЭ), при которой наблюдаются двигательные и аффективные нарушения. На сегодняшний день патогенетической терапии МЭ не существует, поэтому необходим поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия с целью снижения выраженности МЭ. Ранее нами было показано, что интраназальное введение Mn приводит к гиперактивации кальпаинов в стриатуме крыс, причем выраженность заболевания прямо коррелирует с активностью кальпаинов. Целью данной работы было оценить эффекты подавления активности кальпаинов с помощью синтетического ингибитора, соответствующего 184–210 а.к. кальпастина, на модели МЭ у крыс. Работа выполнена на самцах крыс линии Вистар, 220–250 г. Животные были разделены на три группы: первая группа (1) получала 30 дней интраназально MnCl₂ (1 мг/жив в день), вторая группа (2) получала такой же объем MnCl₂ и 1 мкг/жив пептида, контрольная группа (3) получала физиологический раствор. Оказалось, что введение кальпастина не предотвращает накопление Mn в стриатуме: уровень Mn в стриатуме у крыс групп 1 ($p=0,001$) и 2 ($p=0,001$) в три раза выше, чем у контрольных животных. Уровень дофамина у крыс группы 1 ($p=0,001$; $p=0,042$) был ниже, чем у крыс группы 2 ($p=0,035$), что, в свою очередь, было ниже, чем у крыс группы 3. Эти данные свидетельствуют о гибели дофаминергических нейронов при МЭ и о том, что кальпастин оказывает протективное действие. Уровни мРНК ($p=0,031$) и белка ($p=0,002$) тирозингидроксилазы (ТГ) у крыс группы 1 были в 2 раза ниже по сравнению с контролем. У крыс группы 2 уровень мРНК ТГ возрос в 2 раза по сравнению с контролем ($p=0,001$), однако уровень белка был ниже, чем у крыс группы 3 ($p=0,014$), но выше, чем у крыс группы 1 ($p=0,012$), что согласуется с данными по уровню дофамина. Уровень белка дофамин-β-гидроксилазы (ДБГ) у крыс группы 1 возрос в 3,5 раза по сравнению с крысами групп 2 ($p=0,034$) и 3 ($p=0,017$). Напротив, уровень

мРНК ДБГ оказался выше у крыс группы 2 по сравнению с крысами групп 1 ($p=0,048$) и 3 ($p=0,027$). Исходя из полученных результатов, можно заключить, что подход, основанный на подавлении активности кальпаинов может быть использован для терапии марганцевой энцефалопатии. *Работа поддержана грантом РФФИ № 19-315-90009.*

ВЛИЯНИЕ ТАУ-ТОКСИЧНОСТИ НА НЕЙРОНАЛЬНЫЙ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ

Д.П. Чернюк¹, И.Б. Безпрозванный^{1,2}

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербург; ²Юго-Западный медицинский центр Университета штата Техас, Даллас, США

Нарушение памяти является главным симптомом болезни Альцгеймера (БА), при этом заболевании наблюдается массивная потеря синаптических контактов. В ряде работ мы показали, что в различных моделях БА причиной синаптической потери является снижение постсинаптического пути нейронального депо-управляемого входа кальция (нДУВК) и уменьшение экспрессии Ca^{2+} сенсора – белка STIM2. Литературные источники указывают на то, что животная модель БА APPSENdE9 обладает тремя видами токсичности – амилоидной (мутация APP^{swe}), пресенилиновой (PSEN1dE9) и таупатией. Существуют данные, что в мышечных моделях APPSENdE9 к уменьшению физиологических нарушений приводит использование модулятора TRPC6 (одного из участников нДУВК), производного гиперфорина. Эти исследования доказывают наличие связи между функцией нейронального депо-управляемого входа кальция и проявлений амилоидной и тау-токсичностей. Таким образом, можно сделать предположение, что при помощи нДУВК-направленной фармакологической терапии можно добиться результатов значительного сокращения физиологических признаков проявления болезни Альцгеймера, и если не остановить, то значительно замедлить патогенез данного нейродегенеративного заболевания. Целью настоящей работы являлось изучить влияние наличия тау-токсичности на кальциевый гомеостаз в нейронах гиппокампа и возможности коррекции этого влияния при помощи соединения-модулятора нДУВК. В ходе выполнения работы было выявлено, что в первичной культуре гиппокампа при гиперэкспрессии мутантной формы Тау-белка (P301L/V337M) происходит снижение экспрессии одного из главных участников нДУВК – белка STIM2. Было обнаружено, что мутантная форма Тау-белка приводит к повышению уровня нДУВК-зависимого входа кальция в нейроны гиппокампа, чего не наблюдается при гиперэкспрессии нативной формы Тау или в здоровых нейронах. Добавление модулятора нДУВК (соединения 51164) нормализует уровень кальциевого входа, при этом не влияя на здоровые нейроны или нейроны с гиперэкспрессией нативной формы Тау. Таким образом предварительные результаты свидетельствуют о том, что таупатия оказывает влияние на нарушение кальциевого гомеостаза в гиппокампальных нейронах и оно может быть скорректировано при помощи соединений-модуляторов нДУВК. *Работа поддержана грантом РФФИ № 20-315-90010.*

ИЗУЧЕНИЕ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ЗОНЫ ДОРЗАЛЬНОГО ГИППОКАМПА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.А. Шевандова, Л.Е. Сорокина, В.И. Петренко, А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия

В связи с неизбежным ростом нейродегенеративных патологий становятся актуальными оптогенетические исследования и применения их разработок в терапии многих заболеваний, сопровождающихся когнитивными нарушениями.

Цель исследования: изучить влияние длительной оптогенетической стимуляции зоны дорзального гиппокампа на модуляцию нейропластичности.

Исследование проведено на 20 трансгенных мышах линии Ai27 (RCL-hChR2 (H134R/tdT)–D, которых разделили на 2 группы: экспериментальная группа ($n=10$) – животные, подвергающиеся оптогенетической стимуляции и группа контроля ($n=10$). С использованием современных технологий стереотаксического внедрения животным экспериментальной группы был вживлен нейроинтерфейс в область дорзального гиппокампа. Стимуляция производилась в импульсном режиме свечения синим светом длиной волны 470 нм в режиме «on-off», на протяжении 8 недель по 21 мин/день. Для фиксации результатов проведенного исследования применяли общеморфологические методы, иммуноферментный анализ и когнитивные тесты. Статистический анализ полученных данных выполнялся в программе Statistica 10.

Итоги проделанной работы выявили ряд отличий в группах животных и подтвердили эффективность оптогенетической стимуляции. Объективным подтверждением улучшения нейропластичности является увеличение скорости прохождения теста Барнс по сравнению с контрольной группой на 22% ($p<0,01$) и сокращением длины трека на 28% ($p<0,01$). Световая микроскопия и морфометрия выявили увеличение плотности дорзального гиппокампа – $58,79\pm 3,67$ кл. по сравнению с группой контроля – $46,99\pm 3,22$ кл. на $10\ 000$ мкм². Данные электронной микроскопии свидетельствуют об увеличении количества миелинизированных отростков в теменной и височной доле в проекции зоны стимуляции – 21 и 22,67 в поле зрения соответственно.

Оптогенетическая стимуляция зоны дорзального гиппокампа способствует активации пластичности мозга и синапсообразованию. В ходе работы был разработан оптимальный режим и способ оптогенетической стимуляции головного мозга, который в дальнейшем способен расширить возможности терапии пациентов с когнитивными расстройствами различного генеза.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания No FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

НЕЙРОХИМИЯ. СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ

МИОНЕВРАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА В ОТСУТСТВИИ КАЛЬЦИЯ ВО ВНЕКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЕ

С.Н. Гришин

Казанский государственный медицинский университет, Казань

Мы исследовали мионевральную передачу в условиях замены Ca^{2+} на ионы других металлов щелочноземельной группы. Как известно, кальциевые ионные каналы во всех случаях пропускают также Ba^{2+} и Sr^{2+} , однако не пропускают одновалентные катионы. Проникающие через канал ионы поэтапно связываются внутри канала со специальными связывающими сайтами. В результате некоторые поливалентные ионы превращаются из проникающих в блокирующие. На этом принципе происходит блокирование кальциевых токов Cd^{2+} , Mn^{2+} и другими. В собственных экспериментальных исследованиях мы подтвердили авторитетное мнение о принципиальной возможности инициированной ионами барьера нервно-мышечной передачи, пусть и при выполнении весьма специфического условия. Что характерно, Sr^{2+} в заместительной роли ионов кальция оказался много перспективней, чем Ba^{2+} . Выделение медиатора, однако, нивелируется при замещении в среде Ca^{2+} другими металлами щелочноземельной группы химических элементов – Mg^{2+} и Be^{2+} . Также очень важно исследовать в этих условиях действие самых эффективных модуляторов синаптической передачи – пуринов. Известно, что синаптические эффекты АТФ тесно связаны с кальциевыми каналами. Так, в нервно-мышечном синапсе лягушки часть пресинаптического ингибиторного действия этого пурина на величину квантового состава осуществляется посредством подавления активности L-типа потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов нервной терминали. Оправданно при этом было бы ждать перемен в модуляционных эффектах АТФ при смене ионного носителя тока через эти каналы. И, действительно, эффект АТФ ускорения восстановления инактивированной кальциевой проводимости проявился лишь в том случае, когда носителем тока был Ca^{2+} , но не Ba^{2+} . Метаболит АТФ – аденозин также значительно меняет выраженность своей модуляции синаптической передачи в барьерных растворах. Вряд ли описанное можно пытаться аппроксимировать и на центральные синапсы. Однако и для них эквивалентная замена Ca^{2+} на другие двухвалентные катионы – пусть в чем-то незамысловатый, но несомненно высокоэффективный инструмент в ходе научных исследований синаптической передачи. *Поддержано грантом РФФИ.*

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА И ЕГО ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ *PARAMECIUM CAUDATUM*

Г.А. Груздев¹, О.В. Карпухина², А.Н. Иноземцев², А.А. Каменский¹

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, ¹Кафедра физиологии человека и животных и ²Кафедра высшей нервной деятельности, Москва

Paramecium caudatum принадлежит как к клеточному, так и к организменному уровню организации. Это дает возможность изучать молекулярные механизмы действия фармакологических препаратов. На мембране *Paramecium caudatum* расположены рецепторы для большинства медиаторов, сходных по структуре и функциям с рецепторами высших животных. Медиаторы, высвобождаемые в окружающую среду, позволяют организмам взаимодействовать внутри колонии – модель, хорошо зарекомендовала себя в токсикологических исследованиях. Однако работы по доклиническим испытаниям фармацевтических препаратов на этом организме очень мало и требуют большого внимания.

Целью нашей работы было продемонстрировать возможность изучения фармакологических препаратов с использованием парамеций, на примере адреналина и его предшественников. Работа выполнена на чистой колонии *Paramecium caudatum*. Животных содержали в условиях при температуре 24 градуса при pH = 6,8-7,2. Плотность популяции исходного раствора поддерживалась на уровне 600 клеток / мл. В каждой серии использованы разные концентрации вводимых веществ. В работе использовали следующие вещества: тирозин, допа, дофамин и адреналин в форме раствора для инъекций. Для анализа движения полученных видеозаписей использовался плагин ImageJ (Fiji) «Track Mate». В результате исследования было выявлено, что при введении адреналина в окружающую среду в рассматриваемых концентрациях наблюдается снижение скорости движения Инфузорий и количества активных клеток, что свидетельствует о влиянии препарата на адренорецепторы. При введении дофамина в высоких и средних концентрациях не было изменений скорости относительно контрольных значений. Этот эффект объясняется отсутствием на мембране дофаминовых рецепторов. Снижение скорости под действием допы можно объяснить более высокой проницаемостью мембраны для этого вещества по сравнению с дофамином. Тирозин снижает активность клеток сильнее, чем допа, этот эффект можно объяснить тем, что эта молекула быстро проникает в клетку, из которой впоследствии синтезируется адреналин. *Paramecium caudatum* реагирует на сигнальные молекулы. Гипотеза об отсутствии дофаминовых рецепторов на мембране подтвердилась. Показана возможность использования этого модельного объекта в нейрофармакологии.

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ОДНОСТОРОННЕЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ДЕНЕРВАЦИИ НА ПУРИНЕРГИЧЕСКУЮ СИГНАЛИЗАЦИЮ В ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ СИНАПСЕ

А.Е. Хайруллин, Д.В. Ефимова, А.У. Зиганшин

Казанский государственный медицинский университет, Казань

Травмы, оперативные вмешательства и ряд других причин могут приводить к нарушению иннервации конечностей, что в последствии ведет за собой стойкое нарушение функций мышц и постепенные морфологические изменения, проявляющиеся в виде рубцовых перерождений мышечных волокон с утратой способности к сокращению. Известно, что после механического повреждения тканей из них во внеклеточное пространство высвобождается АТФ. Свои эффекты, например, в виде модуляции синаптической передачи, она способна оказывать через лиганд-управляемые каналы – ионотропные P2X-рецепторы и метаболитные P2Y-рецепторы. В настоящее время установлено, что молекула АТФ может активно регулировать эффективность

нервно-мышечной передачи, регулируя квантовый и неквантовый выброс ацетилхолина. Кроме того, АТФ, влияя на определенные подтипы P2-рецепторов, может частично усугублять нейрональное повреждение, вызванное травмой или нарушением обмена веществ, при этом одновременно, влияя на другие P2-рецепторы, может выступать в качестве активатора нейропротективных процессов. Цель настоящего исследования – оценить эффект АТФ на камбаловидную мышцу крысы в норме и после травматической денервации. Показано, что семидневная денервация привела к увеличению силы сокращения мышцы. Апликация АТФ (100 мМ) усиливает сокращения интактной камбаловидной мышцы, вызванные электрической стимуляцией, но не денервированной. На фоне неселективного антагониста P2-рецепторов сурамина (100 мМ) прекращалось действие АТФ как на интактной, так и на денервированной мышцах. Снижение модулирующей способности АТФ на денервированных мышцах, по всей видимости, вызвано снижением количества P2-рецепторов на нервной терминали, возникающем в результате нарушения anterogradного транспорта и проводящей способности нервного волокна.

ВОВЛЕЧЕНИЕ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В АДАПТАЦИЮ ЛОКОМОТОРНЫХ «БЫСТРОЙ» И «МЕДЛЕННОЙ» МЫШЦ МЫШИ В УСЛОВИЯХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ

А.Е. Хайруллин, А.Ю. Теплов, С.Н. Гришин, А.У. Зиганшин

Казанский государственный медицинский университет, Казань

Изучение механизмов динамики сократительной функции мышечной системы в условиях аллергической перестройки всегда актуально. В частности, как известно, обязательная вакцинация спортсменов перед соревнованиями приводит к изменению функции локомоторных мышц. В этом отмечалось участие постсинаптических пуринергических механизмов. В наших экспериментах «быстрая» мышца (m.EDL) в условиях электростимуляции снижала силу своего сокращения при белковой сенсibilизации (БС). Если у несенсибилизированной мыши она была 569 ± 16 мг, то в опытной серии – 524 ± 19 мг ($p < 0,05$) ($n=10-14$ во всех сериях). Инкубация m.EDL с АТФ в концентрации 100 мМ повышала силу сокращения унесенсибилизированных мышцей до 656 ± 18 мг, то есть на 21% ($p < 0,05$), а у сенсибилизированных животных – до 769 ± 17 мг, то есть на 73% ($p < 0,05$). Более выраженное увеличение силы сокращения локомоторной мышцы у второй группы животных (20% против 73%; $p < 0,05$) свидетельствует об участии пуринергических механизмов пресинаптических образований в процессах адаптации. «Медленная» мышца (m.soleus) в условиях электростимуляции увеличивала силу своего сокращения при БС. Если у несенсибилизированной мыши она была 306 ± 88 мг, то в опытной серии – 683 ± 126 мг ($p < 0,05$). Влияние экзогенной АТФ на силу сокращения m.soleus в обеих группах животных не носило статистически достоверного характера. Мы предполагаем, что в m.EDL сенсibilизация включает пуринергические механизмы адаптации лишь в пресинаптической мембране. В противоположность, у m.soleus в сходных структурах эти механизмы не участвуют. «Быстрая» мышца в условиях электростимуляции незначительно снижала силу своего сокращения, что обеспечивается механизмами пресинаптической мембраной. «Медленная» мышца, напротив, в условиях электростимуляции существенно увеличивает силу своего сокращения. Но адаптация в данном случае реализуется за счет работы постсинаптической мембраны. На пресинаптической мембране АТФ зависимые механизмы адаптации в этих условиях не участвуют. Полученные в ходе электростимуляции данные дополняют общую схему изменений синаптических структур двигательных мышц, что обеспечивает при аллергической перестройке организма адекватную адаптацию через пуринергические механизмы.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ КЛЕТКИ. РЕЦЕПТОРЫ, ИОННЫЕ КАНАЛЫ И СИГНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ

ЗНАЧЕНИЕ НАТРИЙ-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕННИКА В РЕГУЛЯЦИИ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ И ФАРМАКОЛОГИИ NMDA РЕЦЕПТОРОВ

С.М. Антонов, Д.А. Сибаров

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

Фундаментальным свойством лиганд-управляемых ионотропных ионных каналов является их десенситизация. Для многих из них, включая рецепторы глутамата NMDA типа, а также управляемых потенциалом ионных каналов, характерна Ca^{2+} -зависимая десенситизация. Она связана с тем, что ионы Ca^{2+} , входящие в цитоплазму через открытые каналы, связываются кальмодулином, который в такой форме взаимодействует с внутриклеточным C-концевым доменом GluN1 субъединиц NMDA рецепторов, разобщая его связь с алфа-актином (цитоскелетом), и провоцирует переход рецептора в закрытое состояние. Поскольку Ca^{2+} -зависимая десенситизация проявляется в ингибировании интегральных токов, переносимых NMDA рецепторами и способных вызывать нейротоксический эффект, возникает вопрос: «Имеется ли возможность регуляции этого физиологического процесса с целью терапии нейротоксических состояний?». Недавно мы обнаружили, что Li^+ , хотя сам по себе не способен изменять параметры токов одиночных каналов NMDA рецепторов, вызывает трехкратное падение токов через NMDA рецепторы и Ca^{2+} -ответов нейронов. Ингибитор Na/Ca-обменника KB-R7943 также вызывает значительное падение амплитуды токов и Ca^{2+} -ответов, активируемых NMDA в нейронах. Благодаря ингибированию Na/Ca-обменника Li^+ и KB-R7943 удалось вскрыть обменника роль в регуляции концентрации примембранного Ca^{2+} и, тем самым, Ca^{2+} -зависимой десенситизации NMDA рецепторов. В принципе подобное влияние может происходить только при тесном функциональном взаимодействии NMDA рецепторов и молекул Na/Ca-обменника, которое требует их ко-локализации в мембранных микродоменах или «плотиках», богатых холестерином. Следует подчеркнуть, что этот механизм может являться мишенью фармакологической регуляции в плане противодействия нейротоксическим эффектам глутамата и гомоцистеина. Действительно оказалось, что

ингибирующее действие трициклического антидепрессанта amitриптилина на NMDA рецепторы является Ca^{2+} -зависимым (Stepanenko et al., Sci. Rep., 2019), что, по-видимому, является следствием провоцирования их Ca^{2+} -зависимой десенситизации. Таким образом нами открыт новый фармакологический механизм воздействия на NMDA рецепторы – усиление их Ca^{2+} -зависимой десенситизации через влияние на активность Na/Ca-обменника. *Поддержано РФФ грант № 21-15-00403.*

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АНТИКОНВУЛЬСАНТОВ НА КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫЕ И КАЛЬЦИЙ-НЕПРОНИЦАЕМЫЕ AMPA РЕЦЕПТОРЫ

А.С. Жигулин, М.Ю. Дронь, О.И. Барыгин

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

Противосудорожные препараты действуют на различные мишени в организме, одной из которых являются ионотропные глутаматные рецепторы. Интерес к этой группе антиконвульсантов вырос после недавнего введения в клиническую практику перампанела – неконкурентного аллостерического антагониста AMPA рецепторов. Мы осуществили скрининг широкого спектра антиконвульсантов на активность по отношению к кальций-проницаемым и кальций-непроницаемым AMPA рецепторам, а также исследовали молекулярные механизмы действия соединений. Эксперименты проводились на изолированных нейронах мозга крыс линии Вистар с помощью метода фиксации потенциала в конфигурации «целая клетка». Действие лигандов на кальций-непроницаемые AMPA рецепторы изучалось на пирамидных нейронах зоны CA1 гиппокампа, а на кальций-проницаемые AMPA рецепторы – на гигантских холинергических интернейронах стриатума. Мы впервые показали, что перампанел одинаково эффективно ингибирует кальций-проницаемые и кальций-непроницаемые AMPA рецепторы (ИК50 около 60 нМ). Ламотриджин, карбамазепин, леветирацетам, фелбамат, топирамат, габапентин, тиагабин, вигабатрин, примидон и этосуксимид не оказывали сильного действия на AMPA рецепторы (ИК50 > 300 мкМ). Напротив, фенитоин ингибирал оба основных подтипа AMPA рецепторов, будучи более активным по отношению к кальций-непроницаемым AMPA рецепторам (ИК50 = 30±4 мкМ), по сравнению с кальций-проницаемыми (ИК50 = 250±60 мкМ). Эффективность ингибирования фенитоином снижалась при увеличении концентрации агониста, т.е. действие было конкурентноподобным. Фенитоин эффективнее ингибирал открытые каналы по сравнению с закрытыми, и был способен оставаться в каналах после закрытия (эффект ловушки), что нехарактерно для классических конкурентных антагонистов. Основной мишенью для фенитоина в организме считаются потенциал-управляемые натриевые каналы. Сродство фенитоина к натриевым каналам оценивается как 7–21 мкМ, что сопоставимо с ИК50 для фенитоина по отношению к кальций-непроницаемым AMPA рецепторам. Таким образом, мы впервые показали, что ингибирование AMPA рецепторов фенитоином может вносить вклад в его противосудорожное действие. Это отличает фенитоин от других антиконвульсантов, основной мишенью для которых являются потенциал-управляемые натриевые каналы.

ЖИР ТЯНЕТ ГЛЮКОЗУ В АДИПОЦИТЫ: РАЗМЕР ИМЕЕТ ЗНАЧЕНИЕ

А.В. Воротников¹, Н.В. Подкуйченко¹, С.С. Мичурнина¹, Ю.С. Стафеев¹, Е.В. Парфенова¹, М.В. Шестакова²

¹НИИ экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²НМИЦ эндокринологии МЗ РФ, Москва

Метаболизм адипоцитов целиком зависит от использования глюкозы в качестве донора энергии, субстрата и восстановительных эквивалентов для синтеза жирных кислот (ЖК), и как источника глицерол-3-фосфата как создания триацилглицеридов (ТАГ), формирующих жировой запас. Адипоцит непрерывно обменивает ТАГ путем липолиза/липогенеза, включая поступающие извне ЖК и освобождая глицерол наружу. Количество ТАГ в адипоците определяется балансом активностей липолиза и липогенеза и, за отсутствием глицерол-3-киназы, поступлением глюкозы извне. Мы исследовали, как скорость и количество поступающей в адипоциты глюкозы зависит от объема и степени заполнения жировых депо. (1) Повышение степени заполнения жировых депо под действием инсулина или розиглитазона, и/или длительного культивирования в присутствии высокой глюкозы, и/или при обработке ЖК (пальмитатом), приводило к повышению уровня ТАГ и пропорциональному усилению захвата глюкозы адипоцитами. В дифференцированных клетках этот эффект был связан с увеличением числа транспортеров Глут-1 на плазматической мембране, но не с повышением уровня их экспрессии. (2) Инсулин дополнительно стимулировал захват глюкозы адипоцитами по механизму, включающему активацию Р13-киназного каскада и транслокацию Глут-4 на клеточную мембрану. Однако активирующее действие инсулина на свой сигнальный каскад и захват глюкозы снижалось по мере заполнения жировых депо и возрастания уровня ТАГ. (3) В условиях экспериментальной гиперлипидемии пальмитат дозо- и время-зависимо отключал инсулиновый каскад и выход Глут-4 на мембрану, но усиливал выход Глут-1 и базальный транспорт глюкозы в адипоциты. Молекулярные механизмы реципрокного действия пальмитата разбираются в контексте пассивного (pull) и активного (push) механизмов захвата глюкозы. В целом, полученные результаты указывают на адаптивный характер резистентности к инсулину в адипоцитах при гиперлипидемии и ожирении, и вторичный характер системных нарушений углеводного обмена при диабете 2 типа. Усиление глюконеогенеза в печени и повышение уровня глюкозы в крови могут быть первой естественной реакцией организма на ожирение. *Работа поддержана РФФ (17-15-01435) и РФФИ (20-015-00471а).*

КИСЛОТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ С ПОМОЩЬЮ РАЗНООБРАЗНЫХ ЛИГАНДОВ

С.А. Козлов

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

Кислоточувствительные ионные каналы (ASIC) являются одними из наиболее чувствительных молекулярных сенсоров внеклеточных изменений pH у млекопитающих. Шесть изоформ этих каналов широко представлены в мембранах нейрональных и ненейрональных клеток, где эти молекулы участвуют в различных важных регуляторных функциях. Особый интерес к изучению этих каналов и поиск селективных лигандов к ним обусловлен, в немалой степени, доказанной вовлеченностью этих

ионных каналов в процессы синаптической пластичности, обучения и ноцицепции, а также в развитие патологических состояний, например, при ишемическом инсульте. До сих пор этот тип ионных каналов остается недостаточно изученным, несмотря на активно проводимые электрофизиологические исследования различных изоформ и ортологов, а также структурные исследования с использованием мутагенеза и рентгеноструктурного анализа. ASIC –ориентированные лиганды служат незаменимыми инструментами для этих исследований. Уже сейчас известны и активно используются экзогенные биологически активные соединения, и получены данные о целом ряде эндогенных модуляторов ASIC. Прямая непротонная активация каналов некоторыми эндогенными лигандами позволила усомниться в изначальной ориентации этих каналов на распознавание внеклеточного закисления, и это делает этот тип ионных каналов еще более загадочным и интересным для изучения.

МОНИТОРИНГ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ СЕНСОРОВ

П.Д. Котова

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Одним из стремительно развивающихся направлений в области клеточных исследований является использование генетически кодируемых сенсоров различных внутриклеточных молекул. Работа с такими сенсорами сопряжена с некоторыми сложностями, однако открывает возможности, не доступные при использовании синтетических зондов.

Так, мониторинг cAMP внутри живой клетки стал возможен только с появлением генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров, в то время как синтетических флуоресцентных cAMP-зондов на сегодняшний день не разработано, а метод радиоиммунного анализа позволяет измерять концентрацию cAMP лишь в лизате клеток. Первые генетически кодируемые сенсоры cAMP работали на основе FRET и позволяли проводить ратиометрический мониторинг внутриклеточного cAMP в динамике, однако методика измерения FRET сложна и требует специализированного оборудования для регистрации эмиссии флуоресценции на двух длинах волн поочередно. Однако недавно были разработаны одноволновые генетически кодируемые сенсоры cAMP семейства Flamingo, сделавшие мониторинг этой молекулы более доступным. В нашей лаборатории сенсор cAMP Pink Flamingo используется совместно с сенсором Ca²⁺ GEM-GECO для одновременного мониторинга обоих этих вторичных посредников.

Основным преимуществом генетически кодируемых сенсоров над аналогичными синтетическими зондами является возможность их экспрессии в определенных органеллах, которая достигается благодаря внесению в молекулу сигнальной последовательности, направляющей синтезированный белок в целевые органеллы. Например, обмен Ca²⁺ между цитозолем и эндоплазматическим ретикуломом имеет ключевое значение для физиологии клеток, и для его исследования использовали синтетические зонды с различной аффинностью к Ca²⁺ в совокупности с пермеабиллизацией плазматической мембраны клеток, однако такая методика весьма трудоемка и малоэффективна. В последние годы были разработаны генетически кодируемые Ca²⁺-индикаторы, позволяющие проводить мониторинг Ca²⁺ в различных компартментах клетки. В нашей лаборатории была получена моноклональная линия клеток НЕК 293, позволяющая проводить одновременный мониторинг Ca²⁺ в цитоплазме и ретикулеуме клеток, за счет экспрессии в них сенсоров цитоплазматического (GEM-GECO1) и ретикулярного Ca²⁺ (RCER1A1er). *Работа поддержана грантом МК-67.2021.1.4.*

ГЕНЕРАЦИЯ ТЕРМОГЕННЫХ АДИПОЦИТОВ ПУТЕМ CRISPR-ОПОСРЕДОВАННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

С.С. Мичурина^{1,2}, Ю.С. Стафеев¹, В.А. Труонг³, Е.Д. Мамонтова^{1,2}, Е.К. Шевченко¹, Д.Н. Пеньков¹, Е.И. Ратнер¹, М.Ю. Меньшиков¹, Ю.Ч. Ху³, Е.В. Парфенова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва; ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ³Национальный университет Цинь Хуа, Синчжу, Тайвань

Ожирение является фактором риска развития метаболических заболеваний, характеризующееся нарушением баланса между поступлением и расходом энергии. Активация термогенеза в адипоцитах является эффективным способом утилизации избыточных энергетических субстратов, что подтверждается снижением веса и нормализацией гликемии *in vivo*. Используя систему регуляции экспрессии генов CRISPRa, мы исследовали возможность получения термогенных адипоцитов путем одновременной активации экспрессии разобщающего белка митохондрий UCP1 и подавления экспрессии Fsp27, ответственного за слияние и накопление липидных капель. Мы создали систему CRISPR-aUCP1-iFsp27, содержащую dCas9, комплексы для активации и ингибирования транскрипции, гидовые РНК, специфичные к промоторам UCP-1 и Fsp27. Доставку CRISPR-aUCP1-iFsp27 в клетки 3T3-L1 осуществляли с помощью бакуловирусной трансдукции. Клетки 3T3-L1 дифференцировали в белые или бежевые адипоциты. Эффективность адипогенеза оценивали с помощью морфологического анализа, иммуноблоттинга и ПЦР в реальном времени, поглощение глюкозы измеряли по захвату 3H-2-дезоксиглюкозы (3H-2ДГ). Мы показали, что CRISPR-aUCP1-iFsp27 увеличивает экспрессию UCP1 и снижает Fsp27 в белых адипоцитах более эффективно, чем классические термогенные индукторы (изопротеренол и трийодтиронин). CRISPR-aUCP1-iFsp27 активировал захват 3H-2ДГ и подавляет образование липидных капель в зрелых адипоцитах. Экспрессия ферментов метаболизма глюкозы (транспортер глюкозы 4 типа, пируваткарбоксилаза) и липидов (гормон-чувствительная липаза и триглицеридлипаза) повышена в модифицированных клетках. Кроме того, регуляция экспрессии UCP1 и Fsp27 по-отдельности оказывает менее выраженное влияние. Система CRISPRa для активации UCP1 и ингибирования Fsp27 предотвращает накопление липидов и усиливает утилизацию глюкозы. Мы предполагаем, что подавление Fsp27 увеличивает высвобождение и окисление жирных кислот, что необходимо для обеспечения UCP1 энергией для термогенеза. Кроме того, активация разобщения дыхания в адипоцитах стимулирует поглощение глюкозы, необходимое для восполнения энергетических запасов. Высокая эффективность системы CRISPRa для активации термогенеза, свидетельствует о перспективности данного подхода к регуляции метаболизма. *Работа поддержана грантом РФФИ #20-45-08003.*

РОЛЬ ПАННЕКСИНОВЫХ КАНАЛОВ И УРОВНЯ АТФ В РЕГУЛЯЦИИ СИГНАЛЛИНГА ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

К.А. Зарипова, С.П. Белова, Е.П. Мочалова, Б.С. Шенкман, Т.Л. Немировская

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Изменения внутриклеточных сигнальных путей происходят в первые дни и часы функциональной разгрузки мышц. Отмечается накопление макроэргических фосфатов и ионов Ca^{2+} в мышечных волокнах. Внеклеточный АТФ – основной аутокринно-паракринный медиатор для клеточной сигнализации (Lazarowski ER и др., 2003). Мы предположили, что АТФ может стимулировать запуск внутриклеточных сигнальных путей и атрофических процессов при разгрузке мышц. Цель работы – выявить пути передачи и действия этих стимулов. Механизм процесса может быть таким: при функциональной разгрузке АТФ из мышцы через паннексиновые каналы (PnX1) может выходить во внеклеточное пространство. Нуклеотиды затем могут взаимодействовать с каналами P2Y, которые в свою очередь активируют IP3-киназу гамма и, в конечном итоге, IP3 рецепторы, находящиеся в ядре и саркоплазматическом ретикулуме. Активация IP3 рецепторов может вызывать слабый сигнал высвобождения кальция, как цитозольный, так и нуклеоплазматический, способствующий активации транскрипционных факторов, что приводит к экспрессии или репрессии генов, участвующих в фенотипе мышц. Мы проверили гипотезу, применив в модели вывешивания крыс ингибирование PnX1 пробенецидом. 24 самца крыс Wistar (180-220 г) распределены на 3 группы (по 8 крыс): С – контроль, 3Н – 3-суточное вывешивание с введением placebo, 3Р – 3-суточное вывешивание с введением пробенецида (50 мг/кг в сутки перорально). Обнаружено повышение (на 32%, $p < 0,05$) уровня АТФ в *m. soleus* крыс гр.Н (относительно группы С). В *m. soleus* гр.3Р количество АТФ в ней увеличивается ещё на 19% (относительно гр. 3Н). В гр. 3Р: 1. снижена активность катаболических сигнальных путей (т.к. экспрессия мРНК Е3-лигаз MuRF1 и атрогена-1 в этих группах существенно ниже (на 50% и 38% соответственно), содержание p-GSK3 β на 189% выше, чем в группе 3Н, а повышение уровня p-eEF2 (подавляющего элонгацию) предотвращено; 2. высокий уровень (на 51 и 35% соответственно выше чем в группе чистого вывешивания) p-p70S6k и p-p90RSK – маркёров, поддерживающих анаболические процессы в мышце. Вывод: впервые обнаружено, что в скелетной мышце АТФ-зависимый транспорт (через паннексиновые каналы) принимает участие в регуляции экспрессии Е3-лигаз, а также процессов трансляции и элонгации при функциональной разгрузке мышц. Грант РФФИ №20-015-00138.

ВЛИЯНИЕ ТРЕХДНЕВНОГО СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ОПОРНОЙ АФФЕРЕНТАЦИИ НА ФУНКЦИИ И СОДЕРЖАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА

Д.В. Попов¹, Е.С. Мотанова¹, В.Г. Згода², Р.О. Боков¹, Т.Ф. Вепхвадзе¹, Е.М. Леднев¹, П.А. Махновский¹, О.И. Орлов¹, Е.С. Томиловская¹

¹ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН; ²НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва

Длительное снижение уровня двигательной активности негативно влияет на функциональные характеристики скелетных мышц, в том числе на митохондриальную плотность, окислительные возможности, аэробную работоспособность и инсулиновую чувствительность. Однако до сих пор не известно, как быстро происходят эти изменения. Цель исследования – оценить влияние трехсуточной «сухой» иммерсии на максимальную скорость дыхания митохондрий в *m. soleus* (основной позной скелетной мышце). Шесть женщин репродуктивного возраста (25-40 лет) в течение 3 суток находились в «сухой» иммерсии. Пробы ткани из *m. soleus* были взяты до и после пребывания в иммерсии. Скорость дыхания митохондрий в пермеабильзированных мышечных волокнах оценивали на полярографе, изменение содержания множества высокопредставленных мышечных белков (в том числе митохондриальных белков) – с помощью количественного (с использованием изобарических меток) протеомного масс-спектрометрического анализа. Пребывание в «сухой» иммерсии привело к снижению скорости АДФ-независимого и АДФ-стимулированного дыхания на 25-30%, а также к снижению максимальной скорости окисления на 25-30%, что ассоциировано со снижением содержания некоторых белков, входящих в состав дыхательных комплексов. Таким образом, показано, что уже три дня снижения сократительной активности происходит падение функциональных возможностей митохондрий в *m. soleus*, связанное со снижением содержания белков, входящих в состав митохондриальных ферментов. Такое быстрое снижение, по-видимому, связано с исходно высокими окислительными возможностями и содержанием волокон I типа в этой мышце. Поддержано Минобрнауки России, Соглашение № 075-1502020-919 от 16.11.2020 г.

ЖЕЛУДОЧКИ МОЗГА КАК РЕЗЕРВУАР ДЛЯ ХИМИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ РЕГУЛЯЦИЮ РАЗВИТИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕЙРОНОВ МОЗГА

Т.С. Пронина, Л.К. Дильмухаметова, Н.С. Бондаренко, К.И. Чандрян, А.Р. Муртазина, М.В. Угрюмов

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

Познание клеточных и молекулярных механизмов регуляции развития и функционирования мозга химическими сигналами в онтогенезе является фундаментальной проблемой нейронаук. Особое значение такая регуляция имеет в перинатальном периоде развития, когда химические сигналы нейронального происхождения оказывают аутокринное и паракринное морфогенетическое влияние на дифференцировку нейронов-мишеней и развитие мозга. Согласно нашей гипотезе, желудочковая система мозга является резервуаром и транспортной системой множества химических сигналов нейронального происхождения, которые поступают в ликвор из мозга и далее переносятся с током ликвора в отделы мозга-мишени. Диффундируя из ликвора в нервную ткань мозга, химические сигналы потенциально способны оказывать нейромодуляторное влияние на нейроны-мишени у взрослых млекопитающих (“volume neurotransmission”) и морфогенетическое влияние на развивающиеся нейроны в перинатальном периоде онтогенеза. Для проверки нашей гипотезы, в качестве химических сигналов, играющих роль морфогенетических факторов в перинатальном периоде и нейромодуляторов у взрослых млекопитающих, были выбраны норадреналин, дофамин и серотонин. Показано, что у крыс эти моноамины начинают поступать в ликвор еще в пренатальном периоде. Действительно, крайне низкий уровень моноаминов в ликворе был зарегистрирован уже на 18-й эмбриональный день. На 5-й

постнатальный день уровень моноаминов в ликворе существенно увеличивается, а на 30-ый день возрастает в 20 раз. Кроме того, нами были получены доказательства того, что в раннем постнатальном периоде и у взрослых крыс поступление химических сигналов из мозга в ликвор контролируется содержащимися в ликворе Ca^{2+} и K^{+} – ионами, играющими ключевую роль в экзоцитозе везикул, содержащих моноамины. Так, повышение содержания K^{+} в ликворе сопровождалось усилением поступления моноаминов из мозга в ликвор, а дефицит Ca^{2+} в ликворе приводил к снижению поступления моноаминов из нервной ткани в ликвор.

Таким образом, были получены доказательства того, что на всех этапах развития мозга в ликвор поступают моноамины, которые могут с ликвором транспортироваться в отделы мозга-мишени, оказывая на нейроны мозга нейромодуляторное влияние у взрослых животных и морфогенетическое влияние в перинатальном периоде. *Поддержан РФФ 20-14-00325.*

ГОМОЦИСТЕИН КАК АГОНИСТ И РЕДОКС МОДУЛЯТОР NMDA РЕЦЕПТОРОВ РАЗЛИЧНЫХ ПОДТИПОВ

Д.А. Сибаров, С.М. Антонов

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

Молекула гомоцистеина (НСУ) сочетает в себе фармакологические свойства агониста рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDAR), а также восстанавливающего агента, разрушающего дисульфидные связи, благодаря наличию тиоловой группы. В то время как активация гомоцистеином NMDAR как агонистом хорошо изучена, неясно, вносит ли редокс-модуляция дисульфидных связей вклад в его действие. Используя патч-кламп регистрацию трансмембранных токов и оценку изменений концентрации внутриклеточного Ca^{2+} при помощи флуоресцентного зонда, мы изучаем эффекты дитиотреитола (DTT), как агента, разрушающего дисульфидные связи, на трансмембранные токи NMDAR и Ca^{2+} ответы, активируемые НСУ. Работы выполнены на NMDAR нативно экспрессированных в нейронах коры головного мозга крыс и на рекомбинантных дигетеромерных NMDAR следующего субъединичного состава: GluN1/2A, GluN1/2B и GluN1/2C. В широком диапазоне концентраций гомоцистеина (1-800 мкМ) выявлена двухкомпонентная концентрационная зависимость активации гомоцистеином рекомбинантных NMDAR. Компонента с высоким сродством между 1 и 100 мкМ [НСУ] соответствует эффекту гомоцистеина как агониста NMDAR и не подвергается влиянию 1 мМ DTT, который изменяет тиоловый статус рецептора. Компонента с низким сродством, наблюдаемая при [НСУ] выше 200 мкМ, вероятно, возникла в результате тиол-зависимой редокс-модуляции NMDAR. Разрыв дисульфидных связей NMDAR либо 1 мМ DTT, либо 1 мМ НСУ уменьшал токи GluN1/2A, активируемые НСУ. Напротив, вызываемые НСУ токи GluN1/2B потенцировались из-за значительного ослабления десенситизации GluN1/2B рецепторов. Фактически, расщепление дисульфидных связей NMDAR в нейронах модулирует вызываемое НСУ накопление внутриклеточного Ca^{2+} , делая его зависимым от GluN2B-, а не от GluN2A-содержащих NMDAR. Таким образом, расчетные концентрации для окислительно-восстановительных эффектов НСУ превышают концентрации в плазме во время промежуточной гипергомоцистеинемии, но могут возникать во время тяжелой гипергомоцистеинемии. *Поддержано грантом РФФ 21-15-00403.*

НАРУШЕНИЯ ТЕРМОГЕНЕЗА И ПРОЦЕССОВ ОБНОВЛЕНИЯ АДИПОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Ю.С. Стафеев¹, С.С. Мичурина^{1,2}, Н.В. Подкуйченко^{1,2}, И.А. Скляник³, Е.А. Шестакова³, К.А. Яхъяев⁴, А.В. Юрасов^{2,4}, А.В. Воротников¹, М.Ю. Меньшиков¹, М.В. Шестакова³, Е.В. Парфёнова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²МГУ им. М.В. Ломоносова; ³НМИЦ эндокринологии МЗ РФ;

⁴ЦКБ № 1 ОАО «Российские железные дороги», Москва

Метаболические заболевания представляют собой одну из основных проблем современной медицины. Центральным участником формирования инсулиновой резистентности является жировая ткань, включающая в себя различные типы клеток, среди которых отдельно стоит выделить мезенхимные стромальные клетки жировой ткани (МСК ЖТ). МСК ЖТ содержат фракцию прогениторных клеток и участвуют в поддержании гомеостаза жировой ткани, обладая иммуномодулирующими свойствами. Наша работа была посвящена изучению роли белой и бежевой (термогенной) дифференцировок МСК ЖТ в формировании инсулиновой резистентности и СД2Т при ожирении. Работу проводили на МСК ЖТ подкожной жировой ткани, полученных в ходе бариатрических операций у пациентов с ожирением и наличием/отсутствием СД2Т. Изучение белой адипогенной дифференцировки продемонстрировало существенное снижение эффективности адипогенеза у пациентов с СД2Т, что контролировали по морфологии и экспрессии генов. Также было выявлено существенное снижение пролиферативного потенциала МСК ЖТ у пациентов с СД2Т. Нарушения пролиферации и дифференцировочного потенциала МСК ЖТ в направлении белых адипоцитов были ассоциированы с гипертрофией адипоцитов, увеличением уровня воспаления и смещением иммунотипа макрофагов жировой ткани в провоспалительном направлении, что было показано в нашей работе. Исследование бежевой адипогенной дифференцировки не продемонстрировало существенных морфологических изменений в бежевых адипоцитах, полученных из МСК ЖТ пациентов. Экспрессия панели мРНК, ассоциированных с ЭТЦ и липолизом/липогенезом также была на одинаковом уровне. Однако, экспрессия UCP-1 была существенно снижена при СД2Т, что может свидетельствовать о нарушении процесса разобщения дыхания/фосфорилирования и задержке электронов в ЭТЦ. Данный факт был подтвержден путем демонстрации повышения уровня митохондриальных АФК в бежевых адипоцитах пациентов с СД2Т. Полученные результаты позволяют рассматривать СД2Т как патологию прогениторной клетки, у которой нарушены пролиферация и дифференцировка в различных направлениях. Данная точка зрения позволяет по-новому взглянуть на перспективы терапевтического подхода, связанного с коррекцией адипогенной дифференцировки в направлении формирования бежевых термогенных адипоцитов. *Работа поддержана грантом РФФ №17-15-01435.*

СЕРИНОВЫЕ ПРОТЕАЗЫ – УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ АКТИН-УПРАВЛЯЕМЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ В КЛЕТКАХ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИИ ЧЕЛОВЕКА

Д.В. Лысыкова^{1,2}, В.Ю. Васильева¹, В.И. Чубинский-Надеждин¹, Е.А. Морачевская¹, Ю.А. Негуляев¹, А.В. Сударикова¹

¹Институт цитологии РАН; ²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

Хронический миелоидный лейкоз – злокачественное миелопролиферативное заболевание, характеризующееся малигнизацией гемопоэтических стволовых клеток. Изменения уровня активности ионных каналов в клеточной мембране могут модулировать передачу сигналов и физиологические функции гемопоэтических клеток, являясь значимым фактором злокачественной трансформации и прогрессирования лейкомии. Ранее в клетках миелоидной лейкомии человека были охарактеризованы амилорид-нечувствительные натриевые каналы ENaC, изучен внутриклеточный механизм их регуляции, связанный со сборкой/разборкой актинового цитоскелета, на основании которого они были названы «актин-управляемыми». Изучение внеклеточных механизмов регуляции ENaC может способствовать выявлению новых путей контроля роста опухолевых клеток крови. Данная работа направлена на исследование действия сериновых протеаз различной специфичности, известных внеклеточных активаторов каналов ENaC, на активность натриевых каналов в клетках миелоидной лейкомии K562. Эксперименты проводили с использованием регистрации одиночных каналов в режиме отведения токов от всей мембраны клеток (whole-cell). Была обнаружена активация натриевых каналов в клетках K562 при внеклеточном приложении сериновых протеаз трипсин (5 мкг/мл) и химотрипсин (5 мкг/мл). Каналы активировались через 2-3 мин после добавления протеазы и не блокировалась аналогом амилорида бензамиллом (50 мкМ). Эксперименты whole-cell с ингибитором трипсина SBTI подтвердили участие протеолитического расщепления при активации натриевых каналов. Сериновая протеаза плазмин (10 мкг/мл), которая содержится во внеклеточной жидкости и в плазме крови, при добавлении в наружный Na-содержащий раствор также вызывала активацию каналов с аналогичными характеристиками в клетках линии K562. Проводимость одиночных каналов, активированных всеми используемыми в работе протеазами, составляла около 15.5 пСм. Полученные функциональные характеристики каналов совпадали с характеристиками натриевых каналов, активируемых при разборке актинового цитоскелета. Таким образом, различные сериновые протеазы могут использоваться как универсальные внеклеточные регуляторы активности актин-управляемых натриевых каналов в трансформированных клетках крови. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 19-015-00211.*

ФИЗИОЛОГИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ ПРОТОН АКТИВИРУЕМЫХ КАНАЛОВ СЕМЕЙСТВА ASIC В ЦНС

Д.Б. Тихонов

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

Протон-активируемые ионные каналы семейства ASIC широко экспрессируются в центральной и периферической нервной системе. Первоначально предполагалось, что они участвуют главным образом в процессах ноцицепции, а также в хемо- и механо-чувствительности. Однако в последнее время появились надежные данные о вовлеченности ASIC в синаптическую передачу и синаптическую пластичность в глутаматергических синапсах ЦНС за счет транзистентного закисления синаптической щели кислым содержимым синаптических везикул. Соответственно, ASIC оказываются вовлечены и в большой ряд патологий ЦНС. Значительная часть новых данных получена с использованием избирательных фармакологических модуляторов ASIC, которые также являются перспективными для использования в медицинских целях. Тем не менее, конкретные физиологические механизмы влияния ASIC на функции ЦНС остаются в значительной степени неизвестными. В экспериментах *in vitro* вклад ASIC в синаптические токи не превосходит 10%. Кроме того, закисления, необходимые для активации ASIC, ингибируют ионотропные рецепторы глутамата. Возможным решением данного парадокса явилось бы существование эндогенных потенциаторов ASIC, позволяющих этим каналам активироваться при более слабых уровнях закисления. В докладе будут представлены новые данные об эндогенных потенциаторах ASIC1a каналов, действующих в физиологических концентрациях. *Работа поддержана грантом РФФИ 21-14-00280.*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

П.А. Тюрин-Кузьмин, К.Ю. Кулебякин, В.И. Чечехин, Н.И. Калинина

Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Метаболические болезни, связанные с нарушениями функционирования жировой ткани, приобрели характер пандемии. Такие болезни как сахарный диабет, метаболический синдром и сердечно-сосудистые заболевания являются одними из ведущих причин инвалидизации и потери трудоспособности людей. Ключевой причиной развития ожирения является нарушение процессов обновления жировой ткани, в основе которого лежит особый подтип стволовых клеток взрослого организма, мультипотентные стромальные клетки (МСК). МСК обеспечивают постоянное обновление жировой ткани, превращаясь в различные типы клеток жировой ткани, такие как белые адипоциты, бежевые адипоциты, регуляторные клетки. МСК проявляют функциональную гетерогенность, которая проявляется в различной чувствительности отдельных клеток к гормонам-регуляторам функционирования жировой ткани. В данной работе мы использовали методы анализа внутриклеточных сигнальных каскадов на уровне одиночных клеток для регистрации функциональной гетерогенности МСК. Кальциевую сигнализацию мы регистрировали при помощи кальциевого красителя Fluo8, цАМФ-зависимую сигнализацию мы наблюдали при помощи генетически-кодированного внутриклеточного биосенсора PKA-Spark. Мы обнаружили, что несмотря на то, что большинство клеток в популяции МСК несут на своей поверхности рецепторы ко множеству гормонов, на конкретный индивидуальный гормон способна отвечать лишь небольшая доля клеток в популяции. При этом, что крайне важно, группы клеток, воспринимающие определенный гормон, характеризуются определенной функцией, которую они выполняют в рамках функционирования целостной ткани. Мы показали функциональные субпопуляции МСК, в рамках которых клетки отвечают на действие гормона

единообразно и обладают сходным дифференцировочным потенциалом. При этом, как мы показали, различные функциональные субпопуляции паракринно взаимодействуют друг с другом, взаимно влияя на дифференцировочный потенциал. Таким образом, МСК проявляют функциональную гетерогенность, которая связана с дифференцировочным потенциалом отдельных клеток популяции МСК. *Работа поддержана грантом РФФ 21-15-00311.*

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК К НОРАДРЕНАЛИНУ В РЕГУЛЯЦИИ АДИПОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

В.И. Чечехин, А.М. Иванова, П.А. Тюрин-Кузьмин

Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Ожирение – одна из тяжелых медицинских проблем, сопровождающаяся нарушением обновления жировой ткани. Одними из ключевых регуляторов обновления жировой ткани являются серотонин и норадреналин. При этом серотонин вызывает гипертрофию белой жировой ткани и активирует дифференцировку преадипоцитов. А норадреналин действует противоположно, активируя липолиз и ингибируя дифференцировку преадипоцитов. Предшественниками адипоцитов являются мультипотентные стромальные клетки (МСК). МСК обнаруживаются в большинстве тканей и регулируют поддержание гомеостаза. Ранее мы показали феномен гетерологической сенситизации (ГС) – повышение экспрессии $\alpha 1A$ -АР через 6 часов после активации каскада β -АР/Gs-белок/аденилатциклаза/цАМФ. В данной работе мы изучали, как влияет серотонин и норадреналин на функциональную активность МСК и их способность дифференцироваться в адипоциты. Для изучения механизмов влияния данных гормонов на МСК мы выяснили, каким образом эти гормоны влияют на чувствительность к норадреналину и серотонину. Мы преинкубировали МСК с данными гормонами и через 6 часов стимулировали их норадреналином или серотонином и установили, что серотонин и норадреналин повышают число клеток, отвечающих на норадреналин, но не на серотонин. Используя вестерн-блоттинг, мы установили, что через 6 часов после стимуляции данными гормонами в МСК повышается уровень $\alpha 1A$ -АР. Используя ингибиторный анализ, ПЦР и ИФА мы показали, что серотонин повышает $\alpha 1A$ -АР через каскад HTR6/аденилатциклаза/цАМФ/PKA/CREB и EPAC. При действии норадреналина CREB и EPAC не активируются. Используя ПЦР в реальном времени, мы показали, что при адипогенной дифференцировке в условиях возникновения гетерологической сенситизации происходит образование адипоцитов с повышенной экспрессией лептина. При этом запуск ГС при действии серотонина приводит к повышению экспрессии адипонектина, тогда как ГС, активируемая норадреналином, снижает продукцию данного адипокина. Таким образом, гетерологическая сенситизация $\alpha 1A$ -АР в МСК при действии серотонина регулируется путем HTR6/Gs-белок/аденилатциклаза/цАМФ/PKA/CREB и EPAC. При активации ГС серотонином клетки дифференцируются в адипоциты с повышенной экспрессией адипонектина и лептина. *Исследование выполнено при поддержке РФФ в рамках проекта № 21-15-00311.*

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНОЗАВИСИМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ В 3D-КУЛЬТУРАХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

В.И. Чубинский-Надеждин, М.А. Шорохова, Ю.А. Негуляев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Культивирование стволовых клеток в виде 3D-сфероидов является перспективным новым направлением в клеточной медицине в связи с более достоверным моделированием физиологических условий роста клеток в организме *in vivo*. Очевидны принципиально иные механические силы и степени взаимодействия, возникающие в культуре стволовых клеток в трехмерном пространстве, по сравнению классическими условиями 2D-культивирования. Ранее нами были зарегистрированы и охарактеризованы механоуправляемые ионные каналы в стволовых клетках эндометрия человека (эмСК) – клеточной модели, важными достоинствами которой являются высокая доступность и неинвазивные протоколы выделения. Актуальной задачей представляется сопоставление функциональной активности, уровня экспрессии, и особенностей регуляции механозависимых ионных каналов в эмСК, культивируемых в 2D и 3D-культурах. В рамках продолжения исследований по проекту, финансируемого Российским Научным Фондом, нами были проведены предварительные эксперименты, направленные на оценку возможности регистрации эндогенных ионных каналов в клеточных сфероидах эмСК человека. Был успешно адаптирован и применен метод по формированию сфероидов по принципу “висячей капли” из эмСК. С помощью иммунофлуоресцентного окрашивания мы провели сопоставление паттернов экспрессии ионных каналов семейств Piezo и KCa, культивируемых в 2D культуре, и в 3D сфероидах. С помощью метода патч-кламп впервые проведена регистрация активности эндогенных ионных каналов в клеточных сфероидах эмСК на уровне одиночных ионных токов. Дальнейшие исследования будут направлены на оценку уровня функциональной активности и биофизических свойств механозависимых ионных каналов и их комплексов в 3D культуре эмСК человека. *Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00106.*

РЕГУЛЯЦИЯ КАНАЛОВ TRPC1 КАЛЬЦИЕВЫМИ СЕНСОРАМИ STIM2

А.В. Шалыгин, Д.О. Колесников, Л.Н. Глушанкова, К.О. Гусев, А.Ю. Скопин, К.В. Скобелева, Е.В. Казначеева

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Депо-управляемый вход кальция важнейший элемент кальциевой сигнализации в электронеозбудимых клетках: кальциевые сенсоры STIM, расположенные в эндоплазматическом ретикулуме, приводят к активации депо-управляемых каналов плазматической мембраны Orai, TRPC. Известно, что изменения в уровне экспрессии белков STIM2 и TRPC1 приводят к нарушениям в кальциевой сигнализации при развитии злокачественных новообразований толстого кишечника, первичного миелофиброза. Целью этой работы было изучить роль белков Orai в регуляции каналов плазматической мембраны TRPC1 кальциевыми сенсорами эндоплазматического ретикулума STIM2. В клетках HEK293 мы обнаружили, что для активации эндогенных каналов TRPC1 эндогенными сенсорами STIM2 необходим предшествующий вход кальция через каналы Orai. Однако сверхэкспрессированные белки STIM2 могли активировать эндогенные каналы TRPC1 напрямую. Оказалось, что при сверхэкспрессии

белков STIM2, базальный кальциевый вход через каналы *Orai* растет, что приводит к увеличению локализации TRPC1 на плазматической мембране. Каналы TRPC1 на плазматической мембране могут напрямую активироваться белками STIM2 и их дальнейшая активность не зависит от каналов *Orai*. *Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации соглашение № 075-15-2020-773 (13.1902.21.0041).*

ОКСИД АЗОТА КАК ВТОРИЧНЫЙ МЕССЕНДЖЕР ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЕ

Б.С. Шенкман, К.А. Шарло, С.А. Тыганов, Г.Р. Каламкар

¹ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН; ²Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва

Камбаловидная мышца – основная постуральная мышца млекопитающих, длительное поддержание активности которой обеспечивается преобладанием волокон медленного типа и работой мышечных и кожных (подошвенных) опорных афферентов. Нами ранее было показано, что снижение активности анаболических сигнальных путей, а также регуляторов экспрессии медленного миозина и регуляторов митохондриального аппарата при функциональной разгрузке можно предотвратить, если на ее фоне регулярно применять механостимуляцию стопы. Мы предположили, что одним из сигнальных мессенджеров, опосредующих влияние опорной нагрузки и запускаемой ею тонической активности на сигнальные механизмы мышцы может быть оксид азота. Крысам навязывали 7-суточную разгрузку задних конечностей и ежедневные 4-часовые сеансы механостимуляции стопы. При этом части животных, подвергавшихся механостимуляции стопы, вводили ингибитор NO-синтазы L-NAME. При функциональной разгрузке отмечалось глубокое (более, чем на 50%) снижение содержания NO, которое полностью предотвращалось при использовании опорной стимуляции, но оказывалось очень низким при действии ингибитора NO-синтазы. Механостимуляция стопы позволила частично предотвратить атрофию медленных волокон и снижение максимальной изометрической силы мышцы. Было предотвращено снижение интенсивности белкового синтеза и активности маркеров трансляционной эффективности и емкости (фосфорилирования p70S6K, экспрессии pPDK и транскрипционного фактора c-Myc). Активация эндогенных ингибиторов белкового синтеза GSK3 β и eEF-2 также была снижена при использовании механостимуляции стопы. Все эти изменения нивелировались при ингибировании NO-синтазы. 7-суточная разгрузка приводила к снижению экспрессии генов медленного и медленного тонического миозина (*myh7* и *myh7b*), PGC1 α и к снижению содержания в ядерной фракции регуляторов NFATc1, MEF2D, p300. Эти изменения также предотвращаются при механостимуляции стопы, но остаются на уровне разгрузки при использовании ингибитора NO-синтазы. Таким образом, ряд сигнальных путей, поддерживающих протеостаз и стабильность фенотипа мышцы, находятся в зависимости от ее активности, контролируемой системой опорной афферентации. При этом одним из вторичных мессенджеров, опосредующих действие активности на сигнальные пути, является оксид азота.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ДИАБЕТЕ И БАРЬЕРНЫЕ СВОЙСТВА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА: РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ *IN VITRO*

В.П. Ширинский, М.В. Самсонов, Н.В. Подкуйченко, А.Ю. Хапчаев, А.В. Воротников, М.В. Шестакова¹

Институт экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ¹Институт диабета, НМИЦ эндокринологии МЗ РФ, Москва

Типичными метаболическими нарушениями при диабете 2 типа являются дислипидемия и гипергликемия. Как реакция организма на устойчивое повышение концентрации глюкозы в крови развивается гиперинсулинемия. В организме человека сосудистый эндотелий одним из первых испытывает на себе эти патологические воздействия, однако практически ничего не известно о том, приводят ли они к нарушению его барьерных свойств. С помощью моделей эндотелиальной проницаемости *in vitro*, измерения параметров окислительного и дикарбонильного стресса, анализа сигнального каскада инсулина и работы эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) мы установили, что основное воздействие на эндотелиальный барьер оказывает высокий уровень свободных жирных кислот (пальмитата), в то время как в условиях экспериментальной гипергликемии и гиперинсулинемии барьерная функция эндотелия не страдает. Пальмитат оказывает двунаправленное воздействие на барьер. Первоначально происходит его укрепление, связанное с активацией eNOS. В дальнейшем происходит ослабление барьера, сопряженное с накоплением в эндотелиальных клетках активных форм кислорода, образованием малонового диальдегида (МДА), продукта перекисного окисления липидов, и накоплением МДА-модифицированных белков. При этом инсулиновая сигнализация в эндотелии, оцененная по уровню сайт-специфического фосфорилирования основных участников инсулинового каскада, практически не изменяется. Однако, инсулин более не модулирует NO-генерирующую активность eNOS, которая остается постоянно высокой. Экзогенный МДА, но не метилглиоксаль, продукт окисления глюкозы, оказывает необратимое повреждающее действие на эндотелиальный барьер, что может указывать на роль МДА-модифицированных эндотелиальных белков в этом процессе. В совокупности, результаты исследований барьерных свойств сосудистого эндотелия человека *in vitro* в условиях моделирования метаболических нарушений, характерных для диабета 2 типа, указывают на ведущую роль дислипидемии в барьерной дисфункции и нарушении регуляции эндотелиальной NO-синтазы инсулином. В связи с поздним развитием гипергликемии в патогенезе диабета 2 типа дислипидемические нарушения выходят на первый план, как возможная причина нарушения сосудистой проницаемости при этой распространенной патологии. *Поддержано грантом РФФ № 19-15-00361.*

ВЛИЯНИЕ ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА НА ВХОД КАЛЬЦИЯ В ПОДОЦИТАХ КРЫСЫ

К.О. Гусев¹, С.А. Макеёнок¹, А.В. Шалыгин¹, Л.С. Шуйский¹, Д.О. Колесников¹, А.О. Шпаков², Е.В. Казначеева¹

¹Институт цитологии РАН; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Одним из наиболее распространенных и тяжелых осложнений сахарного диабета (СД) является диабетическая нефропатия (ДН). Причинами ДН могут быть как повреждения артериол, так и повреждения фильтрующих структур в почке, сформированных подоцитами. Изучение нарушений работы ионного транспорта в подоцитах при СД и на стадии ДН – актуальная задача, которая может позволить выделить перспективные мишени для коррекции данной патологии. Основное внимание в нашем исследовании было уделено влиянию СД второго типа у крыс на кальциевую сигнализацию в изолированных клубочковых подоцитах. Для индукции диабета второго типа крысам линии Wistar в течение 15 недель давали диету с высоким содержанием жира и одноразовую инъекцию 20 мг/кг стрептозотоцина через 9 недель. Этот протокол привел к хроническому повышению уровня глюкозы в крови крыс (до $6,7 \pm 0,2$ мМ). По клиренсу креатинина крыс можно было разделить на 2 группы – с нормальным клиренсом ($1,43 \pm 0,12$ мл/мин) и с повышенным клиренсом ($2,13 \pm 0,16$ мл/мин). При этом в последней группе наблюдалось и увеличение веса почек (на ~13%), что, по-видимому, отражает развитие ДН. Используя флуоресцентный метод с индикатором кальция fura-2, мы обнаружили, что развитие СД второго типа на начальных стадиях приводит к повышению уровня входа Ca^{2+} (на ~23%), в ответ на опустошение Ca^{2+} депо вызванное применением 2 мкМ тапсигаргина, а при развитии ДН наблюдается падение депо-управляемого входа (на ~50%). Данные изменения сопровождались соответствующими изменениями в уровне Ca^{2+} в депо, оцененными в ответ на приложения 1 мкМ иономицина в бескальциевой среде. Измерения одиночных каналов TRPC6 методом пэтч-кламп, подтвердили данные флуоресценции и показали высокую базальную и пониженную тапсигаргин-индуцированную активность TRPC6 каналов на стадии ДН. Таким образом, были получены результаты, что СД второго типа влияет на депо-управляемый вход кальция, в частности через TRPC6 каналы, в подоцитах крысы. Такие изменения в кальциевом гомеостазе могут приводить к отклонениям в работе клубочкового фильтрационного барьера и последующему развитию ДН. *Работа поддержана грантом РФФИ 19-14-00114.*

CA²⁺-СИГНАЛИЗАЦИЯ, ИНДУЦИРУЕМАЯ АМИНЕРГИЧЕСКИМИ АГОНИСТАМИ, БЛОКИРУЕТСЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ P1828 НЕЗАВИСИМО ОТ ИНГИБИРОВАНИЯ P13-КИНАЗЫ

Е.А. Дымова, Е.А. Воронова

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, Пушкино

Аминергические GPCR-рецепторы составляют группу гептаспиральных трансмембранных рецепторов, активируемых биогенными аминами, включая адреналин, гистамин, дофамин, серотонин и ацетилхолин. Эти рецепторы сопряжены с различными внутриклеточными сигнальными системами, в частности с кальциевой (Ca^{2+}), которая регулируется при участии внутриклеточных ферментов, в том числе фосфатидилинозитол-3-киназа класса I (P13-киназа). В данной работе с помощью мониторинга внутриклеточного Ca^{2+} в одиночных клетках различных линий исследовали влияние ингибитора P13-киназы P1828 на Ca^{2+} -сигналы, инициированные аминергическими агонистами. Кратковременная стимуляция ацетилхолином клеток линии HEK293, гистамином клеток линии С6, серотонином клеток моноклональной линии СНО, экспрессирующих 5-HT_{2C} серотониновый рецептор, инициировала в них Ca^{2+} -ответы. Эти Ca^{2+} -сигналы полностью подавлялись в присутствии P1828, причем данный эффект наблюдался при аппликации P1828 одновременно с исследуемым агонистом, хотя обычно ингибирование внутриклеточных мишеней требует времени для проникновения ингибитора через плазматическую мембрану. Кроме того, вортманнин – ингибитор P13-киназы другой химической природы – не влиял на способность клеток генерировать Ca^{2+} -ответы на те же агонисты. Нечувствительность клеточных ответов к вортманнину указывает на то, что эффекты P1828, скорее всего, не были специфическими, то есть не были опосредованы ингибированием P13-киназы. Таким образом, в данной работе нами показано, что ингибитор P13-киназы P1828 блокирует мобилизацию внутриклеточного Ca^{2+} , вызванную активацией мускариновых, гистаминовых и 5-HT_{2C} серотонинового рецепторов, причем эффект данного соединения не был связан с ингибированием P13-киназы, а, скорее всего, был обусловлен его прямым действием на перечисленные аминергические GPCR-рецепторы. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-74-00056.*

СТРУКТУРА И ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ПОРИНА ИЗ МОРСКОЙ БАКТЕРИИ MARINOMONAS PRIMORYENSIS

Д.К. Чистюлин, Е.А. Зелепуга, В.А. Хоменко, О.Ю. Портнягина, О.Д. Новикова, Л.А. Романенко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Порины – это бета-структурированные порообразующие белки наружной мембраны грамотрицательных бактерий, обеспечивающие проницаемость мембраны для гидрофильных соединений. Каждому типу поринов присущи уникальные свойства, определяемые распределением зарядов внутри канала. Исследование особенностей молекулярной организации этих белков в функционально активном состоянии представляет интерес не только с точки зрения биофизики белка, но и для создания биоинженерных конструкций. С помощью техники бислойных липидных мембран (БЛМ) охарактеризованы электрофизиологические свойства канала порообразующего белка наружной мембраны *Marinomonas primoryensis* КММ3633Т (MrOmp). По сравнению с каналами поринов наземных бактерий каналы MrOmp отличались нестабильностью, повышенным уровнем шумов в записях тока, коротким временем "жизни" и спонтанным переходом из открытого состояния в закрытое. Определены основные характеристики поринового канала: величина проводимости одиночного канала, его селективность и значения критического потенциала закрытия в различных средах (нейтральной, слабокислой, щелочной). Установлено, что увеличение pH среды практически не влияет на среднюю проводимость поринового канала ($2,6 \pm 0,3$ нСм). Напротив, в кислой области наблюдалось достоверное уменьшение средней величины проводимости канала до $2,3 \pm 0,1$ нСм. Значение критического потенциала

закрытия канала MrOmp в щелочной среде практически не изменяется и имеет величину 41 ± 6 мВ, а в кислой среде наблюдается существенное увеличение этого значения, до 81 ± 6 мВ. Обнаружено, что канал MrOmp обладает низкой катионной селективностью по сравнению с таковой каналов OmpF поринов наземных бактерий, которые являются катион-селективными с 3-40-кратным предпочтением ионов K^+ над ионами Cl^- . Величина селективности канала MrOmp (PK/PCl), составила 1.8. Построена 3D модель мономера MrOmp. По сравнению с каналом классического OmpF порина *E. coli* пора MrOmp существенно отличается по форме, длине и аминокислотному составу наружных петель, формирующих вестибуль поры, а также по распределению зарядов внутри барреля. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-04-00318).

СОПОСТАВЛЕНИЕ АКТИВАЦИИ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАНАЛОВ, ОРГАНИЗАЦИИ F-АКТИНА И МИГРАЦИОННЫХ СПОСОБНОСТЕЙ НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Сударикова, В.И. Чубинский-Надеждин, М.А. Шорохова, В.Ю. Васильева, Е.А. Морачевская, Ю.А. Негуляев
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Изменение механических свойств и миграционного потенциала стволовых клеток эндометрия может играть ключевую роль в патогенезе аденомиоза одной из форм эндометриоза. В работе проведено сравнительное исследование активности механозависимых каналов, актинового цитоскелета, морфологии клеток и миграционных характеристик мезенхимальных стволовых клеток эндометрия человека, выделенных из менструальной крови здоровых доноров (эмСК) и донора с аденомиозом (эмСК-А). Повышенный миграционный потенциал эмСК-А был выявлен с помощью метода «заживления экспериментальной раны» при цейтраферной микроскопии живых клеток. Кроме того, мы обнаружили, что присутствие сыворотки в культуральной среде значительно влияет на подвижность клеток: в бессывороточной среде эмСК-А мигрировали медленнее, чем нормальные эмСК. Анализ морфологических характеристик позволил обнаружить, что эмСК-А обладают меньшей площадью и периметром по сравнению с эмСК, в то время как другие морфометрические параметры не различались. Флуоресцентная микроскопия выявила очевидные различия в организации F-актина в нормальных и аденомиотических стволовых клетках. В частности, эмСК-А характеризовались более выраженным кортикальным F-актином и частично разобранными стресс-фибриллами по сравнению с эмСК. Используя метод локальной фиксации потенциала (конфигурация cell-attached), мы зарегистрировали активность одиночных токов в ответ на приложение механического стимула в эмСК и эмСК-А. В обеих клеточных культурах мы обнаружили феномен сопряженной активации механочувствительных каналов и Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов высокой проводимости (ВК), что указывает на принципиальное сходство мембранной механотрансдукции в нормальных и патологических клетках. Повышенная миграционная способность может быть связана с особенностями активации ВК-каналов в функциональных механоправляемых кластерах в плазматической мембране мезенхимальных стволовых клеток. Полученные данные позволяют рассматривать стволовые клетки эндометрия в культуре как модель для определения механизмов, лежащих в основе изменений клеточной подвижности и инвазивной активности при различных патологиях, включая аденомиоз. Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00106.

АКТИВНОСТЬ ЭНДОГЕННЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ В СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В 3D УСЛОВИЯХ

М.А. Шорохова¹, Ю.А. Негуляев¹, З.М. Хайруллина², В.И. Чубинский-Надеждин¹

¹Институт цитологии РАН; ²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

3D культивирование стволовых клеток - модель жизни клеток в системе *in vivo*, которая может быть использована как для моделирования на клетках в 3D различных патологических состояний, так и в качестве «строительного» материала для биоинженерных конструкций. В связи с актуальностью использования 3D культивирования целью настоящей работы был анализ возможностей применения метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) для выявления функционирования эндогенных ионных каналов в стволовых клетках человека в 3D условиях. На данный момент отсутствует информация о сходствах и отличиях особенностей функционирования ионных каналов в клетках при 3D и 2D культивировании. Настоящая работа была проведена на эндометриальных мезенхимных стволовых клетках (МСК) человека, полученных из десквамированного эндометрия. Данный тип клеток имеет преимущества по сравнению с другими типами МСК, такие как доступность и возможность неинвазивного способа получения донорского материала, высокая пролиферативная способность клеток в культуре. Сфероиды формировали методом висячей капли. Анализ проводили через 48 часов нахождения клеток в висячей капле. Далее клетки высевали на стекла, покрытые поли-DL-лизинном на 45 минут для прикрепления сфероидов к поверхности. Был разработан подход по применению метода patch-clamp для исследования эндогенных ионных каналов в клетках, формирующих сфероиды. Впервые была зарегистрирована активность нескольких типов ионных каналов (включая механочувствительные) в сфероидах на уровне одиночных ионных токов. Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00106.

КЛЕТОЧНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

РОЛЬ МИКРОЭЛЕМЕНТА СЕЛЕНА В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА РАКОВЫХ КЛЕТОК ПУТЕМ АКТИВАЦИИ ПРОЛОНГИРОВАННОГО СТРЕССА ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА

Е. Г. Варламова, В.Н. Мальцева, М.В. Голтяев, Е.А. Туровский

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Среди хорошо известных индукторов ЭР-стресса различной природы особое место занимают селен-содержащие агенты: метилселениновая кислота (МСК) и селенит натрия (СН), поскольку неоднократно показано, что даже незначительные их концентрации способны вызывать не только адаптивный, но и пролонгированный ЭР-стресс. Кроме того, селенопротеины-резиденты ЭР весьма чувствительны к действию МСК и СН, экспрессия их мРНК, количественное содержание самих белков существенно меняется в зависимости от концентрации, времени воздействия индуктора, а также от клеточной линии. Установлено, что молекулярные механизмы регуляции как адаптивного, так и пролонгированного ЭР-стресса, вызванного МСК и СН, на примере различных раковых клеток человека (А-172-глиобластома, Сасо-2-колоректальная аденокарцинома, DU-145-карцинома простаты, MCF-7-аденокарцинома молочной железы) приводят к активации разных сигнальных путей UPR в клетках в зависимости даже от их концентрации. Показано, что пролиферативные свойства всех исследуемых раковых клеток снижаются пропорционально увеличению концентрации МСК и СН, причем обработка клеток 10 мкМ концентрацией обоих соединений имела выраженный цитотоксический эффект во всех клеточных линиях, вызывая апоптоз почти 100% клеток. Исследуемые концентрации СН и МСК вызвали апоптотическую гибель раковых клеток, но не некроз. Установлено, что один и тот же индуктор ЭР-стресса по-разному регулирует экспрессию семи селенопротеинов-резидентов ЭР (SELM, SELT, SEP15, SELK, SELS, SELN и DIO2) в исследуемых клетках. Кроме того, МСК и СН в пределах одной клеточной линии по-разному влияли на экспрессию одних и тех же селенопротеинов, за исключением SELM, экспрессия которого возрастала с увеличением концентрации используемого индуктора. Кроме того, во всех линиях раковых клеток была выявлена закономерность асинхронного характера паттернов экспрессии двух селенопротеинов, принадлежащих к одному семейству и имеющих сходную структуру, SELM и SEP15, но только при обработке клеток МСК, но не СН. Наличие структурного сходства может означать их взаимодействие с одними и теми же физиологическими партнерами в клетке и участие в регуляции схожих процессов а паттерны их асинхронной экспрессии-их функциональную взаимозаменяемость. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ No 20-04-00053.*

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕДОКС ГОМЕОСТАЗА В КЛЕТКАХ МОЗГА

В.Н. Мальцева, Е. Г. Варламова, Е.А. Туровский

Институт биофизики клетки ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Селен-содержащие наночастицы (SeNPs) в последнее время привлекают большое внимание как потенциально полезные нагрузки для лечения рака в виду их высокой биологической активности, биосовместимости и низкой токсичности. В данной работе проведены исследования роли SeNPs, полученные путем лазерной абляции, в редокс регуляции гомеостаза в нейроглиальных культурах клеток коры головного мозга мыши (нейроны и астроциты), а также молекулярных механизмов такой регуляции. Установлено, что аппликация SeNPs дозо-зависимо вызывает генерацию Ca^{2+} -сигналов в астроцитах, но не нейронах, что говорит о селективности их действия. Так, SeNPs в концентрации 1 мкг/мл активировали Ca^{2+} -сигналы спустя 2,5-4 минуты после их аппликации, что может свидетельствовать о необходимости некоторого времени для их проникновения внутрь астроцитов. Повышение концентрации SeNPs в 5 раз приводило к увеличению числа астроцитов (с 12-25% до 50%), отвечающих Ca^{2+} -сигналами, и к росту их амплитуды и генерации ответов в виде Ca^{2+} -осцилляций. Аппликация 0.5 мкг/мл SeNPs после опустошения ЭПР с помощью тапсигаргина в среде с кальцием (приток ионов Ca^{2+} снаружи) не вызвала Ca^{2+} -сигналов, что говорит о ведущей роли SeNPs в мобилизации Ca^{2+} из ЭПР. Кроме того, показано, что ингибирование ключевых белков фосфоинозитидного сигнального каскада – PLC (U73122) и IP3-рецепторов (2-APB и ХеС), приводит к полному подавлению Ca^{2+} -сигналов астроцитов коры мозга в ответ на аппликацию SeNPs. Известно, что при культивировании первичных клеточных культур коры мозга всегда наблюдается процесс базового апоптоза и некроза. Показано, что в клетках коры мозга низкие дозы SeNPs (1 и 2.5 мкг/мл) обладали противонекрозным и антиапоптотическим действием, снижая базовую гибель клеток за счет активации Ca^{2+} -сигнальной системы и регуляции экспрессии генов, кодирующих защитные белки. Дополнительно проведен анализ экспрессии селенопротеинов и ключевых маркеров апоптоза при действии на клетки SeNPs. По результатам работы можно предположить, что SeNPs активируют астроциты, вовлекая секрецию глутрансмиттеров и АТФ, что приводит к паракриной активации астроцитарной сети и, возможно, нейроглиальным взаимодействиям, влияя на экспрессию генов, кодирующих ряд селенопротеинов, сигнальных киназ, тормозных (ГАМК) и возбуждающих (Grin – NMDA) рецепторов. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ No 20-04-00053.*

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ TRPC6 КАНАЛОВ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ОГРАНИЧЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ УТРАТЫ В НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Д.М. Мелентьева¹, Л.С. Унанян^{1,2}, В.С. Камарян¹, Е.А. Попугаева¹

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербург; ²Российско-Армянский университет, Институт биомедицины и фармации, лаборатория структурной биоинформатики, Ереван, Армения

Отличительной чертой болезни Альцгеймера (БА) является синаптическая утрата в нейронах гиппокампа и коры головного мозга. Ранее мы обнаружили положительные модуляторы TRPC6 каналов – производные пиперазинов. Мы показали, что производные пиперазинов способны остановить синаптическую утрату в нейронах гиппокампа в *in vitro* модели БА, а также восстановить индукцию долговременной потенциации в срезах мозга мышей моделей БА – 5xFAD (Popugaeva et al, 2019, Mol Pharmacology). Однако мы обнаружили, что соединение лидер – N-(2-хлорфенил)-2-(4-фенилпиперазин-1-ил) ацетамид (51164) обладает неудовлетворительной фармакокинетикой.

В настоящей работе с помощью методов биоинформатики из баз данных ZINC, ChEMBL и AldrichCPR были отобраны топ 15 химических соединений, производных пиперазинов, способных связываться с активным центром и периферией человеческого TRPC6. Свойства ADME-Tox, для исследуемых соединений, были получены с использованием программ SwissADME, admetSAR и LasarTox. Получены значения проницаемости через желудочно-кишечный тракт и гематоэнцефалический барьер на основе метода оценки проницаемости Эгана. Установлена специфичность отобранных соединений к каналам TRPC6, а также к TRPC3. Отобрано два соединения лидера ограничивающих синаптическую утрату в *in vitro* модели болезни Альцгеймера. Работа поддержана грантом РФФЛ № 20-75-10026.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО Ca²⁺ В РЕГУЛЯЦИИ КОНФОРМАЦИИ ГЕМА И ГЛОБИНА ЭРИТРОЦИТА

О.В. Слатинская¹, Н.А. Браже¹, С.Н. Орлов¹, Г.В. Максимов^{1,2}

¹Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва

В настоящее время широко обсуждается вопрос о роли структурных изменений цитоплазмы («краудинг») в регуляции объема и гемодинамики эритроцитов в сосудах. Известно, что морфология эритроцита зависит от Ca²⁺-зависимых изменений молекул спектрина и актина цитоскелета, формирующих комплекс с мембраной эритроцита. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) света хорошо зарекомендовала себя как метод для проведения регистрации изменений конформации гема и СН-групп валентных колебаний аминокислот глобина Гб эритроцитов *in vitro* и *in vivo*. Методом КР и лазерной интерференционной микроскопии было показано, что при снижении [Ca²⁺]_{out} с 10⁻³ М до 10⁻⁶ М, морфология эритроцита практически не меняется, при этом, снижение интенсивности сигнала КР в 2.6 раза. Наибольшие изменения выявлены в центре и на краях клетки, что может указывать на перераспределение Гб в цитоплазме и десорбции мембраносвязанного Гб. Установлено, что уменьшение [Ca²⁺]_{out} до 10⁻⁶ М приводит к изменению конформации гема и глобина: снижение симметричных колебаний боковых СН-групп пиррольных полуколец, увеличение вклада валентных колебаний винильных групп гемопорфирина и сроства к лигандам. В глобиновой части отмечено увеличение плотности упаковки и полярности окружения, а также снижение упорядоченности СН-групп аминокислот. Вероятно, изменения конформации внутриклеточного Гб при снижении [Ca²⁺]_{out} связаны с изменением поверхностного заряда (ζ-потенциал) мембраны (на 6%) и увеличением мембранного потенциала (на 25 %). По мнению авторов, снижение [Ca²⁺]_{out} меняет конформацию гема и расположение близлежащих к гему аминокислот дГб и локализацию анионного сегмента БПЗ за счет увеличения мембранного потенциала и поверхностного заряда, который выходит из катионной центральной полости дГб. Этот процесс сопровождается десорбцией мембраносвязанного Гб и последующей олигомеризацией цитоплазматического Гб, что меняет кислородтранспортные свойства эритроцита. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90073.

DAG-ЗАВИСИМЫЙ ВХОД Ca²⁺ КАК ФАКТОР ВКУСОВОЙ ТРАНСДУКЦИИ

А.П. Черкашин, П.Ю. Фадеев, Н.П. Коваленко, Н.В. Кабанова, О.А. Рогачевская, С.С. Колесников

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Внутриклеточный Ca²⁺ является основным регулятором процесса трансдукции в различных сенсорных клетках. Как правило, источником стимул-зависимых Ca²⁺-сигналов в сенсорных клетках является вход внеклеточного Ca²⁺ через трансдукционные ионные каналы, обеспечивающие генерацию рецепторного потенциала. Каноническая концепция трансдукции сладкого, горького и умами стимулов во вкусовых клетках типа II включает в себя три основных события: генерация IP₃, IP₃-зависимый выброс депонированного Ca²⁺ и активация Ca²⁺-зависимых катионных каналов TRPM5. Генерируемый одновременно с IP₃, DAG до сих пор считается побочным продуктом расщепления PIP₂ фосфолипазой PLCβ2. Между тем, наши эксперименты свидетельствуют о том, что DAG-регулируемый вход Ca²⁺ может играть значительную роль во вкусовой трансдукции.

В наших экспериментах было показано, что во вкусовых клетках типа II DAG может инициировать увеличение ионной проницаемости для наружного Ca²⁺. Это указывало на то, что в клетках типа II функционируют DAG-активируемые Ca²⁺-проницаемые ионные каналы. Все идентифицированные DAG-управляемые каналы, проницаемые для Ca²⁺, принадлежат к семейству TRPC. В препаратах РНК, выделенных из желобоватого сосочка, мы обнаружили транскрипты TRPC2, тогда как транскрипты для других DAG-управляемых TRPC не были идентифицированы. Следовательно, TRPC2 является вероятным кандидатом на формирование DAG-управляемых каналов, ответственных за DAG-регулируемый вход Ca²⁺ в клетки типа II.

Клетки типа II из желобоватого вкусового сосочка отвечали на горькие стимулы мобилизацией внутриклеточного Ca^{2+} , причем, эти Ca^{2+} -ответы сильно зависели от наружной концентрации Ca^{2+} и развивались медленно в течение 50-100 с. Таким образом, вкусовые Ca^{2+} -ответы, скорее всего, были результатом локального Ca^{2+} -входа, инициируемого DAG.

В заключение мы предполагаем, что в процессе вкусовой трансдукции высвобождение Ca^{2+} , управляемое IP_3 , формирует начальный переходной Ca^{2+} -сигнал, который обеспечивает быструю активацию TRPM5 и формирует начальную фазу рецепторного потенциала. DAG регулируемый вход Ca^{2+} через TRPC2, возможно, в комбинации с SOC каналами, продлевает Ca^{2+} сигнал для сохранения активности TRPM5, тем самым определяя продолжительность рецепторного потенциала.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 20-04-01035.

ПОИСК НОВЫХ МЕХАНИЗМОВ НАРУШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ПОТОМСТВА ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

А.Д. Щербицкая^{1,2}, Ю.П. Милотина¹, Д.С. Васильев², Н.Л. Туманова², И.В. Залозная¹, Н.М. Дубровская², Д.С. Калинина², А.В. Арутюнян¹

¹НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Повышение уровня гомоцистеина (ГЦ) в крови матери во время беременности является одним из патологических факторов, способных нарушить развитие плода. Показано, что пренатальная гипергомоцистеинемия (ПГГЦ) приводит к различным функциональным патологиям головного мозга, к которым относится нарушение формирования различных видов памяти у взрослого потомства. При этом, наблюдаемые поведенческие отклонения зачастую не сопоставляются с изменениями клеточного состава в структурах мозга, ответственных за когнитивные функции. Поэтому вопрос о механизмах возникновения последствий ПГГЦ на сегодняшний день остается актуальным, что и стало целью данного исследования. Моделирование ПГГЦ осуществлялось путем ежедневного введения раствора метионина самкам крыс с 4-го дня беременности до родоразрешения. Установлено повышение уровня ГЦ в мозге и сыворотке крови новорожденных после ПГГЦ и его нормализация у потомства уже к 3-му дню жизни. У таких крысят наблюдалось нарушение генерации и последующей миграции нейронов в V-VI слой теменной коры. ПГГЦ вызывала гибель нейронов коры и гиппокампа, что подтверждалось данными о снижении числа NeuN-позитивных клеток и увеличением активной формы и активности каспазы-3. Вместе с тем в гиппокампе и коре крысят после ПГГЦ отмечено снижение количества синаптоподин-позитивных лабиральных дендритных шипиков. В цитоплазме нейронов отмечено расширение канальцев эндоплазматической сети, повышение количества рибосом и лизосом, что вместе с увеличением количества глиальных клеток свидетельствует о развитии воспаления в нервной ткани крысят, перенесших ПГГЦ. Подтверждением данного предположения являются данные о повышении уровня интерлейкина-1 β и фосфорилированной формы p38 MAPK в исследуемых структурах. У взрослых животных, перенесших ПГГЦ, при этом наблюдалось нарушение кратковременной и долговременной памяти, а также ориентации в пространстве. Таким образом, можно предположить, что выявленные нарушения генерации и миграции нейронов, гибель нейронов и развитие нейровоспаления в коре и гиппокампе являются предпосылками для формирования когнитивных дисфункций у половозрелых самок крыс, перенесших ПГГЦ. *Поддержано средствами государственного бюджета по Госзаданию (АААА-А19-119021290116-1, АААА-А18-118012290373-7) и грантом РФФИ 20-015-00388.*

УРОКИНАЗА КАК МЕДИАТОР МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ В АНГИОГЕНЕЗЕ

И.Б. Белоглазова¹, Е.С. Зубкова¹, К.В. Дергилёв¹, В.В. Степанова³, Ю.Д. Василец¹, Е.И. Ратнер¹, Е.В. Парфёнова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва; ²МГУ имени М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва;

³Университет Пенсильвании, Филадельфия, США

Ангиогенез – процесс образования новых кровеносных сосудов – это сложный и высокоупорядоченный алгоритм последовательных этапов, контролируемый огромным пулом сигнальных молекул. Данная регуляция включает коммуникацию эндотелиальных клеток (ЭК) через секретлируемые факторы, через взаимодействия с окружающими клетками, такими как гладкомышечные клетки сосудов, перициты, иммунные клетки и мезенхимальные клетки (МСК) стромы, а также через взаимодействие с внеклеточным матриксом, а также его ремоделирование. В центре внимания настоящего исследования было изучение механизма коммуникации ЭК и МСК на ранних этапах ангиогенеза. Мы сокультивировали ЭК пупочной вены человека (HUVES) с МСК из жировой ткани в течение 24 часов. Мы обнаружили, что МСК служат инициатором ангиогенеза за счет секреции VEGF, а HUVES активно использовали его в процессе формирования капилляро-подобных структур. HUVES, в свою очередь, привлекают МСК через повышение секреции PDGF. Межклеточные взаимодействия через сигнальный путь Notch определяют направления развития контактирующих клеток, регулируют их способности к самообновлению, росту, выживанию, дифференцировке и апоптозу. Со-культивирование HUVES с МСК в течение 24 часов приводило к изменению уровня экспрессии рецепторов и лигандов Notch в обоих типах клеток, причем Jagged1 в МСК повышался более чем в 10 раз. Ингибиторный анализ показал важную роль протеолитической активности урокиназы и урокиназного рецептора на поверхности HUVES в процессе формирования капилляро-подобных структур, и что взаимодействие Jagged1 на HUVES с Notch3 на МСК приводит к повышению экспрессии урокиназы в МСК. Мы предполагаем два механизма регуляции формирования капилляро-подобных структур эндотелием при сокультивировании с МСК: через ремоделирование внеклеточного матрикса и активацию VEGFR2 путем блокирования репрессора транскрипции HHEX / PRN после крингл-зависимой транслокации в ядра ЭК. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 21-15-00327.*

РОЛЬ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ В РЕГУЛЯЦИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ТКАНЕВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КИСЛОРОДА

М.И. Ездакова, Д.К. Матвеева, Е.Р. Андреева

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Взаимодействие через щелевые контакты (ЩК) эндотелия (ЭК) и клеток стромального дифферона, вносит существенный вклад в регуляцию гомеостаза различных тканей при физиологических и патологических условиях. Периадвентициальная область кровеносных сосудов является одним из наиболее вероятных локальных клеточных депо мезенхимальных стромальных клеток (МСК). Анализ взаимодействия ЭК и МСК *in vitro* дает возможность значительно расширить представления о механизмах сосудодообразования. Эффективность коммуникации через ЩК определяется не только участвующими в них клетками, но и локальным микроокружением, в том числе и концентрацией O_2 . Цель работы заключалась в исследовании особенностей регуляции взаимодействия МСК с ЭК через ЩК при тканевой концентрации O_2 . В работе использовались МСК полученные из жировой ткани, и линейные ЭК EA.hy926. Для блокирования ЩК использовали ингибитор карбеноксолон ($100\mu M$) – (МСК+инг). Сокультивирование МСК и ЭК проводили в течение 24 часов в соотношении 1:2, при 20% и 5% O_2 . Ненаправленную миграцию оценивали *in vitro* с помощью экспериментальной модели «рана». Пролиферативная активность клеток была охарактеризована колориметрически с помощью Cell Proliferation Reagent WST-1 (Sigma-Aldrich, США). После 24 часов сокультивирования с МСК, пролиферативная активность ЭК была достоверно выше, чем в монокультуре (в 1,5 vs 1,7 раза, при 20% и 5% O_2 , соответственно). Взаимодействие с МСК+инг приводило к отмене стимулирующего эффекта МСК на прирост ЭК. Миграционная активность в сокультуре ЭК и МСК+инг была достоверно выше, по сравнению с ЭК и МСК. При 5% O_2 эффект был достоверно более выражен ($p \leq 0,05$). Таким образом, ингибирование ЩК в МСК приводит к изменению их эффектов на функциональную активность ЭК. При тканевой концентрации O_2 влияние МСК с заблокированными ЩК на ЭК более выражено, что необходимо учитывать при разработке протоколов клеточной терапии для сердечно-сосудистых заболеваний. Результаты анализа гетероклеточной регуляции функциональной активности ЭК и МСК, будут востребованы в прикладных исследованиях в интересах регенеративной медицины и тканевой инженерии. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00075 и при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-808.202.4

АНАЛИЗ РОЛИ ИЗОФОРМ IP_3 -РЕЦЕПТОРОВ В АГОНИСТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИИ В КЛЕТКАХ НЕК-293

Е.Н. Кочкина, Е.Е. Копылова, О.А. Рогачевская

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Многие первичные медиаторы инициируют внутриклеточную Ca^{2+} -сигнализацию, активируя поверхностные рецепторы, сопряженные с фосфоинозитидным каскадом, включающим в себя стимуляцию фосфолипазы C, генерацию вторичного медиатора IP_3 и IP_3 -зависимый выброс Ca^{2+} из депо через IP_3 -рецепторы. Последние представляют собой IP_3 -активируемые Ca^{2+} -каналы, локализованные преимущественно на мембране эндоплазматического ретикулума (Ca^{2+} -депо). Три гена кодируют субъединицы IP_3R1 , IP_3R2 и IP_3R3 , формирующие преимущественно гомотетрамерные Ca^{2+} -каналы. Изоформы IP_3 -рецепторов характеризуются разными механизмами регуляции и чувствительностью к IP_3 и Ca^{2+} . Характер внутриклеточных Ca^{2+} -сигналов зависит от степени представления в данной клетке того или иного подтипа IP_3 -рецептора. С целью выяснения роли изоформ IP_3 -рецепторов в агонист-индуцированной Ca^{2+} -сигнализации, нами при помощи технологии CRISPR/Cas9 были последовательно инактивированы гены IP_3R1 и IP_3R3 в клетках НЕК-293, экспрессирующих все три гена. Был получен клеточный клон НЕК293/ IP_3R2 с одной функциональной изоформой – IP_3R2 .

Для выяснения последствий инактивации генов IP_3R1 и IP_3R3 для Ca^{2+} -сигнализации проводились физиологические тесты с использованием микрофотометрии (Ca^{2+} -imaging) и флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fluo-4. Клетки НЕК293/ IP_3R2 были трансфицированы плазмидными векторами, кодирующими Ca^{2+} -сенсоры R-CePIA и Gem-GECO для мониторинга Ca^{2+} в ретикулуме и цитозоле. В экспериментах преимущественно использовался ацетилхолин (ACh), инициирующий Ca^{2+} -сигнализацию в большинстве клеток дикого типа (НЕК293/WT) при пороге 100-200 нМ. Клетки НЕК293/WT и НЕК293/ IP_3R2 генерировали Ca^{2+} -ответы по принципу «всё или ничего». При концентрации ниже пороговой ACh не вызывал возмущение цитозольного Ca^{2+} , но при надпороговых дозах стимуляция клеток агонистом инициировала Ca^{2+} -сигналы, идентичные кинетически и по амплитуде. Кривая доза-ответ оценивалась как среднее количество клеток в популяции, чувствительных к ACh при данной концентрации. Для клеток НЕК293/WT и НЕК293/ IP_3R2 такие кривые были статистически неотличимы. Это свидетельствует о том, что в клетках НЕК-293 IP_3R2 -изоформа является ключевой для генерации Ca^{2+} -ответов на ACh и, возможно, на другие агонисты. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-75-10068.

РОЛЬ mTOR И GSK-3 В РЕГУЛЯЦИИ БИОГЕНЕЗА РИБОСОМ В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ 7-СУТОЧНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Т.М. Мирзоев, С.В. Рожков, К.А. Шарло, Б.С. Шенкман

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Пониженная сократительная активность скелетных мышц (особенно тех, которые выполняют постральную функцию) в течение длительного времени может приводить к значительному снижению интенсивности синтеза мышечных белков и последующей атрофии мышечных волокон. Однако молекулярные механизмы, участвующие в регуляции биогенеза рибосом в условиях функциональной разгрузки в «антигравитационной» (постуральной) камбаловидной мышце исследованы недостаточно. Известно, что внутриклеточными регуляторами биогенеза рибосом и биосинтеза белка являются такие протеинкиназы, как мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) и киназа гликогенсинтазы-3 (GSK-3). Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы выяснить возможный вклад mTOR и GSK-3 в снижение биогенеза рибосом в постральной камбаловидной

мышце крысы в условиях функциональной разгрузки. Самцы крысы Вистар подвергались 7-суточной функциональной разгрузке задних конечностей методом антиортостатического вывешивания, а также ежедневным инъекциями AR-A014418 (ингибитор GSK-3 β , 4 мг/кг) или рапамицина (ингибитор mTORC1, 1,5 мг/кг) на фоне 7-суточного вывешивания. Вывешенные животные сравнивались с контрольной группой животных. Ключевые маркеры биогенеза рибосом оценивались методом гелелектрофореза, иммуноблоттинга и ПЦР. Интенсивность синтеза белка *in vivo* определялась методом пуромидинового мечения SUnSET. Как и ожидалось, 7-суточная функциональная разгрузка привела к значительному снижению скорости синтеза белка в камбаловидной мышце крысы. Введение животным ингибитора GSK-3 частично предотвратило индуцированное функциональной разгрузкой снижение интенсивности синтеза мышечного белка. Кроме того, ингибирование GSK-3 на фоне функциональной разгрузки предотвратило снижение экспрессии с-Мус, 45S пре-рРНК, а также содержания 18S+28S рРНК. Применение рапамицина в течение 7-суточного вывешивания не оказало существенного влияния на такие маркеры синтеза белка, как с-Мус, 45S пре-рРНК и 18S+28S рРНК. Из результатов исследования следует, что GSK-3, но не mTOR, может играть значительную роль в регуляции биогенеза рибосом в камбаловидной мышце крысы в условиях 7-суточной функциональной разгрузки задних конечностей. *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20152).*

СТРОМОПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ФУНКЦИЯ СЕНЕСЦЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

А. Ратушный, Е. Тырина, Л. Буравкова

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических исследований РАН, Москва

Мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК) являются малодифференцированными прогениторами, поддерживающими во взрослом организме процессы регенерации и обновления тканей, что делает их перспективным инструментом в области регенеративной медицины. Активация клеточного старения (сенесценция) может в значительной степени изменять их свойства. В данной работе были изучены некоторые эффекты, оказываемые сенесцентными МСК на популяцию гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток (ГСПК) пуповинной крови. После сокультивирования ГСПК с сенесцентными МСК было обнаружено в 1,5-2 раза меньше клеток как в суспензионных, так и в МСК-ассоциированных фракциях ГСПК, чем при сокультивировании с интактными МСК. Интересно, что при этом, сенесцентные МСК способствовали повышению колониеобразующего потенциала ГСПК. Так, в 2 раза увеличивалось количество колониеобразующих единиц гранулоцитов и моноцитов (CFU-GM). Значительно увеличивался размер эритроидных колоний (BFU-E). Анализ колоний с помощью проточной цитометрии подтвердил увеличение количества эритроидных предшественников (CD235a⁺CD45⁻) более чем на порядок. Анализ МСК-ассоциированной популяции ГСПК показал некоторое увеличение доли CD45⁺/CD90⁺ и CD45⁺/CD34⁺ при сокультивировании с МСК, подвергнутыми воздействию ММС. После анализа суспензионной и МСК-ассоциированной фракций ГСПК сепарированные МСК лизировали с целью дальнейшего анализа. Индукция клеточного старения приводила к снижению экспрессии гена матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9). При этом в модели сокультивирования это снижение было более выраженным. Также в сенесцентных клетках отмечено повышение уровня транскрипционной активности ICAM1 в 3-4 раза. Таким образом, стресс-индуцированное старение МСК приводит к модификации их способности поддерживать как суспензионную, так и МСК-ассоциированную фракцию ГСПК. При этом отмечены изменения субпопуляционного состава ГСПК, что может быть следствием модуляции паракринной и прямой межклеточной коммуникации, а также изменением состава внеклеточного матрикса. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00150.*

СОЗДАНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ ГЕЛЕЙ СО СТАБИЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Э.С. Черных¹, Е.П. Калабушева¹, Е.В. Алпеева¹, С.И. Белоусов², С.В. Крашенинников², Т.Е. Григорьев^{2,3}, С.П. Домогатский^{4,5}, Е.А. Воротеяк¹, Е.О. Осидак^{4,6}

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова; ²НИЦ «Курчатовский институт», Москва; ³Московский физико-технический институт (НИУ) Долгопрудный; ⁴ООО фирмы ИМТЕК; ⁵НИИЦ кардиологии МЗ РФ;

⁶НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва

Благодаря своим уникальным свойствам коллаген является идеальным материалом для создания тканевых и органных эквивалентов. Быстрое развитие методов создания таких конструкторов выявило одну из основных проблем коллагеновых биоматериалов – слабые механические свойства, что существенно затрудняет их использование в тканевой инженерии. Один из возможных перспективных вариантов решения данной проблемы является повышение концентрации коллагена в исходном растворе, при этом данных о поведении клеток, культивируемых внутри концентрированных коллагеновых гидрогелей длительное время, почти нет.

В данной работе было проведено комплексное исследование по оценке поведения дермальных фибробластов человека при культивировании внутри коллагеновых гидрогелей различной плотности (5 мг/мл; 10 мг/мл и 30 мг/мл) в течение 28 суток. Результаты ОТ-ПЦР и иммуногистохимического исследования не выявили значимой разницы между исследуемыми группами по изменению морфологии клеток, выживаемости (более 90%) и экспрессии специализированных маркеров, белков внеклеточного матрикса и матриксных металлопротеаз и их ингибиторов. Тем не менее, плотность матрикса влияла на пролиферацию и контрактильную способность клеток. Реологические исследования, дополненные цейтраферной съемкой клеток в гидрогеле, выявили обратную корреляцию между плотностью гидрогелей и подвижностью клеток. Было показано, что дермальные фибробласты человека при культивировании внутри коллагеновых гелей в течение 28 суток взаимодействуют с матриксом, изменяя его физические свойства, что дополнительно подтверждается проведенным исследованием реологических характеристик коллагеновых гелей на разных сроках наблюдения (1, 14 и 28 дней).

Полученные результаты открывают новые перспективы использования концентрированных растворов коллагена для создания прочных и стабильных биоматериалов для разработки искусственных тканей.

ИЗУЧЕНИЕ РАННЕГО ТРАНСКРИПЦИОННОГО ОТВЕТА РЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОТРОФИНОВ И МИКРОРНК В ОТВЕТ НА СУДОРОГИ У МЫШЕЙ

А.А. Шмакова^{1,2}, К.Д. Рысенкова^{1,2}, О.И. Ивашкина^{2,4,5}, А.М. Груздева², П.С. Климович^{1,2}, В.С. Попов¹, К.А. Рубина¹, К.В. Анохин^{2,4}, Е.В. Семина^{1,2}

¹Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Институт экспериментальной кардиологии, НИИЦ кардиологии МЗ РФ; ³Институт перспективных исследований мозга, МГУ им. М.В. Ломоносова;

⁴НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина; ⁵НИЦ "Курчатовский институт", Москва

При эпилептогенезе происходит серия клеточных процессов, приводящих к изменению клеточной возбудимости, повреждению или гибели клеток, перестройке нейронных сетей. В этой связи особый интерес вызывает изучение изменений транскрипции генов, продукты которых влияют на нейрональную выживаемость и возбудимость нейронов, и могут быть важным звеном патогенеза острых судорог. В качестве таких генов мы остановились на исследовании рецепторов нейротрофинов TrkA, TrkB, TrkC и p75NTR, так как данные об изменении их экспрессии в научной литературе довольно противоречивы. В данной работе были проанализированы ранние (1 час–6 часов после индукции судорог) изменения экспрессии рецепторов нейротрофинов TrkA, TrkB, TrkC, p75NTR, а также 84 микроРНК, специфичные для нейродегенерации и неврологических расстройств, в ответ на судороги у мышей B57Bl, вызванные интраперитонеальным введением пентилентетразола (75 мг/кг массы тела). Обнаружено, что в ранние сроки после индукции судорог (1-3 ч) в передней и задней коре, и гиппокампе значительно возрастает экспрессия TrkC и p75NTR; экспрессия TrkB возрастает только в передней коре (через 3-6 ч) и в гиппокампе (через 1 ч и 6 ч). Значимых изменений экспрессии TrkA в упомянутых отделах головного мозга обнаружено не было. Кроме того, через 3 ч в гиппокампе возрастает экспрессия микроРНК-9 и микроРНК-29а, предсказанной мишенью которых является TrkC, что может указывать на гомеостатический контроль экспрессии индуцируемых генов со стороны микроРНК. Так как в зависимости от типа рецептора сигнализация нейротрофинов может стимулировать как клеточную выживаемость (в случае рецепторов Trk), так и клеточную гибель (в случае рецептора p75NTR), мы проанализировали экспрессию эффекторных белков апоптотической сигнализации Bcl-2 (анти-апоптотический) и Bax (про-апоптотический) через 3 и 6 ч после судорог. Соотношение Bcl-2/Bax, отражающее активацию анти-апоптотической сигнализации, было повышено в передней и задней коре, но не в гиппокампе. Таким образом, мы впервые обнаружили раннюю индукцию экспрессии рецепторов нейротрофинов TrkB, TrkC и p75NTR, микроРНК-9 и микро-РНК-29а в головном мозге мышей после судорог. *Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2020-801).*

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ БАРЬЕРНОЙ ФУНКЦИИ КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

К.М. Ачасова^{1,2}, А.А. Огиенко¹, М.А. Борисова⁴, К.Н. Морозова⁴, Е.В. Киселева⁴, Е.Н. Кожевникова^{1,3,5}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, ²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, ³НИИ нейронаук и медицины, ⁴Институт цитологии и генетики СО РАН, ⁵Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

Нарушение барьерной функции и повышенная проницаемость кишечника являются отличительными особенностями воспалительных заболеваний кишечника. Такие нарушения могут быть связаны с истончением мукусного слоя, представленного гликопротеином муцин2, а также изменением структуры плотных и адгезивных контактов между эпителиальными клетками. Мы использовали мышей с генетически обусловленным дефицитом муцина2 (Muc2^{-/-}) чтобы исследовать механизмы нарушения барьерной функции кишечника в условиях хронического воспаления. Мы показали, что для ткани толстой кишки мышей Muc2^{-/-} характерна гиперплазия крипт, которая сочетается с митозами по всей длине крипты. Увеличение проницаемости кишечника для 4-kDa FITC-декстрана у мутантных мышей сочетается с нарушением морфологии эпителиальных клеток. При помощи просвечивающей электронной микроскопии мы установили, что у Muc2^{-/-} мышей увеличены плотные и адгезивные контакты между колоноцитами, нарушена структура микроворсинок. Такие изменения ассоциированы с нарушением актиновых микрофиламентов цитоскелета и локализации белков межклеточных контактов, обнаруженными при помощи конфокальной микроскопии. Одним из регуляторов состояния цитоскелета является АТФ, уровень которого зависит от функциональной активности митохондрий. Мы выявили дефекты ультраструктуры и функции митохондрий, а также сниженное количество АТФ в клетках у Muc2^{-/-} мышей, что может объяснить наблюдаемые нарушения цитоскелета и межклеточных контактов. Интересно, что особенности эпителия, обнаруженные *in vivo*, частично воспроизводятся на *in vitro* модели, в культуре кишечных органоидов, полученных из крипт Muc2^{-/-} мышей. Полученные результаты демонстрируют один из механизмов нарушения кишечного барьера при хроническом воспалении. Дальнейшее исследование с использованием культур кишечных органоидов поможет выявить молекулярные механизмы, лежащие в основе таких нарушений. *Проведение просвечивающей электронной микроскопии поддержано грантом РФФИ #19-015-00169, культивирование органоидов и исследование при помощи конфокальной микроскопии поддержано грантом РФФИ № 20-74-10022. Лабораторные животные приобретены за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований № АААА-А21-121011990039-2 и № 0533-2019-0003.*

ТРАНЗИЕНТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ VEGF И FGF2 СТИМУЛИРУЕТ АНГИОГЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОДЕЛИ ДВУХЭТАПНОЙ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТИ У КРЫС

Д.З. Гатина, Е.Р. Ахметзянова, А.А. Титова, И.И. Салафутдинов

Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань

Многочисленные исследования, проводимые с использованием генно-терапевтических подходов направлены на восстановление микроциркуляции в поврежденных тканях. Стратегия предполагает локальную доставку проангиогенных факторов, наиболее упоминаемыми из которых продолжают оставаться сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и основной

фактор роста фибробластов (FGF2). Ранее нами были разработаны и охарактеризованы *in vitro* плазмидные конструкции, содержащие гены VEGF, FGF2, DsRed и их комбинации. В данном исследовании мы инъецировали плазмидные конструкции (pVax1-VEGF-FGF2-DsRed, pVax1-VEGF-DsRed, pVax1-FGF2-DsRed, pVax1-DsRed) в головку икроножной мышцы крысы моделью хронической ишемии задних конечностей. Для динамического мониторинга за процессом регенерации ишемизированной конечности животных из каждой группы выводили из эксперимента на 3, 14 и 21-е сутки. Анализ экспрессии мРНК целевых генов показал, локальное повышение экспрессии терапевтических генов VEGF и FGF2 в мышечных тканях всех подопытных групп, кроме контрольных. Максимальная экспрессия регистрировалась на третьи сутки. По данным гистологического анализа на третий день количество центральноеядерных мышечных волокон (ЦЯМВ) было наибольшим в группе «FGF2» по сравнению с остальными группами. На 21 сутки во всех группах наблюдалось снижение ЦЯМВ. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к маркеру эндотелиальных клеток (CD31), продемонстрировало увеличение CD31 позитивных клеток в группе «FGF2» на 3 день по сравнению с другими группами. В группах «VEGF» и «VEGF+FGF2» содержание CD31 позитивных клеток достоверно увеличивается на 14-е и 21-е сутки по сравнению с контролями. Таким образом, плазмидные конструкции обеспечивают одновременную транзистентную экспрессию рекомбинантных белков и стимулирует пролиферацию клеток, формирование сосудистого русла и активируют естественные процессы регенерации ишемизированной мышечной ткани. Потенциально, плазмидные конструкции позволяют проводить многократное введение с целью поддержания оптимального локального уровня проангиогенных факторов. *Работа частично поддержана грантом 18-44-160029 и выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания 0671-2020-0058 в сфере научной деятельности.*

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА M0 И M1 МАКРОФАГОВ У ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

Н.А. Золотова, Д.Ш. Джалилова, А.М. Косырева, А.В. Лохонина, И.С. Цветков, О.В. Макарова
НИИ морфологии человека, Москва

Устойчивость к гипоксии взаимосвязана с различиями в течении локальных и системных воспалительных реакций, что обусловлено взаимодействием ключевого фактора, индуцируемого гипоксией – HIF и ядерного фактора NF-κB. Одной из ключевых клеток, реализующих иммунные реакции, являются макрофаги. Показано, что активация макрофагов в сторону M1 или M2 фенотипа зависит от уровня экспрессии генов HIF-1 или HIF-2. Однако нет данных о различиях фенотипов макрофагов у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Цель: определить молекулярно-биологические и функциональные особенности M0 и M1 макрофагов у высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии крыс. По «времени жизни» на критической «высоте» 11500 м отбирали низко- (НУ<80сек) и высокоустойчивых (ВУ>240сек) к гипоксии самцов крыс Вистар. Через месяц у животных забирали кровь из хвостовой вены и выделяли моноциты. Для получения M0 макрофагов клетки культивировали в среде MCSF, для поляризации в сторону M1 в среду добавляли липополисахарид. Методом проточной цитофлуориметрии определяли иммунофенотип M0 и M1 макрофагов. Методом qRT-PCR исследовали экспрессию генов цитокинов IL-1β, IL-6, IL-10; TNF-α, iNOS, Arg1, TGF-β и индуцируемых гипоксией факторов HIF-1 и HIF-2. Для статистического анализа использовали критерий Манна-Уитни.

У НУ крыс M0 макрофаги содержали 34,0 (28,3-40,1)% CD11b⁺ клеток, в то время как у ВУ – 71,3 (66,9-72,2)%, p=0,018. По маркерам CD68, CD86, CD163 различий между группами не выявлено. Показано, что у НУ крыс в M0 макрофагах статистически значимо выше экспрессия генов IL-1β и TNF-α, а в M1 макрофагах – HIF-1.

Выявлены иммунофенотипические и функциональные различия M0 и M1 макрофагов у животных с разной исходной устойчивостью к гипоксии. Показано, по сравнению с ВУ, у НУ крыс M0 макрофаги содержат меньше CD11b⁺ клеток, в M0 макрофагах статистически значимо выше экспрессия генов провоспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α, а в M1 макрофагах – фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1. Полученные данные позволяют разработать новые подходы к персонализированной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний у людей с учетом исходной устойчивости к гипоксии.

ПОИСК НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ШАПЕРОНОВ ГЛЮКОЦЕРЕБРОЗИДАЗЫ

А.Э. Копытова¹, Г.Н. Рычко^{1,5}, М.А. Николаев¹, А.А. Чеблоков¹, А.Д. Изюмченко¹, Д.А. Богданова¹, К.А. Сенкевич¹, Ф.М. Ибатуллин¹, Г.В. Байдакова², В.А. Безруких⁴, Г.Н. Салогуб⁴, И.В. Милюхина³, Е.Ю. Захарова², С.Н. Пчелина¹, А.К. Емельянов¹

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ Курчатовский институт, Гатчина;
²Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, Москва; ³Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; ⁴НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург; ⁵Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

Мутации в гене GBA, кодирующем фермент глюкоцереброзидазу (GCase) приводят к болезни Гоше (БГ) и являются высоким фактором риска болезни Паркинсона (БП). Обсуждается использование фармакологических шаперонов (ФШ) в качестве активаторов ферментативной активности GCase, наиболее перспективным ФШ является NCGC00241607 (NCGC607).

Цель: поиск новых аллостерических ФШ GCase и оценка эффективности восстановления ими активности GCase на первичных макрофагах пациентов с БГ и GBA-БП.

Для анализа вариантов связывания GCase с NCGC607, а также поиска его модификаций использовали методы докинга (Molsoft ICM pro3.8) и молекулярной динамики с явным учётом водного окружения (Amber18). Из периферической крови пациентов с БГ (N=2), GBA-БП (N=4) и контроля (N=4) была выделена моноклеарная фракция в градиенте Фиколла с последующим культивированием в среде RPMI-1640: 10% FBS, 1% гентамицина, 10 нг/мл M-CSF. Активность GCase оценивали методом ВЭЖХ-МС/МС в сухих пятнах макрофагов.

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

По результатам докинга NCGC607 выявили ключевые аминокислотные остатки фермента и химические группы соединения, участвующие во взаимодействиях. Затем предложили модификации химических групп NCGC607 (N2 и N3), увеличивающие растворимость соединения. NCGC607 и N3 обладают схожей свободной энергией связывания, рассчитанной по методу MMGBSA, в то время как N2 связывается с меньшей афинностью. На макрофагах пациентов с GBA-БП у носителей мутации N370S химические модификации N2 и N3 повышали активность GCase эффективнее, чем исходное вещество (Таблица 1).

Таблица 1. Активность GCase в первичных макрофагах

	Активность GCase*(%)						Контроль (N=4)
	БГ1 (N370S/L444P)	БГ2 (N370S/ c84dupG)	GBA-БП1 (L444P/N)	GBA-БП2 (N370S/N)	GBA-БП3 (N370S/N)	GBA-БП4 (L444P/N)	
NCGC607(4 мМ)	1287±52	165±12	-	110±9	233±16	66±7	107±6
N2(4 мМ)	438±27	56±4	79±3	622±29	624±31	52±2	176±9
N3(4 мМ)	524±30	276±11	87±6	298±15	646±27	62±5	174±10

*По сравнению с необработанными клетками

Мы предложили новые потенциальные ФШ GCase. NCGC607 и его модификаций (N2 и N3) продемонстрировали увеличение активности GCase пациентов-носителей лёгкой мутации (N370S), но не в случае тяжелых мутаций (L444P, c84dupG) в гене GBA. Исследование поддержано грантом РФФИ №20-315-90105. Г.Н. Рычков, А.А. Чеблов благодарят за финансовую поддержку Государственную программу АААА-А19-1119091890069-7.

РОЛЬ КИНАЗ IKK β , SRC И RIPK В НЕЙРОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ GDNF И BDNF ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОКСИИ IN VITRO

М.М. Логинова, Т.А. Мищенко, М.В. Ведунова, Е.В. Митрошина

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

В настоящее время известно, что глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) обладают нейропротекторным эффектом при различных негативных воздействиях на нервную систему, включая гипоксию. Они опосредуют свое действие через основные каскады киназ, но данные сигнальные каскады не позволяют объяснить все нейропротекторные эффекты. Следовательно, важной задачей является идентификация новых киназ, опосредующих действие BDNF и GDNF. Объектами исследования служили первичные культуры нейронов, полученные от эмбрионов мыши 18-го дня гестации (E18). Моделировали острую нормобарическую гипоксию на 14-е сутки развития культур in vitro. Нейротрофические факторы GDNF и BDNF (1 нг/мл) и ингибиторы киназ IKK β , SRC и RIPK (1 мкМ) добавляли в культуральную среду за 20 мин. до, во время и после гипоксии. Жизнеспособность первичных нейрональных культур оценивали на 7-е сутки после гипоксии с использованием специфических флуоресцентных красителей пропидия йодида и бисбензимида. Кальциевые события выявляли специфическим кальций-чувствительным красителем Oregon Green 488 BAPTA-1 AM. Гипоксия уменьшала количество жизнеспособных клеток в культуре («Интактная» 94,34±1,32%, «Гипоксия» 72,33±5,61%). Блокада SRC и IKK β привела к сохранению жизнеспособности нервных клеток (90,32±1,2% и 88,33±1,21%), RIPK не изменила этот параметр. BDNF и GDNF поддерживали жизнеспособность клеток в условиях гипоксии. Этот нейропротекторный эффект сохраняется при ингибировании исследуемых киназ. Далее мы оценили влияние киназ RIPK, SRC и IKK β на функциональную кальциевую активность первичных культур. Гипоксия вызвала значительное снижение активности кальциевых осцилляций («Интактная» 61,05±0,34%, «Гипоксия» 35,91±1,05% активных клеток). Блокада киназ SRC и IKK β не влияла на функциональную активность первичных культур гиппокампа, а блокада киназы RIPK сохраняла активность кальция (57,05±11,74%) в постгипоксическом периоде. Применение GDNF и BDNF поддерживало функциональную кальциевую активность нейрон-глиальных сетей в условиях гипоксии (52,94±2,49% и 53,82±1,86%). Ингибирование киназы SRC отменяет действие как GDNF (28,41±1,14%), так и BDNF (18,54±3,71%), тогда как блокада IKK β и RIPK устраняет нейропротекторный эффект только BDNF.

МЕТИЛ-БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИН УВЕЛИЧИВАЕТ ТОК «КОРОТКОГО ЗАМЫКАНИЯ» В ЭПИТЕЛИИ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ

А.А. Федорова¹, А.А. Ливанова^{1,2}, А.Г. Марков¹, И.И. Кривой¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет; ²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

В рамках современных исследований считается, что функциональная гетерогенность белков обусловлена не только их молекулярным разнообразием, но и их специфической мембранной локализацией, особенностями регуляции и взаимодействием с липидным окружением. Предполагается, что в эпителии кишки белки плотных контактов – клаудины, контролируемые запуск различных сигнальных путей, обладают способностью к олигомеризации и образованию кластеров, а также уникальным молекулярным окружением, которое изучено относительно слабо. Ранее в опытах на клеточных культурах было показано, что дестабилизация липид-упорядоченной фазы мембраны при действии метил-бета-циклодекстрина (M β CD), влияла на изменение уровня белков плотных контактов. Однако в тканях роль липидов мембраны в отношении барьерных свойств плотных контактов и уровня клаудинов исследована недостаточно. В данной работе были изучены электрофизиологические параметры эпителия тощей и толстой кишки крысы при инкубации с M β CD (10 мМ). Ткани тощей и толстой кишки (n=6) были

установлены в камеру Уссинга, MbCD был добавлен с апикальной стороны эпителия, ток «короткого замыкания» и трансэпителиальное сопротивление (ТЭС) оценивали в течении 60 мин инкубации. ТЭС — это параметр, который отражает вклад как парацеллюлярного, так и трансцеллюлярного транспорта в эпителии. В течение 60 минут инкубации с MbCD ТЭС эпителия тощей и толстой кишки не изменилось по сравнению с контролем. Ток «короткого замыкания», который отражает процессы активного транспорта через эпителий, достоверно увеличивался в эпителии тощей кишки через 45 мин после добавления MbCD по сравнению с контролем (23 ± 5 и 8 ± 2 мкА, $p < 0,05$, соответственно). Ток «короткого замыкания» в эпителии толстой кишки в ходе инкубации с MbCD не изменялся. Одним из факторов увеличения тока «короткого замыкания» в эпителии тощей кишки при действии MbCD может быть изменение активного транспорта в эпителии, в частности, связанное с изменением активности Na,K-АТФазы. Учитывая возможность существования функционального взаимодействия Na,K-АТФазы и клаудинов, данное изменение может указывать на потенциальную роль липидного окружения в модуляции этого взаимодействия. *Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00043.*

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ микроРНК И ИХ МИШЕНЕЙ, ЗАКОДИРОВАННЫХ В ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА УРОКИНАЗЫ uPAR

К.Д. Рысенкова^{1,2}, Т.Р. Булякова², К.Э. Трояновский³, К.А. Рубина², Е.В. Семина^{1,2}

¹Институт экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²Факультет фундаментальной медицины и

³Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Урокиназная система стимулирует опухолевую прогрессию путем активации пролиферации клеток, облегчения инвазии, метастазирования и подавления апоптоза. Ранее мы показали, что нокаут гена урокиназного рецептора (uPAR) методом CRISPR/Cas9 подавляет пролиферацию клеток нейроblastомы Neuro2a, и ассоциирован со снижением экспрессии мРНК гена нейротрофинового рецептора TrkC (Rysenkova et al. 2018). Мы предположили, что в регуляции uPAR-зависимой экспрессии гена TrkC участвуют микроРНК, закодированные в гене uPAR, которые не были идентифицированы ранее. МикроРНК – одноцепочечные некодирующие последовательности длиной около 22 нуклеотидов, которые регулируют экспрессию генов, связываясь с 3'-НТО мРНК. Проведя анализ гена uPAR в программе miRNAfold, мы обнаружили в нем 265 шпилечных структур – потенциальных предшественников микроРНК (pri-miRNA-uPAR) (Tav et al. 2016). Мы отобрали 4 наиболее термодинамически стабильные структуры ($\Delta G \leq -35$ ккал/моль), имеющие консенсусные участки для распознавания ферментом Drosha (Lee et al. 2018). При этом одна пара из предсказанных зрелых микроРНК uPAR-4-5p и 3p оказалась специфична к 3'-НТО мРНК TrkC (вероятность связывания 0,84-87 по базе данных Diana Tools). Далее мы провели амплификацию 4 предсказанных зрелых микроРНК и получили специфический продукт для каждой из них. Подтверждение нуклеотидной последовательности продуктов ПЦР проводили с помощью секвенирования по Сенгеру. Были обнаружены фрагменты разной длины (23-100 н), что может отражать процесс созревания микроРНК. Для выяснения механизма созревания микроРНК, а также для получения гиперэкспрессии зрелых микроРНК мы трансфицировали клетки Neuro2a плазмидой, несущей pri-miRNA-uPAR-1 или контрольным вектором. ПЦР в реальном времени показал, что в контроле uPAR-1-5p экспрессируется в 2,5 раза больше, чем uPAR-1-3p, а при гиперэкспрессии pri-miRNA-uPAR-1 уровень uPAR-1-5p в 5 раз выше, чем uPAR-1-3p. Таким образом, можно предположить, что именно последовательность uPAR-1-5p является более стабильной и функциональной. Дальнейший биоинформатический поиск и анализ экспрессии мишеней обнаруженных нами микроРНК позволит идентифицировать новые uPAR-зависимые сигнальные пути в опухолевых клетках, и новые терапевтические стратегии. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-015-0018*

АЦЕТИЛХОЛИН В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

СИГНАЛЬНАЯ РОЛЬ ХОЛИНА В ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧЕ

О.П. Бализина

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Холин - известный липотропный витаминоподобный фактор - был переоткрыт недавно как новый тип сигнальной молекулы в ЦНС, играющий самостоятельную роль в холинергической передаче мозга наряду с ацетилхолином (АХ). Обнаружилась способность эндогенного холина диффундировать из щели во время холинергической передачи для активации н-холинорецепторов (нХР) альфа7-типа, широко представленных в пре- и постсинаптических структурах нейронов и синапсов. Избирательно активируемые холином, а не АХ, альфа7-нХР способны проводить ионы Ca в нейроны и терминалы, вызывая там усиление секреции медиаторов и другие Ca-зависимые процессы. В наших исследованиях эффекты холина впервые были рассмотрены в периферических холинергических моторных синапсах диафрагмы и мышц голени мыши, путем регистрации вызванных потенциалов концевой пластинки (ПКП) в ходе ритмической залповой активности синапсов. В ослабленных моторных синапсах, восстанавливающихся после травмы аксонов, аппликация экзогенного холина приводила к усилению секреции АХ. Эффект предотвращался альфа-кобратоксином, блокатором альфа7-нХР. В то же время, в зрелых интактных моторных синапсах с высоким уровнем вызванной секреции АХ, холин в отличие от ЦНС, индуцировал торможение вызванной секреции АХ по ходу ритмических залпов, и этот эффект предотвращался блокаторами альфа7-нХР – альфа-кобратоксином и метилликаконитином. При этом в ходе длинных ритмических залпов ПКП наблюдали постепенно развивающуюся депрессию (утомление) передачи, которую удавалось предотвратить метилликаконитом, апамином (ингибитором Ca-зависимых K-каналов), блокатором СаМКП (KN62) и блокадой риадиноновых рецепторов (РиР). Сделано заключение, что на периферии, в отличие от ЦНС, эндогенный холин также активен, но играет роль сигнала для запуска механизма отрицательной обратной связи,

тормозящий избыточный расход медиатора АХ при длительной работе интактных зрелых синапсов, при этом задействованы пресинаптические альфа₇нХР, СаМКП, РиР и Са–зависимые К⁺-каналы моторных терминалей. Таким образом, впервые описаны особенности сигнальной роли холина в периферических моторных синапсах и возможность предотвратить утомление нервно-мышечной передачи за счет выключения ауторегуляторной тормозной активности холина

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ МЕДИАЛЬНОЙ СЕПТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ДОРСАЛЬНОМ И ВЕНТРАЛЬНОМ ГИППОКАМПе У ОБУЧЕННЫХ И НЕОБУЧЕННЫХ КРЫС

А.П. Большаков, А.П. Белецкий, Ю.В. Добрякова, Ю.С. Спивак, В.А. Маркевич

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Ядра медиальной перегородки и диагональной полоски Брока – структуры переднего мозга, проецирующиеся в гиппокамп и являющиеся единственным источником холинергической иннервации гиппокампальных клеток. В нашей работе мы сфокусировались на изучении того, как активация септогиппокампальной связи влияет на экспрессию генов в клетках гиппокампа, а также на обучение в тесте «пассивное избегание». Для этого животным вживляли стимулирующий электрод в медиальную септальную область и проводили длительную стимуляцию этой области в тета ритме (4 Гц). Обучение в тесте «пассивное избегание» проводили сразу после окончания стимуляции медиальной септальной области. Проверка сохранности выработанной реакции, проведенная через 24 часа после обучения, показала, что длительная стимуляция медиальной септальной области перед обучением приводит к нарушению воспроизведения условной реакции пассивного избегания. Сбор образцов тканей вентрального и дорсального гиппокампа проводили через 1 час после обучения. Детальный анализ экспрессии генов в клетках гиппокампа был проведен с помощью РНК-секвенирования после активации медиальной септальной зоны в тета-ритме, после обучения в тесте пассивного избегания, а также после комбинации стимулов. Оказалось, что вентральный гиппокамп является более чувствительным к стимуляции медиальной септальной области. После активации медиальной септальной зоны происходило увеличение экспрессии порядка 600 генов, значительная часть которых относилась к генам, ассоциированным с метаболизмом и регуляцией трансляции. Также наблюдалось падение экспрессии порядка 2000 генов, продукты которых вовлечены в регуляцию сплайсинга РНК и синаптическую передачу. В дорсальном гиппокампе эффекты стимуляции были менее выражены и заключались в усилении экспрессии генов синаптической пластичности и уменьшении экспрессии ряда генов, ассоциированных с иммунным ответом. Обучение без предварительной стимуляции индуцировало изменение экспрессии генов в основном в дорсальном гиппокампе. Парадоксальным образом комбинация стимуляции медиальной септальной области и процедуры обучения привела к тому, что профиль экспрессии генов оказался очень схожим с профилем экспрессии после обучения, как в вентральном, так и в дорсальном гиппокампе.

СЕКРЕЦИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА В СОМАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ АКТИВАЦИИ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Э.А. Бухараева, В.Ф. Хузахметова, А.Н. Ценцевицкий, А.Ю. Архипов, Н.В. Жиликов

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Адренергические соединения (АС) - активаторы и блокаторы α и β подтипов адренорецепторов - давно и широко применяются в клинике при сердечно-сосудистых и легочных заболеваниях, а также, для повышения мышечной массы и силы сокращений скелетной мускулатуры. Относительно недавно их стали предлагать для лечения нейродегенеративных заболеваний, сопровождающихся развитием мышечной слабости. Одной из главных мишеней действия АС при таких заболеваниях является синаптический контакт между аксоном мотонейрона и мышцей. Нами был проведен анализ особенностей влияния АС на процессы квантовой секреции ацетилхолина (АХ) в синапсах мышц разного функционального профиля. С помощью иммуноферментного анализа было установлено, что в растворе, омывающем нервно-мышечный препарат диафрагмальной и локомоторной мышц мыши, содержится до 12 пг/мл адреналина и 62 пг/мл норадреналина. Таким образом, мы впервые подтвердили данные микроскопии о том, что симпатические нервные окончания, подходящие близко к синапсу, выделяют эндогенные катехоламины и поэтому способны модулировать синаптическую передачу. Были выявлены существенные различия в направленности и выраженности эффектов адреналина, норадреналина и специфических агонистов и антагонистов разных типов адренорецепторов на спонтанную и вызванную секрецию квантов АХ в синапсах мышц разного функционального профиля. В синапсах диафрагмы активация α_1 , α_2 и β_1 подтипов рецепторов угнетала спонтанную секрецию АХ, тогда как в синапсах локомоторных мышц наблюдалось, напротив, ее возрастание. При стимуляции двигательного нерва в синапсах диафрагмы активация α_2 и β_1 подтипов вызывала угнетение секреции АХ, а активация β_2 ее повышение. В синапсах локомоторной мышцы «быстрого» типа адреналин повышал число квантов, освободившихся в ответ на нервный стимул, норадреналин не действовал, а в «медленной» - адреналин повышал квантовый состав. Обнаруженные различия эффектов АС на секрецию АХ обусловлены их взаимодействием с разными подтипами адренорецепторов, активирующими разнообразные внутриклеточные молекулярные каскады. Особенности действия катехоламинов в синапсах мышц разного функционального профиля важно учитывать при разработке новых лекарственных препаратов для лечения заболеваний с синаптическим дефектом. *Поддержано РФ (18-15-00046).*

УСИЛЕНИЕ СЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ В РЕЗУЛЬТАТЕ НЕКАНОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ

А.Е. Гайдуков, Е.О. Тарасова, Н.А. Хоткина, С.В. Алексахина, О.П. Балезина

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

В моторных синапсах диафрагмы мыши исследовали действия анандамида (АЭА) и 2-арахидоноилглицерина (2АГ) на спонтанную и вызванную стимуляцией нерва быструю синхронную секрецию ацетилхолина (АХ). Регистрировали миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) и многоквантовые потенциалы концевой пластинки (ПКП) в ходе ритмических залпов (50 Гц, 1 с). Впервые показано, что оба эндоканнабиноида оказывают облегчающее пресинаптическое действие как на

спонтанную секрецию АХ, так и на синаптическую передачу в ритмически активных моторных синапсах. Установлено, что потенцирующие влияния АЭА и 2АГ на секрецию АХ, несмотря на активацию ими одних и тех же СВ1-рецепторов, реализуются с вовлечением разных сигнальных путей и мишеней. АЭА (30 мкМ) обеспечивал растормаживание пресинаптических кальциевых каналов L-типа с участием протеинкиназы А (РКА). Это приводило к увеличению частоты МПКП (но не их амплитуды) и возрастанию амплитуды ПКП за счет возрастания их квантового состава по всему ходу ритмического залпа под действием АЭА. Благодаря анализу изменений квантового состава ПКП в залпе, было выявлено, что данный эффект реализуется не за счет возрастания вероятности выброса квантов АХ, а благодаря увеличению размера пула везикул, готовых к выбросу - вероятно, за счет вовлечения в секрецию АХ ранее молчавших активных зон. 2АГ (1 мкМ) вызывал увеличение амплитуд МПКП (но не их частоты) и амплитуд вызванных ПКП по всему ходу залпа, но это не сопровождалось возрастанием их квантового состава. В основе механизма потенцирующего эффекта 2АГ лежит его способность путем активации СВ1-рецепторов стимулировать везикулярный транспорт АХ (с участием РКА), что приводит к увеличению размера квантов АХ. Ингибирование фермента MAGL, гидролизующего 2АГ, вызывает потенцирование секреции АХ при ритмической стимуляции синапсов, сходное с действием экзогенного 2АГ, что говорит о возможности образования и действия эндогенных каннабиноидов при вызванной активности моторных синапсов. Таким образом, несмотря на сходный характер действия АЭА и 2-АГ – усиление нервно-мышечной передачи – установлено, что эффекты этих эндоканнабиноидов осуществляются посредством запуска различных сигнальных механизмов и предполагают потенцирование разных параметров секреции АХ. *Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-0061.*

ОВЕРЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ В ГИППОКАМPE ПРИВОДИТ К КОМПЕНСАЦИИ ДЕФИЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТУМА

Ю.В. Добрякова, А.П. Большаков, Ю.С. Спивак, М.И. Зайченко, М.Ю. Степаничев, Н.В. Гуляева, В.А. Маркевич
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

В настоящее время известно, что ацетилхолин является важным фактором формирования долговременной памяти при обучении, а также модулятором долговременной пластичности глутаматергических синапсов. Изменения в работе холинергической системы сопровождают развитие нейродегенеративных заболеваний и играют ключевую роль в нарушениях синаптической пластичности и памяти. Целью этой работы было исследовать влияние оверэкспрессии фактора роста нервов (NGF) в гиппокампе на поведение и пластичность гиппокампальных синапсов у крыс с вызванным холинергическим дефицитом. Дегенерация холинергических нейронов медиального септума была инициирована внутрисептальным введением иммунотоксина 192IgG-сапорина. Вирусная конструкция для оверэкспрессии NGF вводилась билатерально в дорсальный гиппокамп одновременно с инъекцией иммунотоксина. Показано, что интрасептальные инъекции сапорина вызывают снижение числа холинергических нейронов в медиальной септальной области. Анализ спонтанного чередования в Т-образном лабиринте и исследование двигательной активности в тесте «Открытое поле» значимых различий между группами не выявили. Напротив, в Y-образном лабиринте выраженное нарушение чередования, вызванное введением иммунотоксина, нормализуется у подопытных животных с оверэкспрессией NGF. В тесте «Сужающаяся дорожка» подопытные животные, экспрессирующие NGF, показывали значительно меньшее количество ошибок. Кроме того, у подопытных животных, которым вводили только 192IgG-сапорин и контрольную конструкцию, потенциация, возникающая в ответ на тетанизирующий стимул, была значительно слабее и амплитуды ответов достоверно не отличаются от базовых значений внутри этой группы. Напротив, оверэкспрессия NGF на фоне холинергической дисфункции возвращает значения амплитудных характеристик на уровень контрольных животных. Выявленные изменения сохранялись на протяжении всего периода регистрации после тетанизирующего стимула. Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует о том, что холинергическая дисфункция, возникающая при введении иммунотоксина может быть частично компенсирована оверэкспрессией NGF.

КОНЬЮГАТЫ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА В КАЧЕСТВЕ РЕАКТИВАТОРОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МОЗГА ИНГИБИРОВАННОЙ ПАРАОКСОНОМ

И.В. Зуева¹, В.Э. Семенов¹, К.А. Петров¹, О.А. Ленина¹, Р.М. Каюмова^{1,2}, П. Массон²

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, ФИЦ Казанский научный центр РАН;

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

На сегодняшний день применяемые при терапии отравлений пестицидами и боевыми отравляющими веществами реактиваторы активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ), несут фиксированный положительный заряд, что значимо увеличивает аффинность к активному центру холинэстераз, однако, затрудняет их проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Таким образом, существующие реактиваторы не способны предотвращать нейродегенеративные процессы, наблюдаемые у пострадавших после отравления. Решением проблемы может стать применение новых конъюгатов производного урацила – 3,6-диметилурацила с 1,2,4-триазольным фрагментом, несущим гидроксикарбамоильную функцию. Данные конъюгаты не несут фиксированного заряда и потенциально способны проникать через ГЭБ. Так, *in vitro* конъюгаты оказались способны реактивировать ингибированную параоксоном АХЭ и БуХЭ человека. При этом константа скорости реактивации k_r для соединения-лидера 1b (1,5-[(3,6-диметилурацил-1-ил)-(1,2,4-триазол-3-гидроксикарбамоил-1-ил)]пентан), составила $0,11 \pm 0,03 \text{ мин}^{-1}$, что соответствует k_r для прапидоксима (2-ПАМ). При этом была показана его способность реактивировать ингибированную параоксоном АХЭ головного мозга. Так, введение 1b реактивировало 25% активности АХЭ головного мозга крыс, отравленных параоксоном. Кроме того, соединение 1b в дозе 100 мг/кг уменьшало гибель нейронов и снижало степень нарушения когнитивных функций в модели нейродегенерации, вызванной параоксоном. Так, тест в водном лабиринте Морриса показал, что, в отличие от группы крыс, получавших только 2-ПАМ, время нахождения и количество пересечений области скрытой платформы в группе крыс, получавших 2-ПАМ с 1b не отличалось от контрольной группы животных. Последующий анализ окрашивания апоптотических клеток Fluoro-Jade не показал нейродегенеративных изменений в

зоне зубчатой извилины гиппокампа крыс получавших 2-ПАМ совместно с 1b. Таким образом, конъюгаты 6-метилурацила являются перспективными реактиваторами, способными восстанавливать активность АХЭ в центральной нервной системе *in vivo*. Работа поддержана грантом РФФ № 19-15-00344.

БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗА И ГАМК В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ: ИГНОРИРУЕМЫЙ ФЕРМЕНТ И ЗАБЫТЫЙ ГЛИОТРАНСМИТТЕР

К.А. Петров¹, Э. Креш², А.О. Ленина¹, Л.Ф. Нуруллин³, Д.В. Самигуллин³

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань;

²Université de Paris, France; ³Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань

Нервно-мышечная синаптическая передача возбуждения является необходимым для осуществления жизнедеятельности большинства многоклеточных организмов процессом, поскольку позволяет преобразовывать команды мозга в мышечные сокращения. В нервно-мышечном синапсе (НМС) позвоночных основным нейромедиатором выступает ацетилхолин (АХ), который высвобождается из окончания двигательного нерва и активирует постсинаптические никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР) мышечного типа, формируя возбуждающий постсинаптический потенциал. Время воздействия АХ на нАХР контролируется холинэстеразами. НМС представляет собой трехчастный синапс, поскольку терминальные Шванновские клетки (ТШК), покрывающие окончание двигательного нерва, активно участвуют в модуляции процесса нервно-мышечной синаптической передачи возбуждения. Семейство холинэстераз млекопитающих включает два близкородственных фермента, ацетилхолинэстеразу (АХЭ) и бутирилхолинэстеразу (БуХЭ), которые гидролизуют АХ. Важно отметить, что АХЭ в НМС располагается главным образом в синаптической щели, тогда как БуХЭ локализована исключительно на мембране ТШК, вне синаптической щели. Относительно недавно нами была идентифицирована новая петля ауторегуляции секреции АХ в НМС млекопитающих. Было показано, что когда $\alpha 7$ нАХР на ТШК активируются за счет спилловера АХ из синаптической щели, секреция АХ нервным окончанием подавляется. Таким образом, $\alpha 7$ нАХР выступают сенсором для экстраинаптического АХ, а активация данного сенсора на поверхности ТШК контролируется БуХЭ. Кроме того, нами было показано, что активация $\alpha 7$ нАХР в НМС приводит к высвобождению ГАМК, вероятно, в качестве глиотрансмиттера, что, в свою очередь, подавляет секрецию АХ посредством активации ГАМК-В рецепторов. Данная информация о процессе ауторегуляции секреции АХ, в котором принимает участие ТШК, может быть использована для разработки новых способов терапии патологических состояний функционирования НМС? при которых увеличивается спилловер АХ, таких как врожденный дефицит АХЭ или острые отравления ингибиторами холинэстераз. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-15-00344 в части разработки способов терапии отравлений фосфорорганическими пестицидами (К.А. Петров и О.А. Ленина).

РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СИНАПСАХ. ПРЕСИНАПТИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ И РОЛЬ КАЛЬЦИЯ

Д.В. Самигуллин^{1,2}, Н.В. Жиликов¹, А.Ю. Архипов¹, Э.Ф. Хазиев^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ Казанский научный центр РАН; ²Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казань

В периферических нервно-мышечных синапсах передача возбуждения осуществляется путем секреции ацетилхолина (АХ) из двигательных нервных окончаний и его последующего взаимодействия с холинорецепторами постсинаптической мембраны. На мембране нервного окончания и на Шванновской клетке также находятся холинорецепторы, активация которых эндогенным АХ может оказывать модулирующее действие на секрецию последующих порций нейромедиатора. Совместно с АХ из синаптических везикул выделяется АТФ, которая, взаимодействуя с пуриновыми рецепторами, может влиять на процесс нейросекреции. Ведущую роль в инициации и регуляции секреции АХ играют ионы кальция, входящие через потенциал-чувствительные кальциевые каналы и/или освобождающиеся из внутриклеточных кальциевых депо. В наших исследованиях с помощью электрофизиологических методов, мы оценивали, как активация пресинаптических рецепторов разной природы влияет на количество освобождающихся квантов АХ. При помощи флуоресцентных методов измеряли изменение интенсивности свечения кальциевого красителя (кальциевый транзиент) в тех же экспериментальных условиях. Задачей исследования было выяснение роли ионов кальция в регуляции секреции АХ при активации различных пресинаптических рецепторов: холинорецепторов, пуринорецепторов и TRPV1 рецепторов в периферических синапсах холоднокровных и теплокровных животных. Были получены экспериментальные данные о том, что в синапсах холоднокровных животных активация никотиновых, мускариновых и пуринорецепторов приводит к снижению секреции квантов медиатора за счет модуляции работы кальциевых каналов. В синапсах теплокровных животных активация никотиновых рецепторов вызывает увеличение входа кальция в нервное окончание и подавляет секрецию АХ. Активация мускариновых рецепторов приводит к уменьшению выброса квантов медиатора вследствие уменьшения входа кальция через потенциал чувствительные кальциевые каналы, а подавляющее действие на секрецию медиатора при активации пуринорецепторов и TRPV1 рецепторов не связано с модуляцией пресинаптического уровня кальция. Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00490 и выполнена с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

СЕНСОРНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ, ЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И РАЗВИТИЕ КОРТИКАЛЬНОЙ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ ДЕПРЕССИИ У КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНИЕЙ

Г.Ф. Ситдикова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Эпидемиологические данные свидетельствуют о связи высокого уровня гомоцистеина в плазме и риском возникновения мигрени, особенно мигрени с аурой. Однако, экспериментальные доказательства роли гомоцистеина в патогенезе мигрени

отсутствуют. Целью работы был анализ чувствительности крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией (гГЦ) к генерации распространяющейся кортикальной деполяризации (РКД), феномену, лежащему в основе мигрени с аурой. Кроме того мы анализировали механическую чувствительность и уровень тревожности у крыс с гГЦ индуцировали диетой с повышенным уровнем метионина до и во время беременности у самок крыс, в то время как тестирование проводилось на их 6-8-недельном потомстве. РКД и множественную нейрональную активность регистрировали в первичной соматосенсорной коре, S1, внеклеточно с помощью многоканальных электродов. У крыс с гГЦ по сравнению с контролем мы обнаружили: i) более высокую вероятность возникновения РКД; ii) индукцию РКД при аппликации более низких концентраций KCl; iii) более высокую скорость горизонтального распространения РКД; iv) снижение амплитуды и большую длительность РКД; v) более высокую частоту множественных потенциалов действия в начале РКД наряду с задержкой восстановления нейрональной активности после РКД. Анализ поведения показал, что крысы с гГЦ характеризовались высоким уровнем двигательной активности и груминга и в то же время проводили меньше времени в центральной части открытого поля, что указывает на высокий уровень тревожности. Кроме того, в тесте темно-светлая камера крысы с гГЦ проводили больше времени с затемненным отсеке. С помощью волосков Фрея было показано снижение порогов тактильной чувствительности в области вибрисс – участок иннервации тройничного нерва. Таким образом, пренатальная гГЦ, приобретенная при рождении, способствует развитию электрофизиологических и поведенческих коррелятов мигрени, таких как повышенная возбудимость коры головного мозга, аллодиния, фотофобия и тревожность. Полученные данные являются первым экспериментальным объяснением более высокой частоты мигрени с аурой у пациентов с гГЦ. *Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-15-00100).*

ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА: УРОКИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ

М.Ю. Степанчев

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Болезнь Альцгеймера (БА) является фатальным нейродегенеративным заболеванием, патогенез которого остается не ясным, несмотря на более чем столетний период клинических наблюдений и исследований. Отличительная черта заболевания проявляется в длительной задержке между началом болезни и появлением ее симптомов. Это значительно затрудняет как раннюю диагностику заболевания, так и поиск средств коррекции патологии. К наиболее ранним проявлениям БА относят мнестические нарушения, причиной которых является дисфункция холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга. Синтез ацетилхолина в холинергических нейронах базальных ядер осуществляется, благодаря активности фермента холинацетилтрансферазы (ХАТ), экспрессия которого при БА снижается в клетках еще до их гибели. В экспериментальных моделях БА было показано, что нарушения экспрессии ХАТ в холинергических нейронах базальных ядер предшествуют или коррелируют со снижением когнитивных способностей, прежде всего формированием памяти, у животных. При этом число нейронов в базальных ядрах остается сохранным в течение длительного времени. Такое нарушение работы холинергических нейронов базальных ядер может быть связано с нарушением нейротрофического обеспечения, обусловленного снижением содержания фактора роста нервов. Другим вероятным механизмом может быть окислительная модификация мРНК ХАТ в холинергических нейронах базальных ядер, которая приводит к нарушению процессов трансляции белка. Не исключено, что при этом холинергические нейроны базальных ядер могут менять свои фенотипические характеристики, что способствует дальнейшему ухудшению когнитивных функций. Эти данные экспериментальных исследований в значительной степени подтверждают имеющиеся результаты, полученные в исследованиях мозга пациентов, страдающих от БА. Таким образом, наличие периода существования нейронов от момента утраты холинергического фенотипа до начала гибели предоставляет окно для возможных терапевтических воздействий, направленных на выживание и нормализацию их функции. *Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 20-015-00226.*

ФИЗИОЛОГИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

ПАРОДОНТОПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ-ПЕРСИСТЕРЫ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ

И.П.Балмасова^{1,2}, В.Н.Царев¹, С.Д.Арутюнов¹, Р.И.Сепиашвили²

¹Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова МЗ РФ;

²Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки РФ, Москва

Установлено, что все патогенные микроорганизмы производят небольшую субпопуляцию спящих персистирующих клеток, которые обладают временной высокой устойчивостью к уничтожению антибиотиками. Как только концентрация антибиотика падает, выжившие персистеры восстанавливают популяцию, вызывая рецидив хронической инфекции. Следует подчеркнуть, что персистеры – это дремлющие фенотипические варианты обычных бактериальных клеток, а не мутанты, они особенно важны для выживания бактерий в условиях, когда патоген защищен от иммунной системы биопленками или в местах, где влияние иммунных компонентов ограничено – в нервной системе, в желудке или внутри макрофагов. Моделью изучения феномена персистеров в настоящее время служат многие бактерии, однако *Porphyromonas gingivalis*, как и прочие пародонтопатогены, в этом списке пока не значатся. В то же время эти микроорганизмы проявляют целый ряд свойств, которые в принципе зарождают предположение о наличии у них качеств персистера. Уникальность *P. gingivalis* заключается в использовании двух различных тактик инициирования инфекционно-воспалительного процесса в пародонтальных тканях – способность к заселению биопленки и свойство поражать внутриклеточно макрофаги и другие клетки врожденного иммунитета, обеспечивая себе таким образом миграцию в кровоток и далее в другие отдаленные органы и ткани. При этом данные бактерии в значительной мере изменяют свойства макрофагов. Эта особенность позволяет *P. gingivalis* оказывать многочисленные системные эффекты, к числу которых относится участие этих бактерий в патогенезе атеросклероза, сахарного диабета типа 2, ревматоидного артрита, болезни Альцгеймера, репродуктивных нарушений, опухолевых процессах и др. Подобные свойства универсального персистера накладывают свой отпечаток на оценку значения пародонтопатогенов в развитии общесоматической патологии и открывают новые возможности для лечения и профилактики названных патологических процессов.

АЛЬТЕРНАТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ ОРГАНИЗАЦИИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ДОЛГОЖИВУЩИХ ГРЫЗУНОВ

М. Израельсон¹, М. Мецгер², А.Н. Давыдов², И.А. Шагина^{1,3}, А.С. Образцова¹, М. Шугай^{1,3}, Т.О. Наконечная^{1,3}, Л.Н. Барбашова⁴, Г.В. Шаронов^{1, 3, 4}, С.А. Лукьянов², И.Шамс⁵, Д.М. Чудаков^{1,2,3}, О.В. Британова¹

¹Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва; ²Масариков Университет,

Брно, Чехия; ³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва;

⁴Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород; ⁵Институт эволюции, Хайфский университет, Хайфа, Израиль

Современная концепция старения основывается на процессах, связанных с окислительным повреждением биомолекул и увеличением воспалительных процессов в тканях. В то же время, старение обусловлено возрастными изменениями в иммунной системе. В значительной степени эти процессы затрагивают функционирование адаптивного иммунитета, приводя к дисбалансу между Т-клеточными субпопуляциями, клональной экспансии эффекторных Т-клеток памяти и пр. Согласно классической теории, иммунологическая память во многом обуславливает способность организма успешно выживать путем сохранения протективного иммунитета на протяжении длительного времени. В нашем исследовании адаптивного иммунитета у долгоживущих грызунов, относящихся к роду *Spralax*, мы обнаружили ряд особенностей, указывающих на устойчивость этих животных к иммунологическому старению по сравнению с человеком и лабораторными мышами. Ранее показано, что у *Spralax*, как и у голых землекопов, редко развиваются опухоли, что связывают с высокоэффективными репаративными механизмами в клетках этих животных. Мы установили, что у *Spralax* разнообразие Т-клеточных рецепторов остается стабильным на протяжении всей жизни. Крупные клональные экспансии Т-клеток не накапливаются с возрастом, как это наблюдается у людей и мышей. Кроме того, экспрессия основных факторов транскрипции дифференцировки Т-клеток, а также генов, кодирующих “check-point” ингибиторы и цитотоксические факторы, сохраняется на низком уровне даже у самой возрастной группы *Spralax* по сравнению со старыми мышами. Возрастные различия между мышами и *Spralax* были обнаружены и при анализе представленности в репертуаре различных изотипов иммуноглобулинов и их характеристик. Важно отметить, что частота гипермутаций в антителах с возрастом не увеличивалась, что предполагает более коротко живущие В-клетки памяти. Таким образом, на основе полученных результатов можно предположить, что функционирование адаптивного иммунитета у *Spralax* обеспечивается путем поддержания устойчивого разнообразия пула Т- и В-клеточных субпопуляции, а не за счёт формирования высокоспециализированных долгоживущих клеток памяти. По нашему мнению, такая уникальная стратегия вносит существенный вклад в долголетие и “здоровое” старение этого животного. *Работа поддержана грантом Минобрнауки РФ №075-15-2020-807.*

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ И ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Е.В. Ипполитов, А.А. Арутюнян, Е.М. Фомичева, С.Т. Ильясова, Г.Д. Ахмедов

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, Москва

Влияние ФДТ на процессы иммунитета слизистой оболочки, в частности на цитокиновый профиль, остается практически не изученным. Цель исследования: клиническая и иммунологическая оценка эффективности ФДТ в комплексном лечении перимплантита. В исследование были включены пациенты, обратившиеся в стоматологические учреждения г. Москвы и

клинику кафедры хирургической стоматологии МГМСУ в возрасте от 20 до 49 лет с диагнозом периимплантит, всего 61 человек. 33 пациента получали АБТ (основная группа 1), 28 пациентов – ФДТ (основная группа 2). Контрольную группу составили 76 пациентов со стабильными имплантатами без признаков воспаления или пародонтита (интактный периодонт). Концентрацию цитокинов TNF, IL-1 β , IL-6 и IL-17A в ротовой жидкости определяли методом ИФА дважды с использованием анализатора INFINITE F50 (Tecan, Австрия) и тест-систем (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия). Выявлены различия в состоянии цитокинового профиля при АБТ (амоксциллин / клавуланат натрия по 825/125 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней) и ФДТ (аппарат Фотосан 350, фотосенсибилизатор толудиновый синий: 4 сеанса через 1 день по 40 сек). Максимальный цитокиновый ответ наблюдался при оценке ИЛ-1 β (137-139 пг / мл) и ИЛ-17a (161-172 пг / мл). Через 1 месяц были выявлены статистически значимые различия между группами больных периимплантитом, получавших различные варианты лечения. Уровень ФНО- α снизился в 2,5 раза и соответствовал норме в случае ФДТ, но при АБТ он оставался достоверно выше, хотя мы также наблюдали тенденцию к снижению. Уровень ИЛ-17A показал статистически значимое снижение при ФДТ, в то время как при АБТ это снижение не было достоверным. Через 3 месяца после лечения в обеих сравниваемых группах наблюдалась полная нормализация уровней ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-17A, за исключением ИЛ-1 β , который оставался повышенным: в 8,6 раза при ФДТ и в 25 раз при АБТ. Цитокиновый профиль десневой жидкости при периимплантите является важным диагностическим маркером тяжести воспаления, который позволяет подтвердить наличие периимплантита и прогнозировать его течение. Содержание ИЛ-1 β и ИЛ-17A отражает тяжесть течения процесса. Восстановление нормального уровня ИЛ-1 β происходит медленнее, чем ИЛ-17a.

ПАРОДОНТОПАТОГЕНЫ И КЛЕТЧНО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Е.С. Малова¹, И.П. Балмасова^{2,3}, В.Г. Морозов¹, А.А. Рыбкина¹

¹ООО Медицинская компания «Гепатолог», Самара; ²Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова МЗ РФ; ³Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки РФ, Москва

Болезни печени занимают пятое место в списке причин смертности населения, которая все еще продолжает расти. Целый ряд болезней этой группы, в том числе неалкогольную жировую болезнь печени тесно связывают с изменениями и дисфункцией микробиома кишечника. Системный анализ имеющихся данных свидетельствует о том, что пародонтит может быть фактором риска развития и прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени. Особая роль пародонтопатогенов в этом процессе анализируется в данной работе. В патогенезе неалкогольной жировой болезни печени огромное значение принадлежит механизм регуляции с участием так называемых ядерных рецепторов, к числу которых принадлежат в частности, печеночные x-рецепторы (LXR). Передача сигналов с участием LXR изменяет запас энергии в клетке, активирует синтез триглицеридов в печени и их транспорт к периферическим тканям, одновременно способствуя обратному транспорту холестерина из клетки. Что касается значения пародонтопатогенов, в первую очередь, *Porphyromonas gingivalis* для развития неалкогольной жировой болезни печени, то экспериментально было установлено, что повторное пероральное введение приводит к его включению в микробиом кишечника и изменению бактериального состава данного эпитопа. При этом *P. gingivalis* попадает в печень и в значительной степени ускоряет прогрессирование неалкогольной жировой болезни печени в связи с его способностью к внутриклеточному паразитированию в гепатоцитах и макрофагах и влиянию на липидный обмен в этих клетках. Более того, существует и обратная связь между пародонтитом и неалкогольной жировой болезнью печени. Недавно было установлено, что LXR экспрессируют фибробласты десны, благодаря чему они реализуют провоспалительные эффекты при заболеваниях пародонта с потерей костной ткани альвеолярными отростками челюстей. При этом *P. gingivalis* индуцирует снижение уровня липопротеинов высокой плотности, в то же время как у мышей, так и у больных пародонтитом людей уровень липопротеинов низкой плотности значительно повышается, что еще больше усугубляет процессы ожирения, патогенетически связанные с развитием неалкогольной жировой болезнью печени, и открывает новые перспективы исследования ее причин и спектра лекарственных воздействий в процессе лечения.

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ В ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОМ ИММУНИТЕТЕ: ЗАЩИТА И НАПАДЕНИЕ

И.В. Нестерова^{1,2}, Г.А. Чудилова², С.В. Ковалева², В.Н. Павленко², Л.В. Ломтатидзе², Ю.В. Тетерин²

¹Российский университет дружбы народов, Москва; ²Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) играют важную роль в противоинфекционной иммунной защите. Они способны вызывать очень быстрые защитные реакции в борьбе с бактериями, вирусами, грибами. Многочисленные субпопуляции НГ в защитных реакциях уничтожают микробные патогены посредством фагоцитоза, активации микробицидных субстанций гранулярного аппарата и продукции активных форм кислорода, осуществляя внутриклеточный киллинг бактерий. НГ формируют нейтрофильные экстрацеллюлярные сети (NET), которые улавливают патогены и способствуют их внеклеточному убийству и обезвреживанию. НГ секретируют провоспалительные цитокины и другие факторы, инициирующие базисную воспалительную реакцию. С одной стороны, при условии дефектного функционирования НГ при иммунодефицитах: дефицит количества НГ – нейтропения, дефекты фагоцитарной активности, нарушение продукции активных форм кислорода, нарушение формирования NET – полная элиминация микробных патогенов невозможна, на этом фоне возникают нетипично протекающие острые и хронические инфекционно-воспалительные заболевания, трудно поддающиеся лечению терапии. С другой стороны гиперактивированные субпопуляции НГ могут оказывать повреждающее действие на клетки и ткани организма человека. Так, образование на мембране НГ большого количества активных форм кислорода может непосредственно повреждать, как клетки иммунной системы, например, Т лимфоциты, так и клетки различных органов, например, эпителий желудка при хеликобактерном гастрите. NET, индуцированные патогенами, например, вирусом SARS-CoV-2, совместно с

тромбоцитами вызывают формирование иммунотромбозов в сосудах легких, что инициирует развитие острого респираторного дистресс синдрома, или вызывает поражение мелких сосудов, которое проявляется симптомами «обморожения» на лице, кончиках пальцев и т.д. Нами в созданных *in vitro* моделях вирусной, бактериальной и вирусно-бактериальной инфекций показана негативная трансформация фенотипа различных субпопуляций НГ. Разработаны экспериментальные подходы к ремодулированию фенотипа дефектных и гиперактивированных субпопуляций НГ. Продемонстрировано в эксперименте *in vitro* восстановление дефектных функций и фенотипа субпопуляций НГ при нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваниях различной этиологии.

АГРЕССИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОБНОЙ БИОПЛЁНКИ РТА И МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ: ДИАЛЕКТИКА ВЗАИМОСВЯЗЕЙ И ВЛИЯНИЙ TLR

В.Н. Царёв, Е.В. Ипполитов, Е.Н. Николаева, Т.В. Царёва

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, Москва

Известно, что ряд агрессивных представителей пародонтопатогенных бактерий, например, *P. gingivalis*, проникают в дендритные клетки, макрофаги и нейтрофилы, влияя на секреторные, миграционные и антигенпрезентирующие функции этих клеток. Одним из факторов реагирования врожденного иммунитета на микробную агрессию считают рецепторы клеток слизистой – TLR. Цель исследования: оценить экспрессию TLR при одновременном изучении биоплёнки пародонта и продемонстрировать значимые взаимосвязи орального микробиома и мукозального иммунитета при патологии пародонта. Обследовали 370 больных с воспалительными заболеваниями пародонта (хронический пародонтит, хронический катаральный гингивит, кандидо-ассоциированный пародонтит) в возрасте от 21 до 59 лет, давность заболевания – от 3-х до 10-и лет (в среднем – 5,5 года), а также 70 человек с интактным пародонтом. Применяли метод FITC-ИФЛ, ПЦР, анаэробное культивирование бактерий; непараметрические критерии по Манну–Уитни, Фишера; корреляционный анализ (пакетов программ SPSS v15). В выборке по 20 чел. на группу анализировали состав микробиома биоплёнки и клеточную составляющую (оронеитрофилы и макрофаги) с помощью FITC-ИФЛ (с двойной меткой) выявляли CD14/CD282 (TLR2), CD3/CD2844 (TLR4) на клетках выделенных из десневой жидкости. Установлено, что при хроническом пародонтите при высокой частоте выделения *P. gingivalis* (68%) экспрессия TLR2 была выше на моноцитах (Мц), но ниже на нейтрофилах (Нф) и лимфоцитах (Лц) по сравнению с контролем; экспрессия TLR4 – выше на Мц и Лц, но ниже на Нф. У больных катаральным гингивитом, напротив TLR2 больше всего экспрессировали Лц, меньше – Мц и Нф, а TLR4 было больше на Мц, меньше – на Лц и Нф. У пациентов с кандидо-ассоциированным пародонтитом преобладали CD28²⁺Мц, меньше выявляли CD28²⁺Лц и CD28²⁺Нф. Суммарно уменьшение экспрессии TLR4 наблюдали в ряду: моноциты – нейтрофилы – лимфоциты ($p < 0,05$). При сопоставлении с данными бактериологического исследования и ПЦР-диагностики подтверждено, что колонизация биоплёнки представителями пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* и грибов *C. albicans* блокирует цитокин-опосредованные механизмы врожденного иммунитета, в том числе миграцию дендритных клеток и макрофагов в очаг воспаления. Установлено, что при снижении экспрессии TLR2,4 инициируется уклонение *P. gingivalis* и, возможно, других видов пародонтопатогенов от активации механизмов внутриклеточного лизиса, что обеспечивает внутриклеточную нишу для их паразитирования, персистенции и последующих системных эффектов.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА РАННИХ СТАДИЯХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

М.Ф. Иванов¹, А.В. Жестков¹, И.П. Балмасова^{2,3}

¹Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, Самара; ²Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, Москва; ³Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки РФ, Москва

В конце первой недели развития геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), то есть в олигоурический период, серологический диагноз данного заболевания еще неэффективен, а в иммунологических сдвигах преобладают два механизма – иммунная реакция на почечное повреждение и противовирусный иммунный ответ. Целью настоящего исследования послужило выявление особенностей проявления каждого из обозначенных механизмов как способа повышения эффективности ранней диагностики ГЛПС. Клинический материал включал 110 человек, которые составили 4 группы исследования – основную группу ГЛПС в составе 65 пациентов, группу сравнения из 10 пациентов с острой почечной недостаточностью токсической природы вследствие отравления суррогатами алкоголя и контрольную группу из 15 доноров отделения переливания крови. Иммунологические исследования клеточного состава лимфоцитов проводились методом проточной цитофлуориметрии. Статистическая обработка результатов осуществлялась на основе пакета статистических программ SPSS. Сравнение ГЛПС в олигоурический период и острой почечной недостаточности (ОПН) токсической природы выявляло различия, которые касались, прежде всего, лимфоцитов, задействованных в реакциях врожденного иммунитета и регуляторных Т-клеток. Клетки адаптивного иммунного ответа в формировании указанных различий участия не принимали на фоне достоверного снижения активности Т-лимфоцитов с участием рецептора для ИЛ-2 (CD25), особенно при ОПН токсической природы. В последнем случае это можно объяснить общетоксическим воздействием на лимфоциты при отсутствии антигенного стимула, а при ГЛПС падение числа активированных Т-лимфоцитов происходило, по всей вероятности, в связи с резко возрастающей активностью CD4⁺ и CD8⁺ регуляторных Т-клеток, не наблюдавшейся при токсической ОПН. Реакция лимфоцитов врожденного иммунитета также кардинально различалась при ОПН вирусного и токсического генеза. В стадию анурии высокую вероятность ГЛПС подтверждают: содержание в крови CD4⁺ регуляторных Т-клеток >8% при AUC=0,98 и CD8⁺ регуляторных Т-клеток >9% при AUC = 0,961; доля цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих лектиновый активирующий рецептор NKG2D, среди лимфоцитов крови >30% при AUC=0,775 и естественных киллеров >17% при AUC=0,861.

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К Т-КЛЕТОЧНОМУ РЕЦЕПТОРУ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

И.А. Шагина^{1,2}, Г.В. Шаронов^{2,3}, К.Г. Корнева³, В.Л. Загайнов³, В. Скатова², М.В. Погорелый¹, И.В. Звягин^{1,2},
М.А. Израельсон^{1,2}, О.В. Британова^{1,2}, Д.М. Чудаков^{1,2}

¹Отдел геномики адаптивного иммунитета, Институт биоорганической химии им. М.М. Шенякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва; ²Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт трансляционной медицины, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва; ³Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород

Широкий спектр моноклональных антител (МА) эффективно применяется в настоящее время для терапии аутоиммунных заболеваний. Перспективным направлением выглядит создание МА против переменных доменов Т-клеточных рецепторов (ТКР) аутореактивных клонов, поиск которых одна из актуальных задач современной биомедицины. В результате анализа репертуаров ТКР удалось установить Т-клеточные клоны, потенциально вовлеченные в патогенез анкилозирующего спондилита (АС). АС-ассоциированные ТКР содержат определенный генный сегмент, кодирующий переменный домен β-цепи. Антитела к такому сегменту могут быть использованы как инструмент для изучения АС, а также как препарат для таргетной терапии АС. Другой подход, направленный на поиск аутореактивных лимфоцитов, был применен нами в случае сахарного диабета 1 типа. В исследование были включены пациенты до 16 лет на ранней стадии развития заболевания. Ключевую роль на этой стадии играет Т-клеточный иммунитет, а не гуморальный, как на более поздних стадиях. Именно у таких пациентов селективная деплеция подсемейства Т-лимфоцитов, содержащих аутоиммунные клоны, может позволить устранить причину и остановить развитие патологии. Для когорты пациентов мы определили HLA генотип и провели анализ репертуаров ТКР циркулирующих в крови Т-лимфоцитов. С помощью разработанного ранее алгоритма (ALICE) были построены кластеры клонотипов с похожими ТКР, которые могут быть активно вовлечены в иммунологическую реакцию и с высокой вероятностью узнать один эпитоп. На следующем этапе образцы пациентов с выраженным присутствием таких кластеров были включены в эксперимент по получению *in vitro* Т-лимфоцитов, обогащенных Т-клонами, специфическими к диабетическим антигенами. Активно делящиеся CD4⁺ и CD8⁺ лимфоциты, предварительно стимулированные смесью пептидных антигенов инсулина, GAD-65 и IA-2, сортировались для последующего изучения их Т-клеточных рецепторов с помощью NGS. Мы надеемся, что анализ полученных данных позволит выявить аутореактивные клоны и подтвердить их специфичность, а в дальнейшем использовать их в качестве мишеней для направленной иммунотерапии. Работа поддержана грантом Минобрнауки РФ № 075-15-2019-1789.

НОВЫЙ ИНТЕГРАЦИОННЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ – ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ИСХОДА БОЛЕЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

М.Г. Атажахова¹, Г.А. Чудилова¹, И.В. Нестерова^{1,2}

¹Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Краснодар; ²Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки РФ, Москва

У пациентов с COVID-19, находившихся на стационарном лечении, после выписки нередко отмечается выраженная слабость, повышенная утомляемость, потливость, одышка, субфебрильная Т. У таких пациентов крайне важно оценить диагностические маркеры – предикторы возможных осложнений бактериальной природы, которые утяжеляют течение вирусных инфекций. Цель исследования: разработать новый интегративный диагностический показатель – прогностический маркер исхода болезни у пациентов с COVID-19 средней и тяжелой степени тяжести на базе уточнения соотношений нейтрофильных гранулоцитов (НГ) и лимфоцитов (ЛФ), и их взаимосвязи с уровнем СРБ. Исследовано 180 образцов периферической крови (ПК) 60 пациентов 38-82 лет с COVID-19 средней степени тяжести: 1-й забор ПК – при поступлении, 2-й забор ПК – во время лечения, 3-й забор ПК – при выписке из стационара и 100 образцов условно-здоровых взрослых лиц (группа сравнения). Изучалось количество лейкоцитов (L), %НГ и %ЛФ с уровнем СРБ. Отмечено, что у пациентов с COVID-19 наблюдается выраженная лимфопения, нейтрофилез и значительное повышение СРБ. Разработан новый интегративный диагностический показатель (ИДП), объединяющий соотношение %НГ и %ЛФ с уровнем СРБ:
$$\text{ИДП} = \frac{\% \text{НГ} \times \text{СРБ}}{\% \text{ЛФ}}$$
. Показано увеличение коэффициента ИДП: при 1 заборе ПК-70,8(47,5;153,8) в 15 раз; при 2 заборе ПК-76,2(59,9;158,2) в 17 раз; при 3 заборе ПК-34,9(29,3;49,1) в 8 раз ($p_{1,2,3} < 0,05$) против группы сравнения-4,5(2,9;6,4). При 3 заборе отмечается снижение ИДП по сравнению с 1 и 2 заборами ПК, но ИДП остается высоким по отношению к значениям группы сравнения. Установлено, что на этапах лечения и при выписке пациентов с COVID-19 сохраняется повышенный уровень НГ и СРБ, при пониженном уровне ЛФ. Разработанный интегральный диагностический показатель – ИДП с одной стороны хорошо коррелирует со значительным улучшением клинической картины COVID-19, с другой стороны он остается значительно (в 8 раз) выше показателей характерных для условно здоровых взрослых лиц. Высокий ИДП у пациентов после перенесенного COVID-19 является с нашей точки зрения предиктором возможных осложнений, в первую очередь, бактериальной этиологии, требует проявления настороженности врачей, наблюдающих таких пациентов в дальнейшем в амбулаторных условиях.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПЕРТУАРА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В-ЛИМФОЦИТОВ, РАСПОЗНАЮЩИХ RBD-БЕЛОК ВИРУСА SARS-CoV-2

М.Т. Вахитова^{1,2}, Е.М. Мерзляк^{1,2}, А.Н. Давыдов³, О.В. Британова^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва; ³Центральноевропейский технологический институт, Брно, Чехия

В рамках исследования формирования репертуара иммуноглобулинов в ответ на острое течение коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, были получены образцы периферической крови от 4 доноров с острым течением заболевания. Для всех доноров предварительно проводилось подтверждение наличия антител в сыворотке против RBD (receptor binding domain) – фрагмента поверхностного белка Spike коронавируса, являющегося мишенью для большинства нейтрализующих антител. Выделение мононуклеарной фракции проводили методом центрифугирования в градиенте фиколла. Обогащение В-клетками проводили методом магнитной сепарации, с использованием CD19 маркера. RBD-специфичные В-клетки выделяли с помощью проточной цитометрии, отделяя наивные В-клетки и используя флуоресцентно меченый антиген (RBD). Подробнее, проводили клеточную сортировку, трех популяций: а) RBD-специфичных В-клеток памяти, б) RBD-специфичных наивных В-клеток, в) В-клеток памяти, не связывающих RBD. Из полученных популяций были выделены препараты суммарной РНК. Поскольку популяции а) и б) содержали малое количество клеток, первоначально были получены кДНК библиотеки, которые впоследствии использовали для получения репертуара тяжелой цепи методом мультиплекс амплификации; для негативной популяции были получены репертуары тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов методом 5'RACE. Полученные библиотеки были секвенированы методом NGS. Данные были обработаны с помощью пакета программ MiNNN и MiXCR (MiLaboratory). В результате был получен репертуар BCR отсортированных популяций В-клеток. В подавляющем большинстве найденные последовательности относились к иммуноглобулину класса М, что указывает на их принадлежность к раннему ответу. Не было показано пересечение репертуаров между донорами и между сортированными популяциями внутри одного донора. Однако в RBD-специфичных популяциях В-клеток были найдены высоко представленные последовательности, занимающие от 10-90% репертуара. Доказательство специфичности полученных последовательностей иммуноглобулинов к RBD может быть показано путем экспрессии в гетерологической системе с последующей проверкой препаратов методом ИФА. Работа поддержана Грантом Минобрнауки РФ №075-15-2020-807.

ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСАМИ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА И ГЕПАТИТОВ В И С

Е.П. Ефратова¹, Г.М. Кожевникова²

¹Клинический центр профилактики и борьбы со СПИД, Самара; ²Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки РФ, Москва

Предыдущими исследованиями было установлено, что в тех случаях, когда человек инфицируется несколькими возбудителями, обладающими иммунотропностью и способными вызывать хронический инфекционный процесс, качество иммунного ответа на коинфекцию зависит от порядка поступления возбудителей в организм человека. В данном случае целью работы послужило исследование этого феномена при инфицировании вирусами иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусами гепатитов С (ВГС) и В (ВГВ). В этой ситуации причиной смертности больных, как правило, служили цирроз печени либо гепатоклеточная карцинома. Под наблюдением в течение 1 года находились 52 человека в возрасте от 31 до 51 года, среди которых 78% составляли мужчины. ВИЧ-инфекция находилась на стадии 4А-4Б, у больных регистрировался фиброз печени на разных стадиях развития. Все больные получали противовирусную терапию. Ключевым принципом оценки течения хронических гепатитов В и С служило изменение показателей эластометрии печени в течение срока наблюдения с определением прогрессирующего, стабильного или регрессирующего течения, а также характер иммунологических сдвигов. На долю больных, у которых заражение ВИЧ происходило раньше, чем ВГС и ВГВ, приходилось 65%, и 35% составляли пациенты с более ранним заражением вирусами гепатитов, чем ВИЧ. В тех случаях, когда первым патогеном служил ВИЧ, прогрессирующий фиброз печени наблюдался в 36% случаев и только у 10% больных наблюдался регресс фиброзных изменений. Если первым патогеном были вирусы гепатитов В и С, то прогрессирующий фиброз встречался примерно с той же частотой (33%), в то время как регресс фиброзного процесса регистрировался многократно чаще – у 50% пациентов. Этому во многом сопутствовал разный характер иммунологических сдвигов, в первую очередь, со стороны CD8⁺ Т-лимфоцитов, число которых проявляло отрицательную корреляционную связь показателями эластометрии у больных, первично инфицированных ВИЧ, и положительные корреляции при первичном инфицировании вирусами гепатитов В и С. Таким образом, порядок инфицирования ВИЧ, ВГС и ВГВ оказывает значительное влияние на прогноз течения коинфекции и требует обязательного учета при формировании тактики лечебных мероприятий у таких больных.

ВЛИЯНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МНС-II НА РЕПЕРТУАР ТКР И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ CD4+ ЛИМФОЦИТОВ

В.В. Крюкова^{1,2}, Н.Н. Логунова³, П.В. Шелякин¹, Д.Б. Староверов¹, Е.С. Егоров¹, Е.М. Мерзляк¹, Д.М. Чудаков^{1,2}, О.В. Британова¹

¹Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²Сколковский институт науки и технологий; ³ЦНИИ туберкулеза, Москва

Адаптивный Т-клеточный иммунный ответ осуществляется за счет распознавания Т-клеточными рецепторами (ТКР) антигенных пептидов в комплексе с МНС. Основной вклад в распознавание непосредственно антигена в составе комплекса пептид-МНС вносят CDR3 участки цепей ТКР. Важно, что такое взаимодействие ТКР с комплексом пептид-МНС определяет как формирование репертуаров ТКР наивных Т-лимфоцитов, так и вовлечение Т-клеток в эффекторные иммунные реак-

ции. В данном исследовании мы использовали две линии мышей конгенных по МНС-II (H2-A): C57Bl/6, несущих аллель H2-Ab, и B6.I-9.3.19.8, несущих аллель H2-Aj. Селекция CD4⁺ Т-лимфоцитов на единственной j-аллели МНС-II ведет к численному сокращению CD4⁺ Т-лимфоцитов по сравнению с конгенной линией, несущей аллель H2-Ab. Также отметим, что H2-Aj аллель ассоциирована с более высокой чувствительностью к туберкулезу. С помощью клеточной сортировки мы получили наивные CD4⁺Foxp3⁺ регуляторные (nTreg) и CD4⁺Foxp3⁻ конвенциональные Т-клетки (nTconv). Мы приготовили кДНК библиотеки репертуаров α- и β-цепей ТКР с использованием технологии 5'-RACE и молекулярных баркодов. Результаты секвенирования библиотек показали, что селекция на H2-Aj формирует менее разнообразный репертуар ТКР nTconv лимфоцитов с более выраженной клональной структурой, что соотносится с селекцией меньшего числа CD4⁺ Т-клеток. Также, одним из ключевых отличий является селекция на H2-Aj репертуаров ТКР с отличными по свойствам аминокислот CDR3α и CDR3β участками: в среднем содержится большее число гидрофобных и ароматических аминокислот, которые, согласно литературным данным, могут способствовать кросс-реактивности ТКР. В подтверждение ранних работ, nTreg обеих линий мышей имеют более высокое среднее число гидрофобных и ароматических аминокислот в центре CDR3α и CDR3β по сравнению с соответствующими nTconv. Однако, эта разница оказалась более выраженной для мышей, несущих j-аллель. В ходе проведения функциональных тестов оказалось, что Treg, прошедшие селекцию на j-аллели способны более эффективно подавлять пролиферацию CD4⁺ Tconv лимфоцитов. Мы предполагаем, что в такой *in vitro* системе мы наблюдаем, как обнаруженные различия в репертуарах ТКР влияют на функциональные свойства CD4⁺ Т-клеток. *Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ 075-15-2020-807.*

МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ГЕКСАПЕПТИДА – АРГИНИЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА НА ФЕНОТИП ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ СУБПОПУЛЯЦИИ CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ И CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С НЕОТГРАНИЧЕННЫМ И РАЗЛИТЫМ ТЕЧЕНИЕМ ПЕРИТОНИТА

В.Н. Павленко¹, Г.А. Чудилова¹, И.В. Нестерова^{1,2}

¹Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Краснодар; ²Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва

Проблема ранней диагностики и своевременной медицинской помощи при перитонитах у детей остается крайне актуальной. Особенности течения воспалительного процесса в брюшной полости во многом зависят от работы нейтрофильных гранулоцитов (НГ), поэтому представляет интерес изучение возможности переориентации фенотипа субпопуляций НГ, отвечающих за эффекторные функции под влиянием гексапептида – аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин (ГП) при различных формах перитонита у детей. Цель: изучить влияние ГП на фенотип и содержание НГ субпопуляций CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ у детей с различными формами перитонита в системе *in vitro*. Исследовано 52 образца периферической крови (ПК) 17 детей с неотграниченным перитонитом (гр. 1, n=12) и разлитым перитонитом (гр. 2, n=5) и 18 условно-здоровых детей (гр. сравнения) 5–12 лет. Проведено иммунофенотипирование CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ с учетом плотности экспрессии рецепторов (MFI). Субпопуляции НГ оценивались до и после инкубации *in vitro* ПК с ГП (10⁻⁶ г/л; t-37°C, 60 мин). Установлено снижение количества CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ: в гр.1 (в 1,3 раза, p<0,05) с повышенной MFI CD16 – 99,8(85,6;105,0) против 83,7(79,0;99,3)(p<0,05), MFI CD11b – 22,7(18,3;32,0) против 17,5(14,7;21,0)(p>0,05), повышение CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ в 42 раза до 25,2(20,6;31,0) с измененным фенотипом: сниженной в 2 раза MFI CD64 и CD32 (p_{1,2}<0,05) и высокой MFI CD11b (p<0,05). Аналогичные но более выраженные изменения выявлены в гр.2: снижение %CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ до 29,6(18,1;45,2)% с низкими MFI CD16 (в 2 раза, p<0,05); повышение %CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ- в 100 раз, с измененным фенотипом. Установлен модулирующий эффект ГП проявляющийся в снижении MFI 16 и CD11b в субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ как в гр.1 так и гр.2 (p_{1,2}<0,05) до показателей условно-здоровых детей, и выраженной тенденции снижения количества CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ (p>0,05) и повышения MFI CD16, MFI CD32 и снижения MFI CD11b (p<0,05). Полученные данные оцениваются, как положительный иммуномодулирующий эффект ГП, что служит обоснованием для возможности применения лекарственной формы данной субстанции в коррекции дисфункций НГ у детей с различными формами перитонитов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90069.

ФИЗИОЛОГИЯ ПРОЦЕССОВ МОРФОГЕНЕЗА И РЕГЕНЕРАЦИИ

ФОРМИРОВАНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СОЦИАЛЬНОМ СТРЕССЕ У МЫШЕЙ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Н.П. Бондарь, А.С. Шулюпова, Н.И. Ершов, П.Э. Кисаретова, Н.Г. Созонов, А.А. Сапронова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Хронический стресс часто приводит развитию различных психопатологий и обычно связан с изменением функции ГГНС. Повышенный уровень глюкокортикоидных (ГК) гормонов в крови вызывает сначала острую реакцию организма, которая в дальнейшем затухает, даже при продолжающейся стимуляции глюкокортикоидами. Известно, что степень резистентности к повышенному уровню гормона может влиять на эффективность терапии при лечении стресс-индуцированных психопатологий. С целью выявления молекулярных основ формирования ГК-резистентности мы проанализировали влияние хроническо-

го социального стресса на транскриптом префронтальной коры головного мозга на экспериментальной модели депрессии. Мы оценили уровень экспрессии генов у контрольных мышей линии C57BL/6 и мышей с опытом стресса в течение 30ти дней, как в базальном состоянии, так и при дополнительной стимуляции дексаметазоном. Введение дексаметазона позволило смоделировать ситуацию повышения уровня глюкокортикоидов и активации глюкокортикоидного рецептора. Анализ полученных результатов выявил нарушения в регуляции генов, вызванные депрессией и сопутствующей резистентностью к ГК гормонам, включая изменения уровня экспрессии генов и соотношения альтернативных транскриптов у депрессивных животных. Введение дексаметазона приводит к изменению уровня экспрессии около 1500 генов у контроля, однако треть из них изменяет свою реакцию у депрессивных животных. Функции этих генов связаны, в основном, с нейропластичностью и ответом на стресс. Так, например, у депрессивных животных не происходит снижение уровня экспрессии гена *Bdnf* в ответ на стимуляцию дексаметазоном, при этом ген самого глюкокортикоидного рецептора *Nr3c1* и его ко-фактора *Fkbp5* не изменяют свою регуляцию. Сопоставление молекулярных изменений с поведенческими характеристиками животных выявило различия в ответе транскриптома в зависимости от степени выраженности депрессивного состояния. Таким образом, наши данные показывают, что депрессия может быть вызвана ослаблением реакции на стрессовые факторы окружающей среды как с точки зрения поведения, так и с точки зрения экспрессии генов. Результаты также подтверждают гипотезу о том, что развитие депрессии связано с нарушением клеточной адгезии и нейрональной пластичности. *Работа поддержана Российским научным фондом, проект №21-15-00142.*

ДЕЙСТВИЕ ПТГ НА МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ИНДУЦИРУЕТ ИФЗ- ИЛИ САМР-ЗАВИСИМОЕ ПОВЫШЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО УРОВНЯ КАЛЬЦИЯ, ЧТО ОПРЕДЕЛЯЕТ ВЫБОР МЕЖДУ АНТИ- ИЛИ ПРООСТЕОГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ ГОРМОНА

М.В. Воронцова^{1,2}, П.А. Тюрин-Кузьмин³, К.Ю. Кулебякин^{1,3}, М.Ю. Николаев³, Л.С. Созаева^{1,2}

¹Институт регенеративной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²НМИЦ эндокринологии МЗ РФ; ³Кафедра биохимии и молекулярной медицины, Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

В течение жизни в организме человека происходит постоянное обновление костной ткани. Нарушение процессов обновления кости, связанных с дифференцировкой новых остеобластов приводит к развитию множества социально-значимых заболеваний, таких как остеопороз, Болезнь Педжета, и др. Процессы ремоделирования костей находятся под строгой нейрогуморальной регуляцией, ключевую роль в которой играет паратиреоидный гормон (ПТГ). Действуя на мультипотентные стромальные клетки (МСК), являющиеся предшественниками остеобластов во взрослом организме, ПТГ активирует формирование костной ткани. С другой стороны, широко описано также и антиостеогенное действие ПТГ. Механизмы подобного двойственного эффекта ПТГ на костеобразование в настоящий момент малоизучены, что ограничивает возможность его использования для разработки новых подходов к терапии заболеваний, связанных с нарушением ремоделирования костей. В связи с этим, установление молекулярных механизмов влияния ПТГ на процессы дифференцировки МСК в остеогенном направлении представляется крайне актуальным.

Используя метод регистрации уровня кальция в единичных клетках, мы обнаружили, что ПТГ способен вызывать три типа кальциевых сигналов в МСК: 1) одиночное транзитное повышение внутриклеточного Ca^{2+} , зависящее от ИФЗ; 2) ИФЗ-зависимые кальциевые осцилляции; 3) плавное цАМФ-зависимое повышение внутриклеточного Ca^{2+} . Мы также установили, что МСК, полученные из различных организменных депо, отличаются по преимущественному типу Ca^{2+} ответа на ПТГ: для клеток, полученных из надкостницы, более характерны осцилляции Ca^{2+} , в то время как клетки из жировой ткани чаще отвечают плавным повышением внутриклеточного Ca^{2+} . При этом на уровне целой популяции преимущественный вариант ответа определяет активирующее или ингибирующее действие ПТГ на остеогенез. Индуцируемые осцилляции коррелируют с подавлением остеогенеза под действием ПТГ, а цАМФ-зависимый прирост Ca^{2+} – с усилением остеогенной дифференцировки под действием ПТГ. Используя ингибиторы ИФЗ и сАМР зависимой сигнализации, мы установили, что в МСК возможно переключение типа кальциевых сигналов, формирующихся в ответ на ПТГ. Это переключение изменяет эффект, оказываемый ПТГ на остеогенную дифференцировку, что открывает перспективы для разработки методов направленной регуляции остеогенеза в организме.

ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ НИШИ, СТРОМАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ И МОРФОГЕНЕЗ

Е.А. Воротеляк, Е.П. Калабушева, А.Л. Риппа, Е.В. Киселева, Е.В. Алпева, Е.И. Моргун

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

Регуляция дифференцировки стволовых или морфогенетически активных клеток-предшественников в эмбриональном развитии, поддержании самообновляющихся тканей во взрослом организме и при регенерации осуществляется в значительной мере специализированным микроокружением – нишей. Основными компонентами ниши являются растворимые белковые факторы, компоненты внеклеточного матрикса, межклеточные контакты и механические взаимодействия, формируемые окружающими клеточными популяциями и межклеточным веществом. Для эпителиальных клеток микроокружение формируется соседними клетками на разных этапах дифференцировки, резидентными иммунными клетками (макрофаги, лимфоциты), окружающими нервными окончаниями и сосудами. Одним из важнейших компонентов микроокружения эпителиев являются мезенхимные клетки стромы или других специализированных соединительных тканей. Можно предположить, что поскольку в онтогенезе происходит последовательная смена ниш, поддерживающих определенный этап развития и клеточной дифференцировки, в конечном итоге морфогенетически активные компоненты стромы замещаются стабильными, которые обеспечивают тканевой гомеостаз. В таких органах, как кожа и легкие, стромальный компонент ниши подвержен динамическим изменениям, обеспечивающим функционирование эпителиальных стволовых клеток, морфогенез и регенерацию. Идентификация субпопуляций стромальных клеток указывает на значительную гетерогенность этого тканевого компартмента и различную активность субпопуляций в отношении морфогенетических событий в ходе развития и регенерации эпители-

альной ткани. Стромальные элементы с определенным «клеточным портретом» обеспечивают эффективную регенерацию, однако могут быть вытеснены морфогенетически неактивными клетками. Это позволяет надеяться на возможность влияния на регенерацию и морфогенез путем стимуляции определенных элементов стромы. *Работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-74-30015).*

ЭПИКАРДИАЛЬНЫЙ ПУЛ КЛЕТОК МЕЗОТЕЛИЯ СЕРДЦА. БАЛАНС МЕЖДУ РЕПАРАЦИЕЙ И РАЗВИТИЕМ СЕРДЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

К.В. Дергилев, Е.В. Парфенова

НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

Процессы репаративной регенерации сердца, хорошо выраженные у низших позвоночных, крайне слабо представлены в сердце млекопитающих, что не позволяет ему восстанавливаться при обширных повреждениях и лежит в основе развития многих кардиологических заболеваний. Учитывая ограниченные возможности современной медицины по восстановлению утраченных в результате патологических процессов клеток сердца новыми перспективными направлениями исследований является изучение эндогенных механизмов репарации/регенерации. В последние годы внимание исследователей привлечено к изучению эпикарда — наружного мембраноподобного слоя, граничащего с миокардом и образованного гетерогенной популяцией мезотелиоподобных клеток и белками внеклеточного матрикса. Эпикард принимает активное участие в эмбриогенезе сердца и его репарации при повреждении, что позволяет его рассматривать в качестве потенциальной мишени для терапевтического воздействия. В связи с этим изучение механизмов его развития, компонентов микроокружения, а также сигналов, регулирующих поведение эпикардиальных клеток, является важнейшей задачей современной кардиологии. В докладе рассмотрены результаты исследований по изучению гомеостаза клеток эпикарда и технологические достижения, позволяющие модулировать его активность, что крайне необходимо для разработки новых средств таргетного воздействия. *При финансовой поддержке гранта РФФИ 17-15-01368П.*

ВЛИЯНИЕ ЛЕЙЦИНА, АЭРОБНЫХ НАГРУЗОК И ВОЗРАСТА НА ЭКСПРЕССИЮ IGF1 И КОЛЛАГЕНОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА

В.Э. Дубров, Д.В. Попов, Е.А. Леднев

Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Скелетная мышца является высокопластичной тканью, в которой уже при краткосрочной гипокинезии происходят выраженное снижение мышечного тонуса и силы, площади поперечного сечения мышечных волокон и их окислительных возможностей, синтеза белков, падает работоспособность и увеличивается повреждаемость мышц при физической нагрузке, растет болевой синдром.

Одна из причин появления мышечных болей после физических нагрузок связана с нарушением целостности мышечных мембран, поэтому увеличение как их жесткостных свойств, так и свойств внеклеточного матрикса (ВКМ) может быть эффективным для увеличения толерантности к нагрузкам. Ранее было показано, что IGF1 играет важную роль в регуляции экспрессии коллагенов и биогенезе внеклеточного матрикса скелетных мышц и сухожилий, поэтому исследование механизмов IGF1-зависимой регуляции биогенеза ВКМ является одним из перспективных направлений как в травматологии, так и в физиологии мышечной деятельности. Настоящее исследование выполнено на клеточной культуре первичных миотуб скелетной мышцы молодых людей, испытывавших высокоинтенсивные аэробные нагрузки и принимавших незаменимые аминокислоты, содержащих лейцин. Для дополнительной оценки способности лейцина увеличивать экспрессию IGF1 в скелетной мышце было проведено исследование добровольцев среднего возраста на фоне привычной для них низкой физической активности.

При сравнении уровня экспрессии IGF1 в мышце между добровольцами молодого и среднего возраста и между добровольцами высокой и низкой физической активности было установлено, что аэробная физическая активность оказывает наиболее выраженное влияние на уровень экспрессии IGF1 в скелетной мышце, а возраст подобного влияния не имеет. Интегральная оценка эксперимента позволяет заключить, что длительный прием незаменимых аминокислот, содержащих лейцин, у молодых мужчин на фоне больших объемов аэробной физической нагрузки приводит к выраженному увеличению базального уровня IGF1 в клетках не только на уровне экспрессии, но и на уровне секреции белка миоцитами, росту концентрации IGF1 в плазме крови, небольшому росту уровня мРНК *IGF1Ea* в скелетной мышце, снижению поврежденности мышечных мембран с ростом экономичности бега, а у нетренированных мужчин среднего возраста — не оказывает значимого влияния ни на экспрессию IGF1 на системном уровне и в скелетной мышце, ни на показатели, характеризующие жесткость скелетной мышцы и поврежденность мышечных мембран. Регулярные аэробные физические нагрузки выражено увеличивают базальную экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов в скелетной мышце.

ПОЛУЧЕНИЕ 2D И 3D КУЛЬТУР ХОНДРОЦИТОВ ИЗ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИПСК

А.В. Еремеев¹, М.Е. Богомякова¹, Т.В. Владимирова¹, Е.С. Ручко², М.А. Лагарькова¹

¹ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России; ²Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

Восстановление структуры гиалинового хряща — сложная задача в связи со слабым регенераторным потенциалом и гистологическими особенностями хрящевой ткани. В случае глюкокортикоидной, лучевой и химиотерапии регенеративный потенциал хрящевой ткани практически теряется, и даже с помощью клеточных технологий невозможно получить аутологичный материал для получения клеточного продукта для ее восстановления. Одним из возможных путей решения этой про-

блемы может быть использование индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК), обладающих неограниченным пролиферативным и дифференцировочным потенциалом. Хотя получение аутологичных ИПСК решает проблему иммунной совместимости, это достаточно длительный и дорогостоящий процесс, что не позволяет получать продукт “on a shelf”, который можно сразу использовать для получения различных дифференцированных производных. Перспективным подходом представляется создание и применение для этих целей ИПСК с пониженной иммуногенностью. Такие линии можно после получения и валидации использовать для создания разных типов БМКП, в том числе на основе хондроцитов, для последующего создания клеточных и тканеинженерных продуктов для трансплантации. Таким образом, ИПСК могут решить основную проблему дефицита донорского материала, когда его невозможно получить от пациента по показаниям или при наличии серьезной патологии. Нами была исследована возможность получения как двумерных (2D) так и сфероидных (3D) культур хондроцитов, полученных путем направленной дифференцировки из двух линий ИПСК, одна из которых – с нокаутом бета-2-микроглобулина, не экспрессирует на поверхности HLA класса I. В сравнении с хондроцитами, полученными из биоптатов хрящевой ткани пациентов, иммуноцитохимически, а также с помощью PCR в реальном времени оценивали экспрессию хондрогенных маркеров (Sox9, Aggrecan, Collagen 1 и 2 типа), и функциональную активность клеток по синтезу внеклеточных компонентов – гликозаминогликанов с помощью окрашивания Альциановым синим или Сафранином O. Была показана способность хондроцитов, полученных из ИПСК обеих линий, аналогично клеткам нативного хряща, к синтезу вышеперечисленных маркеров и образованию 3D структур – сфероидов, что позволяет использовать данный подход для разработки биомедицинских клеточных продуктов.

МЕХАНИЗМЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ОБНОВЛЕНИЯ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

К.Ю. Кулебякин^{1,2}, П.А. Тюрин-Кузьмин¹, Е.Р. Корчагина¹, Н.С. Волошин¹, Н.И. Калинина¹, Е.А. Шестакова³, И.А. Складник³

¹Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Институт регенеративной медицины, МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова; ³НМИЦ эндокринологии МЗ РФ, Москва

Жировая ткань представляет собой эндокринный орган, регулирующий метаболические процессы всего организма. Она играет важную роль в регуляции метаболизма глюкозы и энергетического обмена. Жировая ткань постоянно обновляется и содержит стволовые/прогениторные клетки (мезенхимные стволовые клетки, МСК). Эти клетки обеспечивают поддержание метаболического здоровья жировой ткани, а также являются предшественниками основной массы вновь появляющихся адипоцитов во взрослом организме, продуцируют внеклеточный матрикс, определяющий структуру ткани, а также контролируют тканевую метаболизм за счет продукции паракринных и аутокринных сигнальных молекул. Активность МСК находится под строгой нейрогуморальной регуляцией, что обеспечивается широким спектром рецепторов на поверхности этих клеток, позволяющим им воспринимать сигналы как от нейромедиаторов из ЦНС, так и от системно действующих гормонов, кроме того, МСК активно воспринимают сигналы, поступающие от других клеток-компонентов жировой ткани, осуществляя непрерывный сигнальный кросс-ток. Нарушение гормональной регуляции МСК, а также их взаимодействия друг с другом и другими клеточными составляющими, такими как сами адипоциты и эндотелий, является ключевым патогенетическим звеном развития заболеваний жировой ткани. В последнее время появляются данные, что популяция МСК является крайне гетерогенной в функциональном плане. Мы показали, что в ее состав входят субпопуляции клеток, различные на функциональном уровне и по чувствительности к гормонам-регуляторам. При этом, клетка, воспроизводимо отвечающая на один гормон, оказывается нечувствительной к другим гормонам. Недавно была описана особая субпопуляция МСК, подавляющая адипогенную дифференцировку других клеток жировой ткани посредством продукции паракринных сигналов. Это позволяет предположить, что в популяции МСК могут существовать особые регуляторные субпопуляции клеток, обладающие чувствительностью к определенным гормонам и способные “передавать” гормональный сигнал клеткам через продукцию паракринных факторов. Мы предполагаем, что именно состояние этих малых регуляторных субпопуляций и их способность передавать другим клеткам регуляторный сигнал может определять разницу между метаболически здоровой и патологической жировой тканью.

АНАЛИЗ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ В ГИППОКАМPE КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ В МОДЕЛИ РЕФЛЕКТОРНОЙ И ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИЙ

А.А. Куликов, М.В. Глазова, Е.В. Черниговская

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

Известно, что височная эпилепсия сопровождается нейродегенеративными повреждениями гиппокампа. Крысы линии Крушинского–Молодкиной (КМ) являются моделью наследственной аудиогенной рефлекторной эпилепсии человека. У крыс КМ формирование судорожной готовности заканчивается к 3 месяцам онтогенетического развития. Многократные аудиогенные стимуляции по протоколу киндлинга приводят к возникновению эпилептиформной активности в лимбической системе, и т. о. являются моделью височной эпилепсии человека. Целью нашей работы было исследовать маркеры нейродегенеративных процессов – апоптоз и аутофагию и процессы их регуляции в гиппокампе крыс линии КМ как в процессе онтогенеза, так и на модели височной эпилепсии. Сравнение крыс линии Вистар и КМ в возрасте 15, 30, 60 и 120 дней показало увеличение клеточной гибели апоптотическим путем, связанное с активацией p53 и уменьшением активности Bcl2 в гиппокампе на 30 день постнатального развития у крыс линии КМ. На 60 день увеличивается активность p-Bcl2, уровень апоптоза снижается, а число клеток у крыс линий КМ и Вистар не отличается, как и у взрослых животных. Между крысами линии КМ и Вистар разного возраста не наблюдаются отличий в процессах активации аутофагии в гиппокампе. Очевидно, аутофагия у крыс линии КМ и не принимает участия в ходе развития судорожной готовности. Мы показали, что нарушение апоптоза при формировании гиппокампа может влиять на развития рефлекторной эпилепсии у крыс линии КМ. На модели височной эпилепсии у крыс линии КМ после 4 аудиогенных судорожных припадков не наблюдалось усиления аутофагии и апоптоза. По

мере развития височной эпилепсии после 7 судорог отмечено увеличение экспрессии p53 и cIcasp9, увеличение количества клеток, гибнущих апоптозом и уменьшение числа гранулярных клеток зубчатой извилины. После латентного периода происходит активация аутофагии, которая частично обеспечивает восстановление числа гранулярных клеток на фоне повышенного нейрогенеза. К 14 и 21 судороге уровень апоптоза снижается, но наблюдается значительная потеря клеток в гиппокампе. Таким образом, развитие височной эпилепсии вызывает апоптотическую гибель клеток, что приводит к уменьшению числа нейронов в зубчатой извилине гиппокампа. *Финансирование работы: РФФИ 19-015-00070.*

АБИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС, ДЛИТЕЛЬНОЕ ХРАНЕНИЕ И ТЕРМИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА СЕМЯН ГОРОХА (*PISUM SATIVUM L.*) КАК ФАКТОРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Т.С. Леонова^{1,2}, К.А. Антонова², А.В. Соболева^{1,2}, А.А. Царев², Е.М. Династия², М.А. Гломб³, К. Хеннинг³, Г.Н. Смоликова⁴, С.С. Медведев⁴, Т.Е. Билова², Л.А. Вессйоханн¹, А.А. Фролов^{1,2}

¹Лейбниц-Институт биохимии растений, Галле (Заале), Германия ²Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра биохимии, Санкт-Петербург; ³Мартин-Лютер Университет Галле-Виттенберг, Галле (Заале), Германия; ⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербург

Семена бобовых растений являются важным источником белка в рационе человека и животных. Однако пищевая ценность и безопасность семян может в значительной степени варьировать ввиду продолжительности и условий хранения, а также воздействия стрессовых факторов, например засухи, в ходе созревания семян. Все упомянутые факторы способны влиять на формирование в семенах конечных продуктов глубокого гликирования (КППГ), которые представляют собой гетерогенную группу соединений, образующихся в ходе неферментативного взаимодействия аминокислот остатков лизина и аргинина с карбонильными соединениями. При поступлении с пищей в организм человека и животных, продукты гликирования пополняют пул эндогенных КППГ и способны вызывать различные клеточные ответы. Показано, что связывание продуктов гликирования с рецептором к КППГ вызывает провоспалительный ответ, опосредованный активацией транскрипционного фактора NF-κB, ключевого регулятора генной активности при воспалении. У млекопитающих повышенное содержание КППГ сопровождается развитием таких патологий, как сахарный диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания, а также является маркером старения. Поэтому, в данной работе оценивается вклад засухи, а также ускоренного старения и термической обработки семян в процесс формирования продуктов гликирования и связанного с этим негативного влияния на физиологию клетки. Содержание продуктов гликирования в гидролизатах белков из семян гороха определяли с помощью хромато-масс-спектрометрических методов. Физиологические эффекты гидролизатов белков и лежащие в их основе механизмы оценивали с помощью клеточных линий острой моноцитарной лейкемии и нейробластомы человека с помощью иммунофлуоресцентных и молекулярно-биологических методов. Так было показано, что кратковременная засуха не опосредует накопление продуктов гликирования и развитие провоспалительного клеточного ответа при сравнении с другими факторами. *Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».*

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЦИТОХАЛАЗИН В-ИНДУЦИРОВАННЫХ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

О.В. Марков¹, А.В. Сенькова¹, Ислам Сабер¹, Е.В. Шмендель², М.А. Маслов², Е.В. Бреннер¹, Н.Л. Миронова¹, М.А. Зенкова¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; ²МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова), Москва

Дендритные клетки (ДК) являются антиген-презентирующими клетками, способными запускать противоопухолевый иммунный ответ. Приготовление противоопухолевых ДК-вакцин ассоциировано с такими проблемами, как сложности подготовки и длительного хранения клеток, а также стандартизация вакцин и режимов вакцинации. Использование бесклеточных противоопухолевых вакцин, например, искусственных мембранных везикул, полученных путем обработки ДК цитохалазином В, являющимся блокатором полимеризации актина, может решить многие из перечисленных проблем. На модели меланомы В16 мыши *ex vivo* и лимфосаркомы мыши RLS40 *in vivo* исследован противоопухолевый потенциал цитохалазин В-индуцированных искусственных микровезикул, полученных из ДК мыши, трансфицированных суммарной опухолевой РНК с использованием маннозилированных липосом (МЛ) [1]. Цитохалазин В-индуцированные мембранные везикулы (СМВ), полученные из таких трансфицированных ДК имели размеры 300–400 нм и экспрессировали на своей поверхности молекулы МНС II, CD80 и CD86, необходимые для активации противоопухолевых Т-лимфоцитов. Такие СМВ напрямую праймировали клон противоопухолевых Т-лимфоцитов *in vivo* и запускали ЦТЛ-индуцированный лизис практически всех клеток меланомы В16 мыши *ex vivo*, что свидетельствует о чрезвычайно высокой активности полученных везикул. На модели солидной лимфосаркомы RLS40 *in vivo* показано, что СМВ, полученные из ДК, трансфицированных РНК-RLS40/МЛ, эффективно подавляли опухолевый рост и метастазирование: у животных-опухоленосителей, получавших такую СМВ-вакцину, наблюдалось значительное снижение (в 3–5 раз) размеров первичного опухолевого узла и полное подавление развития метастазов в печени. СМВ-вакцины являлись эффективными иммуностимуляторами, что подтверждалось как морфометрией иммунных органов (селезенка, тимус), так и уровнями экспрессии негативных и позитивных иммунологических чек-пойнтов в спленоцитах экспериментальных животных. При этом преобладающий тип Т-хелперного ответа, активирующегося под действием СМВ-вакцин, был ответ Th1/Th17 типа. Таким образом, показана высокая перспективность использования цитохалазин В-

индуцированных везикул ДК в качестве бесклеточных противоопухолевых вакцин. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ 19-74-30011.

[1] Markov O. et al. *JCR*, 2015, 21-56.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРИНА В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ОЖИРЕНИИ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

В.В. Мирошникова^{1,2}, А.А. Пантелева^{1,2}, И.А. Побожьева^{1,2}, К.В. Драчева¹, Е.А. Полякова², А.В. Марков³, Д.Л. Бровин², О.Д. Беляева², О.А. Беркович², М.С. Назаренко³, Е.И. Баранова², В.П. Пузырев³, С.Н. Пчелина^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург;

³НИИ медицинской генетики, Томск, Россия

Ожирение ассоциировано с повышенным риском сердечно-сосудистой патологии. Эпикардальная жировая ткань (ЭЖТ) имеет важное значение в развитии ишемической болезни сердца (ИБС) ввиду ее локальных эффектов на воспалительные и атерогенные процессы в коронарных сосудах. Транспортеры ABCA1 и ABCG1 играют ключевую роль в регуляции клеточного уровня холестерина. Экспрессия генов ABCA1 и ABCG1 контролируется транскрипционными факторами LXR β и PPAR γ , а также на уровне метилирования ДНК. Цель – изучение регуляции экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в жировой ткани (ЖТ) при ожирении и ИБС. При плановых операциях были получены парные образцы подкожной ЖТ (ПЖТ) и ЭЖТ от 66 пациентов с ИБС и 16 лиц без ИБС, а также образцы ПЖТ и висцеральной ЖТ (ВЖТ) от 62 женщин без ИБС. Уровень мРНК генов ABCA1, ABCG1, NR1H2 и PPAR γ оценивали методом ПЦР в реальном времени. Степень метилирования генов ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ и ПЖТ определяли методом пироквенирования после бисульфитной обработки ДНК. Продемонстрировано увеличение степени метилирования ДНК ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ при ИБС ($p < 0.05$). У пациентов с ИБС наблюдался более высокий уровень метилирования ДНК ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ по сравнению с группой сравнения ($p < 0.01$; $p < 0.03$). Уровень мРНК ABCA1 был снижен в ЭЖТ у пациентов с ИБС и мультифокальным атеросклерозом ($p < 0.05$). Уровень мРНК NR1H2 в ЭЖТ был ниже у пациентов с хроническим окклюзирующим поражением коронарных артерий ($p < 0.05$). Уровень метилирования ДНК ABCG1 (cg27243685) в ПЖТ положительно коррелировал с уровнем триглицеридов плазмы крови и степенью ожирения ($p < 0.03$). Было показано, что соотношение экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в ПЖТ и ВЖТ ассоциировано с развитием атерогенной дислипидемии и метаболического синдрома при ожирении. Уровень мРНК PPAR γ в ПЖТ отрицательно коррелировал с окружностью талии и индексом массы тела ($p < 0.01$) и был снижен у пациентов с ИБС и абдоминальным ожирением ($p < 0.05$). Увеличение степени метилирования ДНК регуляторных областей генов ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ может играть роль в развитии ИБС. Уровень экспрессии генов метаболизма холестерина в жировой ткани ассоциирован с ожирением и развитием сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний. *Исследование поддержано РФФИ (а 20-015-00502; мол_а 18-315-00382).*

НОВАЯ МАЛАЯ ИЗОФОРМА GDNF 47sh С ВЫСОКИМ НЕЙРОИНДУКТОРНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ – ПРИВЛЕКАТЕЛЬНАЯ ОСНОВА ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Г.В. Павлова^{1,2,3}, Дж.В. Шамадыкова¹, В.В. Паршина¹, А.В. Ревичин¹

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; ²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ; ³НМИЦ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ, Москва

Открытый в 1993 году глиальный нейротрофический фактор GDNF обладает тропностью к дофаминергическим нейронам и длительное время рассматривался, как нейропротекторный агент для лечения нейродегенеративных заболеваний. Однако на второй фазе клинических испытаний на пациентах с болезнью Паркинсона GDNF показал себя, как неэффективный фактор, тогда как блестящие доклинические исследования прогнозировали обратное. В связи с этим актуален стал поиск причин подобной неудачи. Одна из возможных причин подобной неудачи может быть связана с неточным выбором изоформы GDNF. Обнаружение сотрудниками М. Saarna (Lonka-Nevalaita, 2010) как минимум двух изоформ GDNF, отличающихся длиной про-области, фактически дало начало подобному поиску. Дальнейшие исследования показали, что mGDNF/GFP с удаленными pro- и pro-областями обладал повышенными нейроиндукторными свойствами по сравнению с обеими, известными на тот момент, изоформами pro-(α)-GDNF и pro-(β)-GDNF. Воздействие экзогенным mGDNF/GFP более эффективно стимулировало нейральную дифференцировку *in vitro* при исследовании на клетках линии PC12 и дорзальных эмбриональных ганглиях крыс (Kust et al., 2015), а также оказывало нейропротекторный эффект на дофаминергические нейроны при МРТР-индуцированной болезни Паркинсона, смоделированной на мышах (Revishchin et al., 2016). Однако при клонировании не химерного mGDNF без GFP белковый продукт не был обнаружен, при наличии РНК-последовательности ожидаемой длины. В связи с этим зоной нашего интереса стало исследование транскриптного профиля GDNF в нативных клетках. Изучение мРНК интактных HEK293 показало транскрипционную неоднородность mGDNF, и исследование выявленных транскрипционных вариантов привело к обнаружению определенного паттерна, для которого характерна повторяемость областей делетирования mGDNF. Предсказание продуктов трансляции обнаруженного разнообразия транскриптов GDNF *in silico* выявило три пептида, которые впоследствии были подвергнуты дальнейшему анализу – 47sh, 62sh и 63sh. Было показано, что пептид GDNF 47sh, – эффективно стимулирует нейральную дифференцировку нейробластических клеток линии PC12 и прогениторных клеток нейросфер NCSC. Была показана концентрационная зависимость нейроиндукторных свойств GDNF 47sh. В ходе биоинформационного анализа моделирования вторичной и третичной структуры пептида GDNF 47sh было показано, что взаимодействие нового обнаруженного пептида с общепризнанным рецептором GDNF – GFR α 1, – маловероятно. Поэтому в дальнейшем, необходимо провести исследование по поиску рецепторов, к которым 47sh обладает тропностью. Также было обнаружено, что GDNF 47sh не узнается всеми известными антителами против GDNF. Нами были по-

лучены антитела против GDNF 47sh и оценена его экспрессия в мозге крысы. Было показано, что GDNF 47sh экспрессируется в субвентрикулярной зоне боковых желудочков мозга взрослых крыс.

ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫЕ РОДЫ: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ

О.Б. Панина

Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Преждевременные роды (ПР) остаются одной из самых важных проблем акушерства и неонатологии, они связаны не только с потерей желанной беременности, но и с неблагоприятными перинатальными исходами. Разработка эффективных методов профилактики ПР невозможна без четкого представления об этиологических факторах и механизмах их развития. Среди последних особое значение придается сосудистому компоненту фоновой патологии при наличии экстрагенитальных заболеваний матери и проблеме формирования эндотелиальной дисфункции. Фактором риска ПР является тромбофилия, как наследственная, так и ассоциированная с антифосфолипидным синдромом. Тромбофилия определяет не только риск развития тромбоза сосудов терминальных ворсин, но и нарушения морфогенеза плаценты. Не оспаривается факт взаимосвязи ПР с ранними нарушениями имплантации и плацентации. Известно, что ПР нередко повторяются у одной и той же пациентки. Поэтому актуален вопрос о необходимости подготовки таких пациенток к беременности. В данном исследовании была оценена возможность улучшения перинатальных исходов за счет прегравидарной коррекции процессов сосудистой и гемостазиологической дезадаптации у пациенток с ПР родами в анамнезе. В результате прегравидарной подготовки при доплерометрическом контроле маточной гемодинамики у 90,2% пациенток беременность протекала без осложнений и завершилась рождением доношенных детей. У 7 пациенток произошли ПР (ранние в 27-28 недель у 1 и поздние в 35-37 недель у 6). Ни в одном из наблюдений не произошло антенатальной гибели плода. Таким образом, сосудистые нарушения реализуются на уровне маточных артерий вазоконстрикцией, микротромбозами, снижением уровня ангиогенеза. Реабилитация сосудистой системы матки является важным вкладом в профилактику ПР.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ГЕПАТОЦИТОВ В НОРМЕ И В ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ МЕТОДАМИ МУЛЬТИФОТОННОЙ МИКРОСКОПИИ

С.А. Родимова^{1,2}, Д.С. Кузнецова¹, Н.В. Бобров^{1,3}, А.А. Гулин^{4,5}, В.В. Елагин¹, М.М. Карabut¹, В.И. Щеславский^{1,6}, В.Е. Загайнов^{1,3}, Е. В. Загайнова^{1,2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород; ²Университет Лобачевского, Нижний Новгород; ³Приволжский окружной медицинский центр, Нижний Новгород; ⁴Исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва; ⁵МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ⁶Becker & Hickl, GmbH, Berlin, Germany

Хирургическая резекция печени признана наиболее эффективным методом лечения необратимых печеночных очаговых заболеваний. Однако регенераторный потенциал печени ухудшается при наличии фоновых заболеваний или превышении критического объема резецируемой печени, увеличивая риск развития печеночной недостаточности. Стандартные клинические методы анализа регенераторного потенциала недостаточно информативны, и не позволяют прогнозировать функцию оставшейся печени. Оценка метаболического статуса гепатоцитов может стать безопасным малоинвазивным методом оценки функции печени. Кроме того, современный метод время пролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS) позволяет получить дополнительную информацию о липидном и аминокислотном составе ткани печени. Серии экспериментов проводились на крысах линии Wistar на модели 30% и 70% гепатэктомии. Метаболический имиджинг проводили на 3 и 7 сутки после операции. Анализ метаболического статуса гепатоцитов проводили на основе данных о вкладах времен жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАДН, и НАДФН. Изучение липидного и аминокислотного состава ткани печени проводили методом TOF-SIMS. Резецированная часть печени была исследована в качестве контроля. В результате анализ FLIM данных показал увеличение вклада процессов окислительного фосфорилирования, а также усиление интенсивности биосинтетических процессов в гепатоцитах, что может свидетельствовать об увеличении энергетических потребностей пролиферирующих клеток. Анализ данных TOF-SIMS показал усиление синтеза сфингомиелина и холестерина, сопровождающееся снижением сигнала аминокислот, что свидетельствует об активном формировании клеточных мембран и усилении синтеза нуклеиновых кислот в процессе регенерации. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда № 19-15-00263 (метаболический имиджинг, анализ FLIM данных) и Гранта Президента Российской Федерации МК-1649.2021. 3 (морфологическое и морфометрическое исследование). Эксперименты TOF-SIMS были выполнены на оборудовании ЦКП «Анализ химических, биологических систем и природных материалов: масс-спектральная микроскопия и фемтосекундная лазерная микроскопия-спектроскопия» (№ 506694).*

T-КАДГЕРИН – РЕЦЕПТОР АДИПОНЕКТИНА. НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

К.А. Рубина¹, Е.В. Семина^{1,2}, В.А. Ткачук¹

¹Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Институт экспериментальной кардиологии, НИИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

Поддержание физиологической концентрации нутриентов в крови и в тканях напрямую зависит от скорости метаболических процессов, эффективности запасаения и высвобождения энергии из соответствующих клеточных депо, функцию которых у млекопитающих выполняют адипоциты. Адипоциты в жировой ткани постоянно обновляются за счет пролиферации стволовых/прогениторных клеток (мезенхимные стволовые клетки, МСК) и их дифференцировки. Помимо этого, жировая ткань является важнейшим эндокринным органом, который за счет продукции гормонов (адипокинов) регулирует метаболизм глюкозы и энергетического обмена всего организма. Ранее в нашей лаборатории было показано, что T-кадгерин опосредует гомофильное узнавание и подавление роста сосудов как на физиологических моделях ангиогенеза, так и на модели

опухолевого неангиогенеза *in vivo* и *in vitro*. Однако, помимо способности к гомофильному узнаванию в различных органах и тканях, T-кадгерин является рецептором двух лигандов, липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и адипонектина. Конкуренция между двумя лигандами за связывание с T-кадгерином была продемонстрирована на уровне внутриклеточной сигнализации с участием ионов кальция. Являясь рецептором важнейшего адипокина жировой ткани – адипонектина, T-кадгерин опосредует системные кардио- и васкулопротективные эффекты адипонектина. Однако механизмы участия T-кадгерина в обновлении жировой ткани, адипогенной дифференцировке и функционировании зрелых адипоцитов долгое время оставались неизвестны. Полученные нами данные свидетельствуют о важной роли T-кадгерина в активации внутриклеточной сигнализации, регуляции пролиферации и дифференцировки клеток в адипогенном направлении, продукции адипокинов жировой тканью и позволяют по-новому взглянуть на функцию T-кадгерина в регуляции метаболических процессов всего организма. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-29-04118.*

УРОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА В РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВОВ: ОТ ПРОЦЕССОВ НАПРАВЛЕННОГО ПРОТЕОЛИЗА ДО НАВИГАЦИОННЫХ СВОЙСТВ И РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК

Е.В. Семина^{1,2}, К.А. Рубина², В.А. Ткачук^{1,2}

¹Институт экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Регенерация органов и тканей представляет собой многоуровневый процесс, важным этапом которого является не только восстановление структуры и функции ткани, но и своевременный рост сосудов и нервов. Травма, гипоксия, воспаление и др. процессы, сопровождаемые нарушением целостности ткани, активируют каскад реакций, ремоделирующих внеклеточный матрикс (ВКМ), высвобождая факторы роста, обладающие мощным стимулирующим действием на ангио- и нейрогенез, а также обеспечивают пролиферацию клеток и иммунные реакции, необходимые для полноценной регенерации. В свою очередь, урокиназная система, осуществляя протеолиз белков ВКМ облегчает миграцию клеток и стимулирует рост сосудов и нервов за счёт протеолиза факторов роста и цитокинов, задепонированных в нём. Рецептор урокиназы uPAR, являясь ГФИ-заякоренным белком, обладает латеральной подвижностью в мембране и взаимодействует с хемокиновыми рецепторами, тирозинкиназами, интегринами и др., регулируя их сигнальный ответ. Появляются данные о способности uPAR взаимодействовать и с другими лигандами (витронектином, белком SRPX2), поэтому в научной литературе появился термин «uPAR-интерактом», объединяющий комплекс этих белков. Результаты наших многолетних исследований выявили принципиально новые свойства урокиназной системы в процессах регенерации. Мы показали, что у рецептора uPAR может быть навигационная функция, благодаря которой его экспрессия в нейронах не только регулирует их миграцию в эмбриогенезе, но и помогает аксону выбрать правильную траекторию роста, что при морфогенезе головного мозга опосредует формирование его структур и нейронные сети. Рецептор uPAR, латерально взаимодействуя с тирозинкиназами TrkC и EGFR, меняет их сигнальный ответ, опосредуя дифференцировку и выживаемость нейронов. Последние наши данные говорят о присутствии в гене uPAR ранее неизвестной микроРНК, мишенью которой является TrkC, и экспрессия которого регулируется экспрессией гена uPAR. Урокиназная система выступает как фактор регуляции транскрипции генов: несвязанная с рецептором uPAR транслоцируется в ядро, где регулирует активность транскрипционного фактора NF-κB и меняет дифференцировку клеток. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-015-00186.*

РОЛЬ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ КОМПОНЕНТАМИ МИКРООКРУЖЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОБЕСПЕЧЕНИИ СТРУКТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА

Б.Г. Юшков

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

В тканях организма находятся различные типы клеток-предшественников, включая стволовые клетки (СК). В кроветворной ткани – предшественники отдельных ростков кроветворения, гемопоэтические стволовые гемопоэтические (ГСК), мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и др. В сердце, которое первоначально считалось терминально дифференцированным органом, идентифицировано, по меньшей мере, семь резидентных популяций кардиогенных стволовых клеток и эндогенных кардиогенных клеток-предшественников (эКСК/эККП). Кроме того, в миокарде обнаружены ГСК и МСК костномозгового происхождения. В качестве ключевой проблемы обеспечения структурного гомеостаза обычно рассматривается взаимоотношение между СК и их микроокружением, в которое включают фибробласты, тучные клетки, макрофаги, тромбоциты, эндотелиоциты, специфические клетки ткани, экстрацеллюлярный матрикс и т.д. Между тем все эти элементы представляют хорошо сбалансированную систему, нарушения в которой могут привести к тяжелой патологии. Первые попытки изучить эти взаимодействия заставили по-новому взглянуть на проблему поддержания постоянства структуры органов. Мыши с дефицитом тучных клеток (ТК) имеют дефектное ветвление молочной железы в период полового созревания. ТК регулируют постлактационную инволюцию через связывание с калликреином плазмы. При исследовании влияния продуцируемых ТК гистамина, гепарина, хондроитинсульфатов А и В на переживающую культуру фибробластов костного мозга показано, что они влияют на скорость роста культуры, адгезивные свойства клеток, синтез ими ДНК, фазы клеточного цикла, а также характер культуры. Предполагается, что и фибробласты вырабатывают ростковые факторы для ТК. У M-CSF-дефицитных мышей с пониженным количеством макрофагов снижены содержание и активность стволовых клеток молочной железы Секретруемый тромбоцитами SDF-1 поддерживает рекрутирование CD34-положительных клеток-предшественников в артериальные тромбы и их дифференцировку в эндотелиальные прогениторные клетки *in vivo*. Важную роль играет аминокислотный, ферментативный, витаминный, ионный состав и биофизические свойства экстрацеллюлярного матрикса. Признание нарушений микроокружения в патогенезе заболеваний требует разработки методов целенаправленной их коррекции.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ В СОСТАВЕ 3D СФЕРОИДОВ ПОВЫШАЕТ ПРОАНГИОГЕННЫЙ СЕКРЕТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Ю.Д. Василец^{1,2}, К.В. Дергилев¹, И.Б. Белоглазова¹, З.И. Цоколаева^{1,3}, Е.В. Парфенова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²МГУ им. М.В. Ломоносова; ³ФНКЦ реаниматологии и реабилитации, Москва

Клеточная кардиомиопластика – перспективный метод лечения заболеваний различной этиологии. Клиническая эффективность существенно зависит от состояния клеточного продукта, условий его выделения и культивирования *in vitro*. Традиционный метод 2D культивирования обеспечивает потерю свойств клеток и нарушение процессов регуляции в клеточных линиях, что является существенным методическим ограничением. Цель. Сравнительное исследование экспрессионного профиля и секреторных свойств клеток кардиосфер (КС), культивированных в 2D условиях и 3D сфероидов. Материалы и методы. Кардиосферообразующие клетки (КОК) получали из кардиальной эксплантной культуры с помощью «мягкой» ферментативной обработки. Сборку 3D сфероидов проводили на чашках с поли-Д-лизинем, в комбинированной среде, содержащей 3% ФСТ и факторы роста. Экспрессионный профиль 2D КОК и 3D КС оценивали методом ПЦР в реальном времени. Для оценки содержания проангиогенных факторов роста в среде культивирования 2D и 3D клеток КС использовали коммерческий набор Angiogenesis Array. Результаты. Мы обнаружили, что клетки в 3D микроокружении характеризовались повышенной экспрессией генов *Kit*, *Pdgfra* и *Flt1m/Vegfr1*, характерных для сосудистых клеток-предшественниц, в сравнении с 2D культурой. В сфероидовых условиях увеличивалась экспрессия регуляторов ангиогенеза как на уровне мРНК: *Angpt1*, *Angpt2*, *Vegf*, *Fgf2*, *Tgfb1*, так и на уровне белка: *Angiopoietin-1*, *CXCL16*, *Cyr61*, *MIP-1 α* , *MMP-3*, *MMP-9*, *Pentraxin-3*, *PlGF-2*, *VEGF*, *NOV*, *Platelet Factor 4*, *IP-10*, *Endostatin*. Кроме того, в 3D условиях обнаруженные изменения сочетались с повышением экспрессии генов, ассоциированных с эпителиально-мезенхимальным переходом, *Snail*, *Twist1*, *Zeb1*, *Wt1* и коллагена *I Coll1a1*, что указывает на признаки фенотипической трансформации клеточной культуры и, вероятно, может служить объяснением их повышенной секреторной активности. Таким образом, клетки КС, культивированные в 3D условиях, характеризуются повышенным уровнем экспрессии ЭМП-ассоциированных генов, генов васкулогенных клеток-предшественниц, а также секрецией проангиогенных факторов, в сравнении с 2D культурой. Предложенный метод 3D культивирования может быть использован в качестве основы для предтрансплантационной подготовки клеток. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 17-15-01368П.*

РЕЦЕПТОР АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА УРОКИНАЗНОГО ТИПА ЗАДЕЙСТВОВАН В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОФИБРОЗНЫХ СВОЙСТВ КЛЕТОК ЭПИКАРДИАЛЬНОГО МЕЗОТЕЛИЯ СЕРДЦА

К.В. Дергилев¹, И.Б. Белоглазова¹, Ю.Д. Василец^{1,2}, З.И. Цоколаева^{1,3}, Е.В. Парфенова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²МГУ им. М.В. Ломоносова; ³ФНКЦ реаниматологии и реабилитации, Москва

В тканях организма внеклеточный матрикс (ВКМ) образует высокодинамичную структуру, контролирующую различные клеточные функции и отвечающую за инициацию/прогрессирование ряда патологических состояний, включая развитие интерстициального фиброза. ВКМ подвергается постоянному ремоделированию, опосредованному несколькими ферментативными системами, в том числе урокиназной системой, представленной активатором плазминогена урокиназного типа, ее рецептором (uPAR) и ингибиторами. Цель работы: выполнить сравнительную оценку организации зоны эпикарда/субэпикарда в сердце uPAR^{-/-} и мышей дикого типа и оценить влияние подавления экспрессии uPAR на профиброгенные свойства клеток эпикардиального мезотелия. Характеристику клеток эпикардиального мезотелия (в сердце uPAR^{-/-} мышей и животных дикого типа) выполняли с помощью иммунофлуоресцентного и иммуногистохимического окрашивания (пикросиринус красный) криосрезов сердца. Подавление экспрессии uPAR в клетках эпикардиального мезотелия выполняли с помощью CRISPR Cas9 технологии. Оценку пролиферативных свойств клеток проводили МТТ тестом, миграцию оценивали с помощью transwell assay. Мы показали, что в сердце uPAR^{-/-} мышей наблюдалась существенная перестройка зоны эпикарда/субэпикарда, аккумуляция *Wt1*⁺ и *TCF21*⁺ эпикардиальных клеток, экспрессирующих маркеры фибробластов, и накопление коллагеновых волокон, что указывает на активизацию процессов фибробластоподобной трансформации мезотелиальных клеток эпикарда. На основании данных иммуноблоттинга было выявлено, что эти изменения сочетаются с повышением экспрессии активной и латентных формы *TGFb1* у uPAR^{-/-} мышей в сравнении с животными дикого типа. Подавление экспрессии uPAR в клетках эпикардиального мезотелия способствовало повышению их чувствительности к воздействию *TGFb1*, а также усилению их пролиферативной и миграционной активности. Полученные данные свидетельствуют о том, что uPAR задействован в регуляции пролиферативных, миграционных свойств и реализации ответа на *TGFb1* в клетках эпикардиального мезотелия, что может вносить вклад в формирование пула фибробластов и развитие эпикарда ассоциированного фиброза сердца. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 17-15-01368П.*

ПОЛЯРИЗАЦИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК СПОСОБ РЕГУЛЯЦИИ ФЕНОТИПА И МЕТАБОЛИЗМА

Е.С. Зубкова, И.Б. Белоглазова, Ю.Д. Молокотина, З.И. Цоколаева, М.Ю. Меньшиков, Е.В. Парфенова

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва; ²Medical University of Vienna, Austria

Использование мезенхимальных стволовых клеток является одним из ведущих подходов клеточной терапии. Предполагается, что активации МСК путем примирования рецепторов TLR3 и 4 может оказывать влияние на взаимодействие МСК и иммунных клеток, изменяя способность МСК модулировать реакции иммунной системы. Мы провели сравнительный анализ влияния на функциональные свойства и гетерогенность популяции МСК жировой ткани человека агонистов TLR3/4, а также цитокинов Т-клеток Th1-типа-(TNF α), Th2-типа-(IL-4) и Th17-типа (IL-17). С помощью масс-спектрометрического анализа мы смогли оценить экспрессию по меньшей мере 1800 белков и обнаружили, что фенотипы, получаемые при инкубации с интерлейкинами очень похожи между собой, а при инкубации с TNF- α заметно отличается. Из 14 белков, которые, как мы предполагаем могут быть маркерами поляризации, 3 связаны с процессом аутофагии – это SQSTM1, BAG2 и RAB1A. Оцен-

ка уровня аутофагии в МСК с помощью флуоресцентных зондов – дансилкадаверина и CYTO-ID Gree. показало, что уровень аутофагии наиболее высок в МСК, поляризованных в присутствии IL17a, LPS и TNF α , а в МСК, инкубированных с IL4 и р(I:C), снижен даже относительно уровня интактного контроля. Полученные данные позволяют нам предположить, что поляризация МСК действительно может сопровождаться метаболическими изменениями, что проявляется, в частности, в усилении процесса аутофагии при предполагаемой про-воспалительной стимуляции с помощью IL17a, LPS и TNF α , в противовоспалительных МСК аутофагия по-видимому снижается даже ниже контроля (интактных МСК). *Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 20-015-00405a).*

ПРОБЛЕМА СТАБИЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SH-SY5Y В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ

С.В. Садовников¹, Д.В. Ишметова¹, Д.Р. Киреева²

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН; ²Уфимский институт химии УФИЦ РАН, Уфа

В данной работе было изучено влияние ряда производных гексагидро-1,3,5-триазинов на метаболическую активность опухолевых клеточных линий нейробластомы (SH-SY5Y) с использованием витального красителя PrestoBlue®. Клеточная линия SH-SY5Y получена путем последовательного субклонирования линии SK-N-SH, изначально выделенной из метастатических аспиратов костного мозга. Важнейшей особенностью нейробластомы является наличие в культуре двух морфологических устойчивых фенотипов клеток: нейробластоподобных (N-тип) и эпителиальноподобных (S-тип). Каждый тип имеет свой уникальный экспрессионный профиль, в частности нейрональные клетки положительны в отношении тирозингидроксилазы и дофамин- β -гидроксилазы. Соотношение клеточных форм зависит от множества факторов и оказывает влияние на воспроизводимость результатов исследования цитотоксических свойств соединений. Результаты оценки влияния соединений на метаболическую активность клеток показывают, что поликомпонентная клеточная культура, содержащая как нейробластные, так и эпителиеподобные клетки, более чувствительна к токсичным соединениям, чем культура клеток, представленная исключительно эпителиеподобными клетками. Оценка соотношения типов клеток проводилась при помощи светового микроскопа в проходящем свете. Производное гексагидро-1,3,5-триазина, не оказывающее влияющее на клетки S - типа (значение IC50>100 мкМ), на поликомпонентной культуре клеток N-типа и S-типа достоверно снижало метаболическую активность (значение IC50=43,29 мкМ, p=0.00001), что демонстрирует необходимость контроля стабильности клеточной линии нейробластомы для получения воспроизводимых результатов при изучении цитотоксичности соединений. *Работа выполнена в соответствии с планами госзадания ИБГ УФИЦ РАН №АААА-А21-121011990119-1 и УФИХ УФИЦ РАН № АААА-А20-120012090031-3.*

МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ Т-КАДГЕРИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ОБНОВЛЕНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК В АДИПОЦИТАРНОМ НАПРАВЛЕНИИ

В.Ю. Сысоева¹, М.С. Арбатский¹, Е.В. Семина^{1,2}, Н.Р. Хабибуллин¹, Н.И. Калинина¹, К.А. Рубина¹

¹Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Лаборатория молекулярной эндокринологии, НИИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

Метаболические нарушения характеризуются гипертрофией жировой ткани, изменением экспрессии адипокинов, ожирением, инсулинорезистентностью, сахарным диабетом II типа и другими патологиями. При этом экспрессия адипонектина, основного гормона жировой ткани, снижается, что сопровождается нарушением обновления и дифференцировки адипоцитов, а также их метаболических и регуляторных функций. Т-кадгерин является рецептором адипонектина. Механизмы участия Т-кадгерина в регуляции процессов обновления жировой ткани и продукции адипонектина до сих пор не известны. В работе представлены данные кластеризации клеток по схожести профилей экспрессии. Библиотеки транскриптов клеток МСК (мезенхимные стромальные/стволовые клетки), выделенных из подкожной жировой ткани здорового донора и этих же клеток, после индукции адипоцитарной дифференцировки получены на платформе «10x Chromium», scRNA-seq— IlluminaNovaSeq 6000. Биоинформатический анализ показал, что в контроле доля клеток с высоким уровнем экспрессии Т-кадгерина составляет 7,20 %. Эти клетки локализуются в кластерах, типированных как преадипоциты и перипиты. Через 4 суток после индукции адипогенной дифференцировки количество клеток с высоким уровнем экспрессии Т-кадгерина падает до 3,67 %, в этих клетках отмечается увеличение экспрессии генов адипоцитов и преадипоцитов. Используя линию 3T3L1 мышинных преадипоцитов, были получены клетки, гиперэкспрессирующие Т-кадгерин и с подавлением его экспрессией. Также получены первичные культуры МСК от здоровых доноров, трансдуцированные лентивирусом для подавления или гиперэкспрессии Т-кадгерина. При гиперэкспрессии Т-кадгерина обнаружена способность клеток к спонтанной адипоцитарной дифференцировке и изменение скорости пролиферации. Проанализирована внутриклеточная сигнализация с участием NF-kb, PI3K, Akt, AMPK, p38MAPK, Erk при добавлении известных лигандов Т-кадгерина – высокомолекулярного адипонектина и LDL. Полученные данные свидетельствуют о важной роли Т-кадгерина в процессах пролиферации прогениторных клеток и их дифференцировке в адипоцитарном направлении. *Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 19-29-04118. Биоинформационный анализ выполнен при поддержке гранта РНФ19-75-30007.*

СУБПОПУЛЯЦИЯ НЕСТИН ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ КЛЕТОК НЕОБХОДИМА ДЛЯ АДИПОЦИТАРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

В.Ю. Сысоева, Д.Т. Дыйканов, Н.И. Калинина

Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Нестин-экспрессирующие мезенхимные стволовые/стромальные клетки (Nes+ МСК) контролируют активность гематопоэтических стволовых клеток, регулируя таким образом обновление крови. Однако роль таких клеток в поддержании со-

става других тканей, в частности, жировой ткани остается не выясненной. Целью данной работы было изучение роли Nes+ МСК в регуляции адипоцитарной дифференцировки МСК. Культивируемые МСК жировой ткани мышей линии Nes-GFP+ разделяли на 2 популяции – обогащенную Nes+ МСК и лишенную таких клеток. Неразделенную популяцию МСК использовали в качестве контрольной. Адипоцитарную дифференцировку индуцировали в течение 2 недель по стандартному протоколу. Перед фиксацией клетки фотографировали с использованием метода фазово-контрастной микроскопии и флуоресценции в зеленом канале для оценки изменения доли Nes+ МСК в ходе дифференцировки. Зрелые адипоциты выявляли как клетки, накапливающие краситель OilRed O. Через 2 недели инкубации в индуцирующей адипогенез среде в контрольных культурах МСК накапливаются адипоциты, содержащие липидные капли. Такие клетки, как правило, расположены группами. В ходе исследования была обнаружена субпопуляция крупных клеток со слабой экспрессией нестина, которые после индукции дифференцировки накапливают очень крупные жировые капли, а также способны к спонтанной дифференцировке при культивировании в контрольной среде. В популяции, обогащенной Nes+ МСК, после индукции дифференцировки появляются клетки, содержащие мелкие липидные капли. При этом часть Nes+ МСК не накапливает липиды и не утрачивает экспрессию нестина. Такие клетки формируют сеть поверх пласта дифференцирующихся адипоцитов. Напротив, в популяции, лишенной Nes+ МСК, доля клеток, способных к адипоцитарной дифференцировке, оказалась снижена по сравнению с тотальной популяцией МСК. Полученные данные свидетельствуют о том, что жировая ткань содержит Nes+ МСК, присутствие которых необходимо для адипогенной дифференцировки прогениторных клеток. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-015-00402.*

РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ИЗ КЛЕТОК КАРДИОСФЕР ПРИ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОСЛЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫСЫ

Ю.Д. Василец^{1,2}, К.В. Дергилев¹, И.Б. Белоглазова¹, З.И. Цоколаева^{1,3}, Е.В. Парфенова^{1,2}

¹НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²МГУ им. М.В. Ломоносова; ³ФНКЦ реаниматологии и реабилитации, Москва

Трансплантация клеточных пластов (КП) на основе прогениторных клеток является перспективным подходом для лечения заболеваний разной этиологии. Она обеспечивает повышение выживаемости клеток и терапевтического потенциала за счет высокой паракринной активности, способности к дифференцировке и взаимодействию с компонентами микроокружения. Цель: разработать способ эпикардиальной трансплантации КП из клеток кардиосфер (КС) после экспериментального инфаркта миокарда (ИМ) у крысы и исследовать их влияние на регенеративные/репаративные процессы. Формирование КП на основе клеток КС мышей проводили с использованием NUNCtm чашек с термочувствительным покрытием. ИМ моделировали путем перевязки передней коронарной артерии. Оценку пролиферации, миграционных и дифференцировочных свойств клеток КП, морфометрических показателей ремоделирования проводили с помощью иммунофлуоресцентного и гистохимического окрашивания криосрезов сердца. Содержание проангиогенных факторов в среде культивирования КП в нормоксии и гипоксии (3% O₂) оценивали с помощью коммерческого набора Angiogenesis Array. Показано, что трансплантация КП способствует сохранению жизнеспособности, пролиферации и миграции клеток КС. На модели экспериментального ИМ у крысы после эпикардиальной трансплантации КП число сформированных сосудов было в 4 раза выше в областях, расположенных в непосредственной близости от КП, в сравнении с контрольной группой, что, вероятно, было обусловлено повышением секреции проангиогенных факторов VEGF, PlGF, FGF-1, FGF-2, эндотелина-1, протеазы MMP-9 и противовоспалительного цитокина IL-10. Площадь рубцовой ткани и толщина стенки левого желудочка (ЛЖ) в области инфаркта достоверно не. Между тем, трансплантация КП способствовала снижению уровня гипертрофии кардиомиоцитов в сочетании с уменьшением дилатации полости ЛЖ, что является благоприятными показателями восстановления сердца после инфаркта. Таким образом, эпикардиальная трансплантация КП на основе клеток КС представляется эффективным способом доставки клеток в поврежденный миокард, обеспечивающим длительное сохранение их жизнеспособности и способствующим локальному повышению васкуляризации постинфарктного сердца. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 17-15-01368П.*

ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФОЛИПАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И СОСТОЯНИЯ МЕМБРАН СОМАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ КРЫСЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИАЛУРОНАТА КАЛИЯ

М.В. Парчайкина, М.А. Чурбанова, Л.М. Петяева, Е.В. Дябкина, В.В. Ревин

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск

В настоящее время ведется активный поиск различных путей регенерации поврежденных нервных проводников, в частности использование гиалуроновой кислоты и препаратов на ее основе. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение изменения активности фосфолипазы А2 и состояния мембран соматических нервов крысы при травме и на фоне действия гиалуроната калия (ГК). Для создания модели патологии у животных одной группы перевязывали один из седлальных нервов, а другой нерв оставляли без изменений. У животных второй группы на поврежденный нерв наносили раствор ГК в концентрациях 0,5 мг/кг, 12 мг/кг и 30 мг/кг. По окончании препаровки рану зашивали. Животных обеих групп выводили из эксперимента через 12 ч., 1 сут., 3 сут., 7 сут. и 30 сут. В серии опытов с введением ГК фосфолипазная активность увеличивалась, но в меньшей степени по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата. Минимальный уровень активности фермента наблюдался у животных, которым вводили ГК в концентрации 30 мг/кг: фосфолипазная активность снижалась в 2,4 раза. О степени упорядоченности можно судить по соотношению интенсивностей пиков I1445/I1300 и I1650/I1445 КР-спектра. Следует отметить, что на 3-и и 7-е сутки наблюдения в серии опытов с введением ГК значение I1445/I1300 увеличивалось по сравнению с поврежденным на 50% и 46% соответственно. К 30-м суткам эксперимента соотношение пиков I1445/I1300 практически не отличалось от контроля. Аналогичные изменения наблюдались при изучении показателя интенсивностей полос I1650/I1445, который характеризует отношение насыщенных жирных кислот к ненасыщенным. На фоне введения ГК данный показатель снижался уже на 1-е сутки наблюдения, а с увеличением длительности

эксперимента до 30 суток его значение приближалось к контрольному значению. Таким образом, результаты КР спектроскопии свидетельствуют о том, что при действии ГК показатели состояния биологической системы возвращаются к уровню контроля. Исходя из полученных данных можно заключить, что введение ГК усиливает восстановительные процессы в травмированном нерве: активность фосфолипазы А2 снижается, упорядоченность мембраны увеличивается. Вполне возможно, что один из механизмов этого процесса реализуется через фосфолипазу А2, активация которой является ключевым фактором дегенерационных и регенерационных процессов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ МИКРОТРУБОЧЕК В ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГЕНТИНГТОНА

А.С. Таран^{1,2}, Л.Д. Шувалова^{2,3}, С.В. Лаврушкина^{1,2}, А.Н. Богомазова³, М.А. Лагарькова^{3,4}, И.Б. Алиева^{1,3}

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского и ²Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ им. М.В. Ломоносова; ³ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА; ⁴Центр точного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

Болезнь Гентингтона (HD) является следствием мутации в гене белка гентингтина (НТТ), участвующего в процессах клеточного транспорта и эндоцитоза. В эти процессы вовлечены микротрубочки (МТ), являющиеся потенциальной мишенью при развитии данной патологии. Полимеризованные из тубулина, обладающие полярностью, МТ динамичны, они являются «рельсами» для внутриклеточного транспорта, опосредованного моторными белками. Нарушения в динамике МТ сопровождают многие нейродегенеративные заболевания, что мотивировало нас на исследование изменения их динамики у пациентов с HD. Поскольку мутантный НТТ экспрессируется во всех клетках больного, в качестве модели мы использовали фибробласты, выделенные из биоптатов кожи пациентов с HD и соответствующих им по возрасту доноров. Динамичность МТ регулируется белками, ассоциированными с их концами. С плюс-концом МТ, на котором происходит преимущественно добавление субъединиц тубулина, ассоциированы многочисленные регуляторные белки, в частности белки семейства EB (end-binding), выполняющие стабилизирующую функцию. Флуоресцентно-меченные плюс-концевые белки МТ являются классическими маркерами, позволяющими визуализировать положение плюс-конца МТ в цитоплазме живой клетки, а по изменению положения анализировать динамику МТ. Однако при исследовании первичной культуры фибробластов используемый для этого стандартный метод трансфекции потребовал модификаций для повышения его эффективности, оптимальной оказалась трансфекция липофектамино 3000. МТ маркировали флуоресцентно-меченным EB-3 и наблюдали за их смещением в режиме реального времени, фиксируя динамику МТ на видео. Динамику МТ анализировали в автоматическом режиме (используя собственные скрипты и плагины программы ImageJ) и методом ручного трассирования, который в условиях наших экспериментов давал наименьшую ошибку измерений. Динамику МТ исследовали в различных областях клетки: в центральной части (в области ядра и centrosомы), на ведущем крае и в хвосте фибробластов. Полученные результаты позволили оценить *in vitro* различия в динамике МТ фибробластов кожи HD-пациентов и здоровых доноров, что позволяет описать влияние мутантного НТТ на динамические свойства МТ. *Поддержано РФФ (№ 19-15-00425) и Программой Развития МГУ им. М.В. Ломоносова (PNR5.13).*

АНАЛИЗ КОЛОКАЛИЗАЦИИ β - И γ -АКТИНОВЫХ КОМПОНЕНТОВ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

А.С. Шахов, И.Б. Алиева

НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Актиновый цитоскелет является неотъемлемым компонентом живой клетки и играет определяющую роль во многих клеточных процессах. У млекопитающих только две изоформы актина из шести (немышечные β - и γ -цитоплазматический актины) обнаруживаются во всех клетках организма. β - и γ -цитоплазматические изоформы актина локализуются в разных структурах клетки и несут разные функции. Актиновые структуры являются важнейшим компонентом, обеспечивающим поддержание формы и сокращение эндотелиальной клетки. Цитоплазматический β -актин необходим для выживания эндотелиальных клеток, в то время как цитоплазматический γ -актин отвечает за клеточную подвижность. В то же время, пространственное положение и взаимодействие двух немышечных изоформ актина в эндотелиальной клетке является не до конца изученным. Целью данной работы являлось изучение колокализации β - и γ -цитоплазматических изоформ актина с помощью микроскопии сверхвысокого разрешения. Для исследования взаимного расположения двух изоформ актина использовалось двойное флуоресцентное мечение и микроскопия сверхвысокого разрешения (SIM, Structural Illuminational Microscopy), а также методы корреляционного анализа. Для измерения коэффициентов колокализации на разных оптических уровнях эндотелиальных клеток использовалась программа ImageJ. В ходе анализа выяснилось, что на разных участках одной и той же эндотелиальной клетки уровень колокализации β - и γ -актина варьирует в широких пределах в краевых областях клетки и в районах около ядра клетки. Кроме того, на нижних оптических уровнях эндотелиальной клетки преобладает β -актин. Разный уровень колокализации β - и γ -цитоплазматических изоформ актина может объясняться различным функциональным состоянием того или иного участка клетки, в том числе взаимодействиями с белками-линкерами, обеспечивающими связь с микротрубочками и промежуточными филаментами. *Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 15-04-08550 и № 18-29-09082) и программы развития Московского университета (MSU Development Program PNR 5.13).*

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГИПОКСИИ

МИТОХОНДРИИ – КЛЕТЧНЫЕ СЕНСОРЫ КИСЛОРОДА (КАК МИТОХОНДРИИ ДИФФЕРЕНЦИРУЮТ ДЕФИЦИТ КИСЛОРОДА В УСЛОВИЯХ *IN VIVO* И ФОРМИРУЮТ АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ)

Л.Д. Лукьянова, Ю.И. Кирова, Э.Л. Германова

НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва

Впервые исследована зависимость ответной реакции каталитических субъединиц митохондриальных комплексов MC I-V (NDUFV2, SDHA, Cyt b, COX1, ATP5A) в двух наиболее кислород-зависимых тканях (коре головного мозга – КГМ и миокарде крыс) от тяжести и длительности гипоксических воздействий, моделируемых в условиях *in vivo*. Использовано три режима гипобарической гипоксии, различающихся по содержанию O₂ во вдыхаемом воздухе относительно атмосферного. Показано, что при изменении [O₂] в среде митохондрии отвечают дифференцированной реакцией ферментов субстратного участка дыхательной цепи (МК I и II – мишени гипоксии), направленной на поддержание активности ее цитохромного участка. Установлено, что при всех режимах в обеих тканях активация сукцинат-оксидазного пути окисления (МК II) является адаптационно-компенсаторным механизмом, обеспечивающим сохранение высокой активности цитохромного участка при формировании, как *срочных*, так и *отсроченных адаптивных реакций* к гипоксии. Установлены тканево-специфические особенности этого процесса в миокарде: а) большая чувствительность митохондриальных ферментов к дефициту кислорода сравнительно с КГМ (переключение на окисление сукцината при более высоких концентрациях O₂ – *более высокий порог чувствительности* к кислороду); б) более высокая степень активации МК II, нежели в КГМ, возможность его вовлечения в процесс как на фоне сохранения активности МК I, так и при его подавлении; в) более выраженное снижение уровня изучаемых митохондриальных ферментов при «тяжелой» гипоксии, нежели в КГМ, свидетельствующее о более раннем нарушении электрон-транспортной и энергетической функции митохондрий миокарда. Установлены существенные различия в ответной реакции на гипоксию у низко-резистентных и высоко-резистентных животных. Данные о динамике митохондриальных ферментов при курсовом применении гипоксических воздействий могут быть использованы в качестве высокоинформативного критерия завершенности отсроченной адаптации. Таким образом, впервые получены прямые экспериментальные доказательства сигнальной роли митохондриальных ферментов КГМ и миокарда в ответной реакции организма на градуальные изменения содержания кислорода в среде, доказывающие, что митохондрии – это *клеточные сенсоры кислорода*.

КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ У КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ, СОХРАНЯЮТСЯ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛАКТОФЕРРИНА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО СИНТЕЗ ЭРИТРОПОЭТИНА

В.Б. Васильев^{1,2}, А.В. Соколов^{1,2}, Н.М. Дубровская³, В.А. Костевич¹, Д.С. Васильев³, Е.Т. Захарова¹, О.Л. Рунова¹, И.В. Семак⁴, А.И. Будевич⁵, Н.Н. Наливаева³, И.А. Журавин³

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; ³Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург;

⁴Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; ⁵Научно-практический центр животноводства НАН Беларуси, Жодино, Беларусь

Пренатальная гипоксия вызывает двигательные и когнитивные расстройства в постнатальном периоде [Nalivaeva *et al.* doi: 10.3389/fnins.2018.00825]. Предыдущие исследования показали способность апо-лактоферрина (апо-ЛФ) предотвращать гидроксигирование гипоксия-индуцибельных факторов (HIF-1 α and HIF-2 α) [Zakharova *et al.*, doi: 10.1007/s10534-018-0111-9; 2018]. Эти факторы обеспечивают транскрипцию генов, продукты которых (e.g. эритропоэтин) защищают клетки в условиях гипоксии. Мы изучили влияние апо-ЛФ на когнитивные функции потомства крыс, перенесших гипоксию во время беременности. Мы изучили влияние апо-ЛФ на когнитивные функции потомства крыс, перенесших гипоксию во время беременности.

Рекомбинантный ЛФ человека “CAPRABEL” выделен в БГУ из молока трансгенных коз (НПЦ животноводства НАН Беларуси). 90% белка не содержали железа (апо-ЛФ). На 14й день беременности крысы Вистар подвергались гипоксии (7% O₂, 3 ч). Половине животных вводили в/б CAPRABEL на 9,12,13 и 15й день беременности или ежедневно с момента рождения потомства и до 15-го дня *post-partum*.

После инъекций CAPRABEL у беременных крыс Вестерн-блоттинг выявил HIF-1 α , HIF-2 α и эритропоэтин в мозгу, печени, сердце, селезенке и плаценте, но не в тканях эмбриона. У беременных крыс после гипоксии, но без инъекций апо-ЛФ, эти факторы не обнаружены. Поведение в 2-уровневом радиальном лабиринте и тест РНО (Распознавание нового объекта) показали достоверное улучшение памяти у молодых (P22) и взрослых (P40) крыс из потомства «гипоксических» крыс, получавших апо-ЛФ в сравнении с потомством таких же крыс, не получавших апо-ЛФ. После инъекций CAPRABEL лактирующим крысам, перенесшим гипоксию, в их молоке выявляли апо-ЛФ человека в течение 4-24 ч. У их потомства (P22 и P40) тест РНО показал достоверное улучшение кратковременной и долговременной памяти. В мозгу, печени и селезенке крысят обнаружили HIF-1 α , HIF-2 α и эритропоэтин.

Таким образом, апо-ЛФ, примененный в пренатальном и постнатальном онтогенезе, защищает развивающийся мозг от повреждающего действия пренатальной гипоксии. Вероятный механизм его действия – активация HIF-сигнального каскада для запуска биосинтеза эритропоэтина, обладающего выраженным нейропротективным эффектом.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ГИПОКСИИ И ГИПЕРОКСИИ

А.Н. Вётош^{1,2,3}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ; ³Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья им. П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург

Содержание кислорода в окружающей среде может меняться как в гипоксическом, так и в гипероксическом направлении. Отдельные клетки и их небольшие группы, инкубируемые в естественных или искусственных условиях, получают кислород путём диффузии. Качество распределения кислорода не может не контролироваться на системном, регионарном и клеточном уровне. В последнем случае можно предполагать наличие специальных кислородных клеточных сенсоров или цитоцентрических механизмов, участвующих в управлении кислородным гомеостазисом. В наибольшей степени на сегодняшний день изучены механизмы клеточной чувствительности к гипоксии. За организацию метаболического и генетического ответа на медленно нарастающую и хроническую гипоксию отвечает цитоплазматический молекулярный пул, в котором мастером-регулятором является фактор, индуцированный гипоксией (HIF). Быстрый, если не сказать молниеносный ответ клетки на гипоксию организует молекулярный пул, базирующийся на кальций-зависимые калиевые каналы цитоплазматической мембраны. Роль сенсора, реагирующего на уменьшение содержания кислорода в этом пуле выполняет гемоксигеназа-2. Цитоплазматический и околосмембранный кислородчувствительные пулы клетки тесно взаимодействуют. Митохондрии модулируют молекулярные реакции клетки на острую и хроническую гипоксию через продукцию активных форм кислорода (АФК). В ряде случаев (водолазная практика, оксигенобаротерапия, пребывание в герметических объёмах космического назначения) организм человека и животных может подвергаться действию гипероксии. Как не странно, но реакция на эти искусственные, не встречающиеся в природе атаки клеток избытком кислородных молекул обеспечены специальными сенсорами на основе белков транзитного рецепторного потенциала (TRP). Особенно высокую чувствительность к изменению концентрации молекул кислорода у поверхности мембран клеток, имеющих встроенные TRP белки, демонстрируют в экспериментах TRPA-1 каналы. Они чувствительны как к гипоксическим, так и к гипероксическим концентрациям кислорода.

ИНГИБИРОВАНИЕ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРОМ HIF1 КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ПОСТГИПОКСИЧЕСКОЙ РЕОКСИГЕНАЦИИ

О.В. Ветровой

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Ключевым механизмом адаптации к гипоксии признан сигналинг индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF1). Однако, патогенез тяжелых форм гипоксии/ишемии в первую очередь реализуется в период реоксигенации, когда неконтролируемая активация данного фактора транскрипции потенциально способна оказывать дезадаптивный эффект. Нами было сделано предположение о роли HIF1 в реализации постгипоксической патологии через негативную регуляцию пентозофосфатного пути (ПФП), необходимого для обеспечения антиоксидантной защиты. В работе на крысах нами показано, что тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГГ) и последующая реоксигенация, вызывающие краткосрочное увеличение количества регуляторной альфа субъединицы HIF1 (HIF1a) в CA1 поле гиппокампа крыс, индуцируют снижение количества и активности Г6ФДГ и количества НАДФН, что сопровождается окислительным стрессом и запуском апоптоза. Инъекция ингибитора HIF1 топотекана перед ТГГ предотвращает увеличение количества HIF1a, нормализуя количество и активность Г6ФДГ и увеличивая уровень НАДФН, что сопровождается нормализацией окислительно-восстановительного статуса и снижением свободнорадикального окисления в гиппокампе, а также предотвращением апоптотических процессов и гибели нейронов. Кроме того, с применением модели умеренной гипобарической гипоксии выявлена обратная связь между содержанием белка HIF1a и количеством мРНК Г6ФДГ. Универсальность открытого механизма HIF1-зависимой негативной регуляции экспрессии Г6ФДГ подтверждена в *in vitro* экспериментах на культуре клеток НЕК293Т человека, трансфицированной люциферазой под HIF1-зависимым промотором. Полученные данные расширяют современные представления о механизмах постгипоксических патологий. Использование ингибиторов HIF1 или индукторов ПФП в ранний постинсультный период может быть рассмотрено в качестве эффективной стратегии коррекции постинсультных состояний в клинической практике.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ КАК ПРИЧИНА ДИСПЛАЗИИ АРТЕРИЙ МОЗГА В МОЛОДОМ ВОЗРАСТЕ

Л.А. Калашникова, А.В. Сахарова, Р.П. Чайковская, Л.А. Добрынина, Т.С. Гулевская, М.В. Губанова, А.С. Воронкова, В.С. Сухоруков

Научный центр неврологии, Москва

Дисплазия артерий шеи (внутренней сонной и позвоночной) является одной из основных причин ишемического инсульта у лиц молодого возраста. Причина слабости артериальной стенки, приводящей к ее расслоению (т.н. диссекции) до настоящего времени остаются полностью нераскрытыми. Морфологическое исследование артерий и клинические данные указывают на наличие у больных признаков дисплазии соединительной ткани, не связанной с известными наследственными заболеваниями. В настоящей работе авторы обобщают результаты собственных исследований и наблюдений, на основе которых была предложена гипотеза митохондриальной артериопатии как причины дисплазии артериальной стенки, приводящей к диссекции. К ним относятся: гистологическое и гистохимическое исследование мышечных биоптатов, электронно-микроскопическое исследование артерий кожи у больных с диссекцией внутренней сонной и позвоночной артерий, обнаружение митохондриальной мутации A3243G и развитие инсультоподобного эпизода у больного с повторными диссекциями этих сосудов, а также выявление при МР-спектроскопии высокого пика лактата в визуально неизменном белом веществе полушарий мозга у больного, перенесшего диссекцию внутренней сонной артерии. Представлены данные литературы о наличии митохондриальных нарушений у больных с диссекцией артерий шеи.

ХЛОРНЫЙ СИГНАЛИНГ НЕЙРОНОВ И ГЕМОДИНАМИКА КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ И ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ИШЕМИИ

Н.В. Лизунова^{1,2}, А.А. Шлычков¹, Е.Н. Волыникова¹, П.Д. Брежестовский^{3,4}, Л.Р. Горбачева², Е.Г. Сорокина¹, З.В. Бакаева¹, В.Г. Пинелис¹, А.М. Сурич^{1,5}

¹НМИЦ здоровья детей МЗ РФ, Москва; ²Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва;

³Казанский государственный медицинский университет, Казань; ⁴Institut de Neurosciences des Systemes, Marseille, France;

⁵НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва

Мозг постоянно поддерживает баланс между возбуждением и торможением за счет быстрого изменения трансмембранного градиента концентраций катионов и анионов. Анализ активности мозга в норме и при патологии требует сопоставления изменений катионного и анионного гомеостаза с гемодинамическими процессами. Исследование направлено на изучение гомеостаза хлорида и гемодинамики при повреждениях коры мозга мышей, экспрессирующих в нейронах генетически кодируемый флуоресцентный Cl-сенсор. Для моделирования патологий использовали мышей 8-недельного возраста с оптически просветленным черепом. При хирургической травме удаляли ткань мозга ($\varnothing=2\text{мм}$ x $h=1,5\text{мм}$) в одном полушарии, затем закрывали покровным стеклом и прозрачным полимером для последующих измерений на установке широкопольного оптического имиджинга (WFI, NeuroTag, Финляндия). Фототромбоз вызывали облучением лазером (532нм) в области соматосенсорной коры после ретроорбитального введения Бенгальского розового. Для визуализации сосудов в кровоток вводили FITC-декстран (200КДа). Двигательные нарушения у мышей оценивали при помощи тестов «сетка» и «цилиндр». С помощью ИФА определяли уровень маркера повреждения нейронов (S100B) в сыворотке крови. Корреляционный анализ показал, что функциональная связность зон мозга между полушариями, резко снижалась через неделю после травмы. WFI также выявил снижение реакции мозга на электростимуляцию конечностей. Изменение WFI-сигналов указывало на рост [Cl-]i в клетках коры с последующим восстановлением в поврежденном полушарии в раннем посттравматическом периоде. Максимально выраженный неврологический дефицит был выявлен также в первые дни после травмы. Наибольшую концентрацию S100B наблюдали через 30 мин после повреждения. Фотоиндуцированная ишемия сопровождалась нарастанием [Cl-]i в очаге повреждения, а затем в пенумбре. В начальные 15 мин после индукции фототромбоза происходили изменения диаметра крупных сосудов как в области, прилежащей к повреждению, так и в симметричной контралатеральной области. Изменения, обнаруженные методом WFI в области мозга, пораженной фототромбозом, коррелировали с данными морфометрического TTC-анализа и выраженностью сенсомоторных нарушений. Работа выполнена в рамках Гос. заданий АААА-А19-119012590191-3 и 0520-2019-0029.

ГИПОКСИЯ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Н.Н. Наливаева^{1,2}, Э.Дж. Тернер²

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; ²Школа биомедицинских наук, Факультет биологических наук, Университет г. Лидс, Великобритания.

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что предрасположенность к нейродегенеративным заболеваниям в большой степени зависит от снабжения клеток мозга кислородом, а такие патологические факторы как ишемия и гипоксия мозга увеличивают риск их развития. В частности, показано, что нарушение клиренса амилоидного пептида (A β) вследствие цереброваскулярного дефицита ведет к накоплению его отложений в ткани мозга, приводя к гибели нервных клеток и когнитивным расстройствам. В условиях дефицита кислорода в ткани мозга нарушается экспрессия ряда нейрональных генов, вовлеченных как в продукцию, так и деградацию A β , ведя к накоплению его токсических агрегатов, что лежит в основе патогенеза спорадической формы болезни Альцгеймера. Особенно важное значение имеет нормальное снабжение кислородом мозга развивающегося плода во время беременности. Как было показано на модели пренатальной гипоксии (ПГ) у крыс, недостаток кислорода в организме матери существенным образом изменяет уровень экспрессии ряда нейрональных генов, в частности, белка предшественника амилоидного пептида (APP), основного амилоид-деградирующего фермента неприлизина (НЕП) и транспортного белка транстиретина (ТТР) в ткани мозга потомства, приводя к развитию у них когнитивного дефицита. Изучение характера экспрессии этих генов на клеточных моделях в норме и при гипоксии показало, что ингибитор деацетилазы гистонов (вальпроат натрия), тирозинкиназа (Gleevec) или каспаз (Z-DEVD-FMK) препятствуют снижению экспрессии НЕП, вызванного гипоксией, и предотвращают накопление A β . Введение этих соединений животным, перенесшим пренатальную гипоксию, также способствует повышению уровня экспрессии и активности НЕП в корковых структурах и гиппокампе и улучшению их когнитивных и обонятельных функций. Принимая во внимание важную роль НЕП в метаболизме большого числа биологически активных пептидов как в нервной ткани, так и на периферии, в частности в каротидных тельцах, где он принимает участие в хеморецепторном ответе на изменение парциального давления кислорода, изучение процессов регуляции гена НЕП является важным направлением в исследовании молекулярных механизмов реакции организма на гипоксию. Выполнено при поддержке РФФИ (грант 19-015-00232) и государственного задания (АААА-А18-118012290373-7).

ПАЛЬМИТАТ/Ca²⁺-ИНДУЦИРУЕМАЯ ЦИКЛОСПОРИН А НЕЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ ПОРА, МЕХАНИЗМ ЕЁ ОБРАЗОВАНИЯ И РОЛЬ В ЗАЩИТЕ МИТОХОНДРИЙ ОТ ПЕРЕГРУЗКИ КАЛЬЦИЕМ ПРИ ГИПОКСИИ И ПРИ ДЕГРАДАЦИИ НЕЙРОНОВ

Г.Д. Миронова¹, Е.В. Павлов²

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино; ²Отдел молекулярной патофизиологии, Стоматологический колледж, Нью-Йоркский университет, Нью Йорк, США

В условиях продолжительной гипоксии и перегрузки митохондрий Ca²⁺, а также при повышенном образовании активных форм кислорода во внутренней мембране митохондрий происходит увеличение неспецифической проницаемости. Появление этой проницаемости в митохондриях может происходить по нескольким механизмам. Наиболее распространенный механизм

основан на открытии канала, чувствительного к циклоспорину А (ЦиА), который имеет белковую природу. Мы показали, что помимо чувствительного к ЦиА пути, связанного с открытием белковой поры, в митохондриях уже при небольших концентрациях Ca_2 , может происходить кратковременное открытие пальмитат/ Ca^{2+} -индуцируемых липидных пор, возникающих в мембране при образовании в ней комплексов пальмитата с Ca^{2+} . Этот путь не зависит от ЦиА и, по всей видимости, играет защитную роль, предупреждая митохондрии от накопления в них больших концентраций иона. В работе показано, что открытие липидной поры обусловлено, обнаруженным нами ранее свойством пальмитиновой и стеариновой жирных кислот, связываться с Ca^{2+} с высоким сродством, что отличает их от других липидов. Установлено, что открытие этих короткоживущих пор связано с хемотропным фазовым переходом в мембране, обусловленным образованием в ней пальмитат/ Ca^{2+} комплексов. Рассмотрены молекулярные механизмы формирования и регуляции липидных пор. Изучены условия появления их в митохондриях. Установлено, что вход Ca в митохондрии, приводит к активации фосфолипазы А2 и, появлению в мембране свободных жирных кислот, включая пальмитиновую и стеариновую, что ведёт к образованию комплексов этих кислот с Ca^{2+} и открытию пор, по описанному выше механизму. Показано, что открытие этих пор, в отличие от классических белковых, не приводит, к изменению работы дыхательной цепи и гибели клеток. Рассматривается роль липидных пор в защите митохондрий от перегрузки кальцием и деградации нейронов.

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ N-КОНЦЕВЫХ ФРАГМЕНТОВ ГАЛАНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ СЕРДЦА

О.И. Писаренко, И.М. Студнева, О.М. Веселова, М.В. Сидорова, В.З. Ланкин, А.А. Тимошин

НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

Пептид галанин участвует в регуляции сердечно-сосудистой системы, метаболизма и функции сердца, активируя трансмембранные рецепторы кардиомиоцитов GalR1-3. N-концевые фрагменты галанина, связывающиеся с подтипом рецептора GalR2, снижают апоптоз и уменьшают образование супероксидного анион-радикала и пероксида водорода в митохондриях при гипоксии/реоксигенации изолированных кардиомиоцитов крысы, а также улучшают метаболическое и функциональное восстановление сердца при моделировании ишемии и реперфузии (ИР) *ex vivo* и *in vivo*. Эти свойства предполагают возможность использования фармакологических агонистов рецепторов галанина для уменьшения повреждений сердца. Методом автоматического твердофазного синтеза пептидов синтезированы модифицированные N-концевые фрагменты галанина (2-11), (2-15) с улучшенными физико-химическими свойствами (протеолитическая стабильность и растворимость) и полноразмерный галанин крысы (1-29). Их структура подтверждена 1H-ЯМР спектроскопией и MALDI-TOF масс-спектрометрией. Изучено влияние пептидов при ИР сердца крыс *in vivo* на размеры острого инфаркта миокарда, активность маркеров некроза в крови, метаболическое и антиоксидантное состояние зоны риска левого желудочка и гемодинамические показатели. Наиболее высокий кардиопротекторный эффект обнаружен у модифицированного пептида WTLNSAGYLLGPBAH (G2). У крыс с доксорубин-индуцированной кардиомиопатией G2 уменьшал систолическую дисфункцию и кардиотоксичность, улучшал метаболическое состояние миокарда и снижал структурно-морфологические повреждения сердца. Эти эффекты сопровождалось снижением перекисного окисления липидов вследствие увеличения активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в поврежденном сердце и улучшением энергетического обеспечения кардиомиоцитов. Пептид G2, также как его природный аналог галанин (2-15) и полноразмерный галанин, подавляли Cu^{2+} -инициированное окисление природных липопро-теидов низкой плотности в плазме крови человека. Результаты свидетельствуют о перспективности изучения свойств и механизмов действия синтетических пептидных лигандов рецепторов галанина, представляющих потенциальную основу для разработки лекарственных средств. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты №№ 18-015-00008 и 18-015-00009).*

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ МОЗГА К ГИПОКСИИ

Е.А. Рыбникова, К.А. Баранова, М.Ю. Зенько

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Гипоксия является одним из наиболее распространенных повреждающих факторов, поэтому повышение устойчивости организма и, в особенности, мозга к ней представляет собой актуальную задачу. При формировании гипоксической толерантности ключевое значение придается репрограммированию специфических клеточных и системных механизмов адаптации к гипоксии, однако в наших исследованиях показано, что важнейшую роль в этих процессах играет нейроэндокринная система. В частности, степень гипоксической резистентности организма, индуцируемой прекодиционирующими воздействиями, коррелирует с амплитудой вызываемой ими активации гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС), а блокада стрессорного выброса глюкокортикоидных гормонов предотвращает формирование гипоксической толерантности. Введение экзогенных глюкокортикоидных гормонов (например, синтетического глюкокортикоида дексаметазона) в сочетании с неэффективными режимами прекодиционирования способствует значительному усилению их адаптогенного действия на организм. Ключевым компонентом перестроек гормональной системы, обуславливающих формирование гипоксической толерантности и кросс-толерантности, является умеренное повышение стресс-реактивности ГГАС на фоне потенциации глюкокортикоидной обратной связи. Как показали наши исследования, в основе этих перестроек лежит модификация активности экстрагипоталамического контура регуляции ГГАС. В частности, наблюдается повышение экспрессии кортиколиберина в неокортексе и ап-регуляция глюкокортикоидных рецепторов в вентральном гиппокампе. Недавно установлено, что глюкокортикоидные рецепторы находятся в тесном взаимодействии с клеточными механизмами адаптации к гипоксии, связанными с активацией гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1. Взаимодействуя с ферментами, осуществляющими деградацию регуляторной альфа-субъединицы HIF-1 α , молекула глюкокортикоидного рецептора ингибирует их, способствуя кислород-независимой

активации HIF-1. Таким образом, ГГАС активно вовлекается в регуляцию клеточных механизмов адаптации к гипоксии и играет важную роль в формировании гипоксической толерантности. *Поддержано грантом РФФИ № 19-015-00336.*

НОВЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У БОЛЬНЫХ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

В.С. Сухоруков¹, А.С. Воронкова¹, Т.И. Баранич^{1,2}, А.С. Магнаева¹, В.В. Глинкина²

¹Научный центр неврологии; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Понимание критического значения полисистемных митохондриальных нарушений, выявление целого ряда генетически обусловленных «митохондриальных болезней», активное развитие соответствующих средств диагностики и лечения привели в последние годы к созданию целого направления, объединяемого понятиями «митохондриальная патология» и «митохондриальная медицина». Нервная ткань – наиболее энергозависимая система человеческого организма, поэтому неудивительно, что многочисленные исследования представляют доказательства важной роли митохондриальных нарушений в развитии все большего числа неврологических заболеваний. Вследствие этого определение роли митохондриальных дисфункций в патогенезе нервных и нервно-мышечных болезней, а также при старении мозга, представляет собой чрезвычайно значимую цель как фундаментального, так и прикладного характера. В докладе будет представлен опыт внедрения новых методов исследования тканевой гипоксии мозга человека и экспериментальных животных. В частности, будут изложены результаты иммуногистохимического изучения митохондриальных и связанных с ними маркеров в мозге при различных неврологических нарушениях и старении. Также будут представлены новые данные, полученные с помощью мультиплексного анализа экспрессии митохондриальных белков и их генных сетей с помощью анализатора Nanostring у больных, страдающих нейродегенеративными и митохондриальными заболеваниями. Будут приведены доказательства потенциальной эффективности указанного метода для раннего выявления и дифференциальной диагностики болезней, связанных с хронической тканевой гипоксией.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ КАК ФАКТОР ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ МОЗГА: ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКИЕ И ГЛЮКОКОРТИКОИД-ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Е.И. Тюлькова¹, О.В. Ветровой^{1,2}, В.А. Стратилев¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; ²Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, кафедра биохимии, Санкт-Петербург

Многочисленные физиологические и клинические данные показывают, что внутриутробная гипоксия является одним из основных факторов, способных оказать неблагоприятное воздействие на развитие плода. Нарушения развития плода вследствие гипоксического стресса ведут к формированию патологий постнатального развития. Проявляясь в младенчестве, они сохраняются у взрослых и усугубляются с возрастом, ведя к преждевременному старению и ранней смертности. Данное исследование было направлено на анализ характеристик глюкокортикоидной и глутаматергической системы и поведения во время раннего (2 недели), взрослого (3 месяца) постнатального онтогенеза и в процессе старения (18 месяцев) крыс, подвергшихся тяжелому гипоксическому стрессу (5% O₂, 3 ч) в течение критического периода формирования гиппокампа в пренатальном периоде (14–16 дней беременности). Нами показано прогрессирующее с возрастом уменьшение количества глутамата в гиппокампе крыс, подвергшихся воздействию ПГ, что сопровождается уменьшением числа нейрональных клеток в СА1 поле гиппокампа, а также ослаблением пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. Постепенное снижение количества глутамата ассоциировано с недостаточной экспрессией генов метаболизма глутамата и обратно коррелирует с, по-видимому, компенсаторным увеличением уровней метаботропных рецепторов глутамата 1 (mGluR1) типа и увеличением количества синапсов. Нами показано, что в гиппокампе взрослых ПГ крыс, в отличие от контрольных животных, в ответ на сеанс тяжелой гипоксии, использованной в качестве эксайтотоксической модели, не происходит увеличения генерации продуктов перекисного окисления липидов. Это указывает на тот факт, что чрезмерная активность рецепторной части глутаматной системы у ПГ животных не уравнивает дефицит глутамата. В тоже время стрессорный ответ матери на гипоксию опосредует стабильное нарушение чувствительности гиппокампа плода к глюкокортикоидам, что в дальнейшем определяет центральные и периферические нарушения функционирования глюкокортикоидной системы. Результаты исследования свидетельствуют о значительном вкладе дисфункции глутаматергической и глюкокортикоидной систем в формирование раннего старения, что проявляется в возрастном ослаблении когнитивных функций ПГ крыс, ранней потере нейронов и ранней смертности.

НОВЫЙ ИНГИБИТОР МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЕВОГО УНИПОРТЕРА, DS16570511, ПОДАВЛЯЕТ РАЗВИТИЕ ОТСРОЧЕННОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

К.Н. Белослудцев^{1,2}, Н.В. Белослудцева¹, Р.Р. Шарипов³, В.Г. Пинелис⁴, А.М. Суринов^{3,4}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушчино; ²Марийский государственный университет, Йошкар-Ола; ³НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва; ⁴НМИЦ здоровья детей, Москва

Нарушение Ca²⁺ гомеостаза играет ключевую роль при глутаматной эксайтотоксичности нейронов головного мозга. Продолжительная стимуляция глутаматных NMDA рецепторов приводит к перегрузке нейронов ионами Ca²⁺ и Na⁺, нарушению сигнальных, метаболических и энергетических процессов и, в итоге, к поражению мозга в результате отсроченной гибели нейронов. Эти процессы неразрывно связаны с митохондриями, которые являются основным энергетическим депо клетки и участвуют в регуляции внутриклеточного Ca²⁺ гомеостаза. При развитии глутаматной эксайтотоксичности увеличение концентрации Ca²⁺ в клетке синхронизируется с митохондриальной деполяризацией, что служит дополнительным фактором, ведущим к клеточной гибели. Поэтому регуляция Ca²⁺ гомеостаза может являться одним из важных способов коррекции митохондриальной и клеточной дисфункции при глутаматной эксайтотоксичности. Целью настоящего исследования было определить, как подавление поглощения Ca²⁺ митохондриями с помощью нового проникающего ингибитора Ca²⁺ унипортера

DS16570511 (DS) повлияет на биоэнергетику покоящихся нейронов и развитие глутамат-индуцированной гибели нейронов, развитие отсроченной Ca^{2+} дисрегуляции нейронов коры головного мозга, и прояснить механизм этого действия.

Исходя из проведенного нами исследования можно заключить, что DS, описанный в качестве ингибитора Ca^{2+} унипортера, обладает широким спектром воздействий на изолированные митохондрии мозга и культивируемые нейроны. Показано, что 30 мкМ DS гиперполяризует внутреннюю мембрану митохондрий покоящихся клеток. DS в дозах 30 и 45 мкМ достоверно ($p < 0.0001$) задерживал наступление индуцированной глутаматом отсроченной кальциевой дисрегуляции и снижал гибель нейронов. Продемонстрировано, что 30–60 мкМ DS индуцировал увеличение скорости поглощения кислорода нейронами. В изолированных митохондриях мозга крыс DS (30–60 мкМ) ингибировал поглощение ионов Ca^{2+} , подавлял АДФ-стимулированное дыхание. При этом в присутствии ионов Ca^{2+} высокие концентрации DS вызывали коллапс мембранного потенциала. Полученные данные говорят о том, что помимо ингибирования Ca^{2+} унипортера DS влияет на функционирование митохондрий. *Работа поддержана грантом РФФИ (№ 20-15-00120).*

ПОЧЕМУ ПРИ ГИПОКСИИ/ИШЕМИИ УЛУЧШАЕТСЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЗВЕНА ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА МЕЖДУ НЕЙРОНАМИ?

В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, А.М. Сурин, В.Г. Пинелис

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; НМИЦ здоровья детей Минздрава России
Памяти профессора Н.С. Косицына (1934–2020)*

Нобелевский лауреат по физиологии и медицине (1998) Роберт Ферчготт (1916–2009), открывший вместе с Луисом Игнаро (р. 1941) и Фериддом Мурадом (р.1936) механизм расслабления/релаксации сосудов и увеличения их объема при участии оксида азота (NO), стал всемирно известным ученым. Советский/российский ученый Николай Степанович Косицын (1934–2020), еще раньше открывший механизм увеличения объема (улучшение визуализации) центрального звена передачи сигнала между нейронами при участии того же оксида азота, так и остался «бойцом невидимого фронта», несмотря на международные публикации в самом начале его научной деятельности (1964, 1967). Механизм улучшения визуализации шипиков дендритов, а также аксоно-дендритных связей и активной зоны синапса, связанные с увеличением объема центрального звена нейронпередачи, является одним из составляющих компонентов механизма памяти, активация которого происходит при обучении, функциональной гипоксии, а также при гипоксии/ишемии. Возможно, события в центральном звене нейронов мозга, связанные с памятью, обучением и мышлением менее значимы, чем те механизмы, которые работают в стенках сосудов при действии NO и Виагры? Почему именно при гипоксии активируется синтез вещества (NO), вызывающего увеличение объема активной зоны синапса, аксоно-дендритных связей и улучшается визуализация шипиков дендритов?

Анализ данных литературы и результатов собственных исследований позволил нам обосновать концепцию, согласно которой, причиной увеличения объема указанных выше структур, может быть активация при гипоксии цикла оксида азота (нитритредуктазная компонента) за счет перехода гемсодержащих белков при гипоксии в дезокси-форму. Это может приводить к увеличению синтеза молекул NO, который: а) индуцирует пространственное перераспределение белков из растворимого состояния в мембранно-связанное состояние практически во всех структурах, где есть NO, белки и мембраны. б) образование белок-белковых и белок-липидных комплексов в примембранной области, входящей в состав активной зоны постсинаптического нейрона на фоне модуляции контрастности основных элементов цитоскелета; в) ингибирование оксидом азота (NO) электронно-транспортной цепи; г) снижение содержания АТФ; д) нарушение ионного гомеостаза; е) увеличение содержания ионов Na^+ , а вместе с ними и молекул H_2O ; ж) развитие набухания и отека отдельных нейронов, образований и мозга в целом.

РАЗНЫЕ РЕЖИМЫ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ЗАПУСКАЮТ РАЗЛИЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ МОЗГА К ГИПОКСИИ

К.А. Баранова

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Считается, что прекондиционирование (умеренные дозы повреждающего фактора повышают устойчивость к действию высоких доз этого фактора) краткой ишемией или умеренной гипоксией запускает в мозге универсальные протективные молекулярные механизмы. В данной работе на крысах в качестве повреждающей модели использовалась тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГ: 180 Торр, 3 ч), с её помощью изучали адаптивные механизмы, инициируемые тремя видами прекондиционирующих воздействий: три сеанса умеренной гипоксии (ЗУГ: 360 Торр, 2 ч, 3 раза ч/з 24 ч); дистантная ишемия (ДИ: ишемия лапы, 5 мин, 3 раза ч/з 15 мин); один сеанс УГ в сочетании с введением кортикостероида (1УГ+КС: 360 Торр, 2 ч, дексаметазон 0.8 мг/кг). Максимальная выживаемость животных в условиях ТГ наблюдался после ЗУГ, меньший эффект отмечен для ДИ+ТГ, но все три режима одинаково предотвращали неврологические и поведенческие нарушения.

С помощью иммунохимических методов изучали изменения уровня кортикостерона (КС) в крови и глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в мозге крыс. Обнаружено, что основной стресс-гормон крыс кортикостерон в ранний период (1 сут.) после ТГ возрастал примерно в 2 раза, а в отсроченный период (7 сут.) снижался до 30–40% от контрольного уровня. У прекондиционированных ЗУГ особей на 1–7 сут. после ТГ уровень КС оставался двукратно превышающим контрольный. В группе ДИ+ТГ содержание гормона достигало 400% в ранний период и лишь 80% в отсроченный. В крови 1УГ+КС+ТГ животных наоборот наблюдался рост гормонального уровня в отсроченный, но не ранний период. Установлено, что, воздействие ТГ практически полностью подавляет отсроченную (7 сут.) экспрессию ГР во всех исследованных областях мозга, а в гиппокампе также существенно снижает и раннюю. У ДИ+ТГ крыс выявлено значительное увеличение содержания ГР в ранний постгипоксический период, с менее выраженными изменениями на 7 сут. В группе 1УГ+КС+ТГ напротив наблюдается значительное усиление отсроченной, но не ранней ГР экспрессии. Режим ЗУГ+ТГ предотвращает подавление экспрессии ГР в ранний, но не отсро-

ченный, период после ТГ. Можно заключить, что разные режимы прекодиционирования перед тяжелой гипоксией регулируют гормональный и рецепторный статус разными способами, таким образом, механизмы реализации их протективных эффектов могут различаться.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПЕРТИРЕОЗА

Н.И. Венедиктова, И.Н. Соломадин, А.Б. Никифорова, Г.Д. Миронова

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Целью настоящей работы было изучение энергетического обмена и антиоксидантного статуса митохондрий печени крыс на модели гипертиреоза. У экспериментальных животных уровень трийодтиронина и тироксина был повышен в 3 и 4 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, что свидетельствует о развитии гипертиреоза у этих животных. Было установлено, что потребление кислорода выше у крыс с экспериментально индуцированным гипертиреозом при незначительном снижении эффективности окислительного фосфорилирования и дыхательного контроля. Впервые у крыс с гипертиреозом было показано повышение уровня субъединиц дыхательных комплексов электронно-транспортной цепи, однако изменение количества комплексов III и V было недостоверным. Анализ активности ферментов дыхательной цепи митохондрий показал, что активность комплексов I, II и цитратсинтазы повышена, а активность комплексов II+III, III, IV снижена в митохондриях печени экспериментальных животных. Обнаружены изменения в окислительном обмене митохондрий печени: увеличение скорости образования перекиси водорода на 60% и увеличение перекисного окисления липидов на 45%. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в печени подопытных крыс была выше, чем в контрольной. В то же время активность глутатионпероксидазы не изменилась. Полученные данные свидетельствуют о том, что известная активация метаболизма и изменения окислительного статуса при тиреотоксикозе связаны с изменениями функционирования дыхательной цепи и антиоксидантных ферментов митохондрий. *Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00132.*

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АТФ-ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА В СОХРАНЕНИИ СТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ И ЭНДОТЕЛИЯ МИОКАРДА ПРИ РАЗВИТИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА МОДЕЛИ ПАРКИНСОНА

А.А. Мосенцов¹, Е.В. Розова², Н.В. Белослудцева¹, И.Н. Маньковская², Ю.В. Путий², И.Б. Михеева¹, Г.Д. Миронова¹

¹*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;*

²*Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ, Киев, Украина*

По последним представлениям, развитие продолжительного окислительного стресса, при болезни Паркинсона, происходит в результате игибирования первого комплекса дыхательной цепи. Развивающийся при этом окислительный стресс приводит к окислению дофамина, сопровождающееся ингибированием ферментов лизосом, функция которых заключается в утилизации неправильно свернутых белков. Накопление этих белков приводит к появлению телец Леви и нарушению работы мозга. В настоящей работе мы изучали влияние модуляторов активности митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала (митокАТФ) на изменение структуры митохондрий и эндотелия в миокарде крыс при экспериментальном паркинсонизме, вызванном введением ингибитора дыхательной цепи – ротенона. Известно, что метаболический активатор митокАТФ – УДФ не проходит через цитоплазматическую мембрану, но образуется в клетке при введении его предшественника уридина. При экспериментальном паркинсонизме мы обнаружили изменения как в субсарколемальной (СС), так и в интрамиофибриллярной (ИФ) субпопуляциях митохондрий, при этом резко возросло количество структурно поврежденных СС и ИФ митохондрий – в 9,6 и 9,5 раза, соответственно. Помимо этого, наблюдалось значительное увеличение среднего диаметра митохондрий. В СС субпопуляции диаметр митохондрий увеличивался на 54,0%, а в ИФ – на 38,2%. Описанные изменения говорят об ухудшении энергопродукции в органеллах. Наблюдалась также эндотелиальная дисфункция. Отмеченные повреждения могут служить объяснением развития патологии сердечно-сосудистой системы при паркинсонизме, которая является одной из самых распространенных причин летальности пациентов. Внутривенное введение животным уридина усиливало морфогенез митохондрий и увеличивало их диаметр. Известно, что рост диаметра митохондрий в пределах 25-30% считают адаптивной реакцией, направленной на усиление энергетической мощности. Под влиянием уридина в миокарде крыс с экспериментальным паркинсонизмом резко уменьшалось количество структурно поврежденных органелл. Если же блокатор митокАТФ каналов (5-ГД) применялся одновременно с уридином, положительный эффект последнего нивелировался. Таким образом, полученные результаты доказывают кардиопротекторное действие уридина при экспериментальном паркинсонизме.

ОТСРОЧЕННЫЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ГИПОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ КАК ИНДИКАТОР ИХ РЕАКЦИИ НА ДЕФИЦИТ КИСЛОРОДА

Н.В. Хмиль¹, Л.Л. Павлик¹, Э.Л. Германова², Г.Д. Миронова¹, Л.Д. Лукьянова²

¹*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;* ²*НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва*

Впервые проведено изучение ультраструктуры митохондрий (Мх) коры головного мозга (КГМ) крыс с разной резистентностью к дефициту O₂ (высокоустойчивых – ВУ и низко-устойчивых – НУ) в зависимости от тяжести гипоксических воздействий. Исследовано влияние ежедневного часового (в течение 12 дней) воздействия трех режимов гипобарической гипоксии (ГБГ): («слабого» – 14% O₂; «средней» тяжести – 10% O₂; «тяжелого» – 8% O₂ во вдыхаемом воздухе). В условиях нормоксии митохондрии КГМ ВУ крыс отличались от НУ более электронно-плотным матриксом, более плотной упаковкой крист и большим числом удлиненных Мх, что свидетельствует об их более высокоэнергетизованном метаболическом состоянии (большей активности окислительного фосфорилирования и повышенной продукции АТФ). После курсового применения «слабого» ГБГ

структурные изменения в Мх происходили преимущественно у НУ крыс (увеличение числа удлинённых Мх и мелких Мх (в 2 раза) с повышенной плотностью матрикса и крист), что отражает появление новой популяции органелл с большей энергетической активностью. При многократном применении ГБГ «средней» тяжести структурно-морфологические изменения Мх у НУ животных усиливались (еще большее увеличение числа мелких и удлинённых Мх с плотно упакованными кристами). Существенно и разнонаправленно менялось количество гипер-удлинённых митохондрий, увеличиваясь в 3 раза у НУ животных и уменьшаясь в 2 раза у ВУ. В целом все это может отражать у НУ образование митохондриального ретикулума, переход на более высокий уровень энергетической регуляции и завершение формирования адаптивных процессов. При «тяжелой» курсовой ГБГ у НУ животных число мелких Мх увеличилось незначительно, а число гипер-удлинённых Мх увеличивалось в 4 раза. При этом у них появлялись Мх с вакуолями внутри матрикса и локальным повреждением крист. Наоборот, у ВУ число мелких и гипер-удлинённых Мх снижалось. Нарушения ультраструктуры митохондрий являются признаком декомпенсации энергетического обмена. Таким образом, многоступенчатый, фазный процесс формирования долгосрочной адаптации к гипоксии, зависящий от силы и длительности гипоксического воздействия, сопровождается в КГМ сопутствующими ультраструктурными изменениями митохондрий, отражающими различную степень их энергизации. *Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00029 А.*

УПРАВЛЕНИЕ ВИСЦЕРАЛЬНЫМИ СИСТЕМАМИ ОРГАНИЗМА

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕДИОБАЗАЛЬНОЙ ГРУППЫ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА ПРИ СТАРЕНИИ

П.М. Маслюков, М.Б. Корзина, В.В. Порсева, Е.С. Ширина

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

Гипоталамус – филогенетически старый отдел промежуточного мозга, который играет важную роль в поддержании постоянства внутренней среды и обеспечении интеграции функций автономной, эндокринной, соматической систем. Есть предположение об участии гипоталамуса в механизмах старения, при этом важная роль отводится средней группе ядер, включая вентромедиальное (ВМЯ) и дорсомедиальное (ДМЯ) ядра гипоталамуса. Целью исследования являлся анализ изменений нейрохимического состава, экспрессии микроРНК let-7, miR-9, miR-132, miR-218, импульсной электрической активности отдельных нейронов в ВМЯ и ДМЯ гипоталамуса у самцов молодых (2-3 месяца) и старых (2-2,5 года) крыс с использованием иммуногистохимических, электрофизиологических методов, вестерн-блоттинга и ПЦР-РТ. Результаты показали, что нейроны обоих ядер функционально гетерогенны и различаются по нейрохимическому составу и характеру фоновой электрической активности. В обоих ядрах при старении изменялась экспрессия кальций-связывающих белков кальбиндина, кальретинина, а также NO-синтазы, сиртуина 1, стероидного фактора 1. У всех крыс в ДМЯ большинство составляли нейроны с нерегулярной активностью, в ВМЯ – нейроны с нерегулярной активностью и с залпами 2-3 импульса. Средняя частота импульсации в ВМЯ составляла $3,7 \pm 0,21$ имп/с, в ДМЯ – $3,1 \pm 0,36$ имп/с. С возрастом частота разрядов нейронов гипоталамуса достоверно снижалась до $2,2 \pm 0,25$ имп/с в ВМЯ и до $2,1 \pm 0,18$ имп/с в ДМЯ. В ДМЯ мы наблюдали статистически значимое снижение экспрессии let-7a-5p, miR-9a-3p, miR-132-3p и miR-218a-5p у старых самцов крыс и снижение miR-132-3p и miR-218a-5p у старых самок крыс. В ВМЯ обоих полов мы не обнаружили статистически значимых различий экспрессии микроРНК. Таким образом, при старении происходит изменение морфофункциональных характеристик нейронов ВМЯ и ДМЯ гипоталамуса, отвечающих за регуляцию метаболических процессов. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00039).*

ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ И ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ СТАРЕНИИ

А.И. Емануилов, А.А. Спиричев, М.Б. Корзина

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

NO является одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нервной, иммунной и эндокринной системе. Есть предположение об участии NO в механизмах старения. Цель исследования – выявление экспрессии нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) и индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) в симпатических узлах, преганглионарных симпатических нейронах спинного мозга и ядрах гипоталамуса у молодых и старых крыс. Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 3-4 месяца (n=6) и 2-2,5 года (n=6) с использованием иммуногистохимических методов двойного мечения антителами и вестерн-блоттинга. Результаты показали, что у старых животных количество нейронов иммунопозитивных к nNOS и степень иммунофлуоресценции к nNOS, а также экспрессия nNOS и iNOS по данным вестерн-блоттинга увеличивались в ядрах гипоталамуса, в частности в вентромедиальном и дорсомедиальном. При старении в симпатических узлах в нейронах nNOS не выявлялась, но определялась в преганглионарных волокнах. При этом экспрессия nNOS в симпатических узлах уменьшалась у старых животных по данным вестерн-блоттинга. В преганглионарных симпатических нейронах спинного мозга у старых животных достоверных изменений экспрессии nNOS и iNOS по сравнению с молодыми не наблюдалось. Таким образом, при старении в различных отделах автономной нервной системы наблюдаются разнонаправленные изменения экспрессии nNOS и iNOS. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00039).*

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНОГО СОСТАВА МЕТАСИМПАТИЧЕСКИХ ЭНТЕРАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

А.Ф. Будник¹, П.М. Маслюков²

¹Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик; ²Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

Нейроны интрамуральных ганглиев кишки существенно варьируют по своим иммуногистохимическим характеристикам. В постнатальном онтогенезе в автономной нервной системе происходит изменение нейрохимического состава. Целью исследования явилось изучение иммуногистохимических характеристик ганглиев тонкой и толстой кишки в постнатальном онтогенезе. Исследовались ганглии тонкой и толстой кишки крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние) при помощи иммуногистохимического метода двойного мечения антителами с последующей флуоресцентной микроскопией. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Нейроны интрамуральных ганглиев кишки существенно варьируют по своим иммуногистохимическим характеристикам. В постнатальном онтогенезе в интрамуральных узлах происходит изменение нейрохимического состава. Уже с момента рождения основная часть ганглионарных нейронов метасимпатической системы является холинергической и содержит фермент синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазу (ХАТ). Наряду с холинергическими нейронами, в интрамуральных ганглиях крыс различных возрастных групп выявлены нейроны, содержащие другие нейротрансмиттеры, в том числе нейропептид Y (НПУ) и синтазу оксида азота (НОС), а также различные кальций-связывающие белки, включая кальбиндин (КБ) массой 28 кДа и кальретицин (КР). В онтогенезе процент НПУ-позитивных нейронов достоверно не меняется. Процент НОС-позитивных нейронов достоверно уменьшается в первые 10 суток жизни крыс. Доля КР- и КБ-иммунореактивных нейронов увеличивается в первые 10 суток жизни. С момента рождения все НПУ-иммунореактивные нейроны солокализуют ХАТ. Большая часть НПУ-содержащих нейронов также содержит ВИП и КБ. В старости процент НПУ-иммунореактивных нейронов, содержащих КБ, ВИП и ХАТ снижается. У юных крыс от новорожденных до 20 суток жизни, а также у старых животных в НПУ-позитивных нейронах выявляется nNOS. Таким образом, на ранних этапах онтогенеза и в старости энтеральные нейроны метасимпатической системы содержат более широкий спектр нейротрансмиттеров по сравнению со взрослыми животными.

NADPH-ДИАФОРАЗА В НЕЙРОНАХ СРЕДИННЫХ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА И БОКОВОГО РОГА СПИННОГО МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ КРЫСЫ

В.В. Порсева¹, М.Б. Корзина¹, А.А. Спиричев¹, П.М. Маслюков¹, А.Д. Ноздрачев²

¹Ярославский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ярославль; ²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Гипоталамус оказывает влияние на вегетативную нервную систему посредством стволовых структур мозга, в частности через полисинаптические пути ретикулярной формации с вегетативными ядрами спинного мозга. Интеграция вегетативных центров гипоталамуса реализуется с участием нейронов, локализованных в топографически различных его областях (ядрах, группах ядер) [А.Д. Ноздрачев, 1997]. В настоящее время объединение структурных и функциональных характеристик систем трактуется с позиций их нейрохимических свойств. Целью данного исследования явилось изучение морфометрических характеристик нейронов ядер туберальной группы гипоталамуса и симпатических ядер грудного спинного мозга, содержащих NADPH-диафоруазу у молодых и старых крыс. Исследование проведено на самках крыс Вистар в возрасте 2-3 мес (n=5) и 24 мес (n=5). Определяли площадь сечения и проводили подсчет нейронов с NADPH-диафоруазой (NADPH-д) в вентромедиальном (ВМЯ), дорсомедиальном (ДМЯ) ядрах гипоталамуса и в промежуточно-латеральном ядре (ПЛЯ) T2 сегмента спинного мозга на криостатных срезах, толщиной 12 мкм, гистохимическим методом с последующей световой микроскопией. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011). Результаты показали, что у молодых крыс во всех изученных ядрах определялись нейроны с NADPH-д. Максимальное содержание позитивных нейронов выявлено в ПЛЯ, что составило 42,5±4,1%, минимальное – в ядрах гипоталамуса, где значимых различий в количественном содержании не обнаружено. У 24-месячных крыс в ПЛЯ наблюдалось увеличение содержания нейронов с NADPH-д в 1,4 раза, что составило 61,2±3,6%. У старых крыс относительное содержание диафоруазо-позитивных клеток увеличивалось в ВМЯ – в 1,8 раза (39,3±2,5%) и в ДМЯ – в 1,6 раза (32,5±2,3%). При этом, анализ площади сечения нейронов с NADPH-д выявил отсутствие значимых возрастных изменений, размеры клеток были менее 100 мкм² в ядрах гипоталамуса и менее 200 мкм² в ПЛЯ. Таким образом, старение сопровождалось увеличением количества нейронов, содержащих NADPH-диафоруазу в вегетативных центрах спинального и супраспинального уровней. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда, проект № 19-15-00039.*

ДЕФИЦИТ ОКСИДА АЗОТА ВО ВРЕМЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ НЕРВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЦА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

О.С. Тарасова^{1,2}, Е.К. Селиванова², А.А. Борзых², О.О. Кирюхина³, А.А. Швецова¹, В.С. Лазаренко¹, Ю.А. Макуха¹, К.А. Богоцкой¹, А.Д. Иванова¹, Я.А. Воронина¹, В.С. Кузьмин¹

¹МГУ им. М.В. Ломоносова; ²ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН; ³Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва

Оксид азота (NO) играет ключевую роль в регуляции сердечно-сосудистой системы. Вместе с тем NO регулирует процессы дифференцировки клеток сердца и сосудов, а также нейронов автономной нервной системы. Данная работа была направлена на проверку гипотезы, что снижение биодоступности NO в организме матери сопровождается долговременными изменениями нервной регуляции сердца у потомства. Самки крыс Вистар потребляли с питьевой водой ингибитор NO-синтазы L-NAME с 10 дня беременности до родов (39 мг/кг/сутки). Содержание метаболитов в крови у самих самок и их новорожденного потомства было значительно ниже, чем при нормально протекающей беременности, однако не отличалось от нормальных значений у

потомства в возрасте 2 нед. и старше. В возрасте 2 нед. в предсердном миокарде потомства самок, потреблявших L-NAME, были значительно ослаблены эффекты ацетилхолина на длительность потенциала действия (микроэлектродная техника) и на амплитудно-временные показатели Ca²⁺-волн (регистрация с использованием Fluo-4). Изменений аднергической регуляции сердца у 2-нед. крысят не наблюдалось. В возрасте 16-18 нед. у потомства потреблявших L-NAME самок выявлено выраженное снижение как парасимпатических, так и симпатических кардиотропных влияний, что проявлялось: (1) в 1.5-кратном уменьшении изменений ЧСС при введении блокаторов – метилатропина и атенолола; (2) в значительном подавлении спонтанных колебаний ЧСС (спектральный анализ), в том числе барорефлекторной природы. Кроме того, для взрослого потомства самок, потреблявших L-NAME, было характерно уменьшение холинергических эффектов на ЧСС (введение агониста М-холинорецепторов метахолина) и на длительность потенциала действия в предсердном миокарде. Таким образом, снижение регуляторного влияния NO в организме матери во время беременности программирует у потомства долговременные изменения нервной регуляции сердца, прежде всего, парасимпатической природы. В свете представлений о кардиопротекторном влиянии ацетилхолина такие изменения могут повышать риск возникновения сердечных аритмий. Они также, несомненно, снижают адаптивные возможности сердца и организма в целом. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда №19-15-00210.*

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОННОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ВЕНТРОМЕДИАЛЬНОМ ЯДРЕ ГИПОТАЛАМУСА У КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

К.Ю. Моисеев, А.А. Спиричев

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

Несмотря на важную роль вентромедиального ядра гипоталамуса (ВМЯ) в регуляции пищевого поведения, существуют лишь отдельные работы, посвященные изучению функциональных характеристик этого ядра, в частности ритмической активности. Старение сопровождается морфологическими и функциональными изменениями нейронов ЦНС. Существуют многочисленные данные, показывающие уменьшение частоты импульсации нейронов ЦНС при старении. Тем не менее, отсутствуют данные относительно функциональных особенностей нейронов ВМЯ у старых животных. Целью работы являлось определение параметров фоновой электрической активности нейронов ВМЯ в сравнении с параметрами вызванной электрической нейронной активности при введении глюкозы и инсулина у старых крыс по сравнению с взрослыми. Результаты показали, что импульсная активность нейронов ВМЯ у всех животных, включая взрослых и старых, носила нерегулярный характер, при этом выделяются периоды относительно стабильной активности, чередующиеся с паузами. При этом во время стабильной активности можно было выделить нейроны с постоянной ритмической активностью, нерегулярной аритмической активностью, а также с групповыми залпами из двух-трех спайков. У взрослых и старых крыс примерно половина нейронов во время стабильной активности разряжалась ритмично с постоянной частотой. Средняя частота фоновой импульсации в ВМЯ взрослых крыс составляла $1,5 \pm 0,20$ имп/с, которая при введении глюкозы возрастала до $3,9 \pm 0,31$ имп/с (различия достоверны по сравнению с фоновой частотой). У старых животных средняя фоновая частота разрядов нейронов ВМЯ была достоверно меньше по сравнению со взрослыми крысами, составляя $0,9 \pm 0,13$ имп/с ($p < 0,01$). При введении глюкозы у старых крыс средняя частота импульсации достоверно увеличивалась по сравнению с фоновой до $2,2 \pm 0,18$ имп/с ($p < 0,05$), однако это увеличение было достоверно меньше по сравнению с вызванной импульсацией у взрослых крыс ($p < 0,05$). Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что старение может быть вызвано уменьшением частоты импульсации в гипоталамических нейронах, в том числе ВМЯ. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).*

СВЯЗЬ МИКРОРНК ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА С ПРОЦЕССАМИ СТАРЕНИЯ У КРЫС

Л.Г. Панкратова

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

МикроРНК (миРНК) участвуют в контроле различных процессов в нервной системе, в том числе в контроле функций гипоталамуса. Гипоталамус участвует в регуляции биологических ритмов, интеграции вегетативных, эндокринных и поведенческих функций, а также может вносить вклад в развитие и контроль старения. При этом важная роль в контроле старения отводится средней группе ядер, включая дорсомедиальное ядро (ДМЯ). Целью исследования являлся анализ экспрессии микроРНК в ДМЯ, а также изменений содержания половых гормонов, С-реактивного белка, миоглобина, фактора роста фибробластов, гормона роста у самцов и самок молодых (2-3 месяца) и старых (2-2,5 года) крыс до и спустя 28 суток после микроинъекции ингибиторов или миметиков микроРНК в ДМЯ. Результаты показали, что в ДМЯ мы наблюдали статистически значимое снижение экспрессии let-7a-5p, miR-9a-3p, miR-132-3p, miR-218a-5p у старых самцов крыс по сравнению с молодыми животными. Экспрессия let-7a-5p, miR-9a-3p и miR-218a-5p снизилась в пять раз, а экспрессия miR-132-3p – более чем в три раза. У старых самок крыс мы наблюдали меньшее, но достоверное снижение экспрессии miR-132-3p и miR-218a-5p в два и два с половиной раза соответственно. При этом экспрессия let-7a-5p и miR-9a-3p у старых самок достоверно не изменялась. Инъекция миметиков микроРНК у старых крыс в ДМЯ спустя 28 суток приводила к достоверному увеличению содержания миоглобина, фактора роста фибробластов, гормона роста, а также снижению С-реактивного белка. Таким образом, старение связано с изменением экспрессии микроРНК в ДМЯ гипоталамуса. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).*

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ НАРУШЕНИЯ ЭКЗОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ САМОК КРЫС В МОДЕЛИ ХОЛЕСТАЗА БЕРЕМЕННЫХ

Д.В. Руденко, Н.С. Сиротина, Ю.Б. Костенко, Е.Д. Снигирева, А.В. Курынина, Т.А. Балакина, О.В. Смирнова

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Пролактин (ПРЛ) – мультифункциональный гормон, для которого было показано участие в регуляции работы эндокринной части поджелудочной железы (ПЖ). В условиях обструктивного холестаза (ОХ) концентрация ПРЛ в крови повышается, в том числе и при холестазе беременных. Известно, что в этих условиях нарушается работа ПЖ. Ранее было показано, что при ОХ изменяется характер экспрессии рецептора ПРЛ и соотношение его изоформ в печени, почках и в ПЖ у крыс. Для уточнения роли ПРЛ в развитии панкреатита в условиях ОХ целью работы стало исследование морфофункциональных изменений экзокринной части ПЖ самок крыс в модели холестаза беременных. Работу проводили на половозрелых самках крыс, которых делили на следующие группы: ложнооперированные самки, самки с ОХ и самки в модели холестаза беременных. ОХ индуцировали перевязкой общего желчного протока (ОЖП) в дистальной его части. Модель холестаза беременных включала в себя одновременную перевязку ОЖП и трансплантацию гипофиза под капсулу почки (по общепринятой методике трансплантации гипофиза донора под почечную капсулу реципиента). Через 14 дней после операции проводили забор ткани ПЖ из головной и хвостовой ее частей, а также забор сыворотки для определения активности панкреатической липазы. Гистологические срезы ПЖ окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори. Структура паренхимы ПЖ в опытных группах была изменена, особенно в хвостовой ее части. При развившемся панкреатите в обеих группах самок с холестазом были обнаружены метаплазированные протоки, тубуло-островковые и тубуло-ацинарные комплексы, воспалительная инфильтрация, фибрирование паренхимы железы, ацинарные некрозы, а также расширенные междольевые протоки (отеки). На фоне гиперпролактинемии в группе самок крыс в модели холестаза беременных ПЖ в хвостовой части не имела четкого строения, наблюдалась выраженная инфильтрация, сильное повреждение ацинарных клеток, что сопровождалось выраженным фиброзом паренхимы ПЖ. В головной части ПЖ можно было отметить более сильную очаговую инфильтрацию, межацинарные отеки. Активность липазы достоверно снижалась по сравнению с группой самок в условиях ОХ, что может подтверждать атрофию ацинарных клеток. Ранее нами было показано выраженное снижение экспрессии гена короткой изоформы рецептора ПРЛ в ПЖ на фоне ОХ, что может быть связано с ее преобладающим участием в работе ацинарных и протоковых клеток, работа которых особенно сильно нарушается в модели холестаза беременных. *Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300075-6.*

МЕМБРАННОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ И МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА У КРЫС С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭНТЕРОКОККОВ

А.Л. Сепп, Л.В. Громова

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Действие конкретных пробиотических штаммов на мембранное пищеварение и микробиоту в кишечнике при коррекции кишечных дисбиозов остается не вполне ясным. Цель работы – оценить влияние штаммов *Enterococcus faecium* L3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на микробиоту и активности мембранных пищеварительных ферментов в кишечнике у крыс при дисбиозе, индуцированном антимикробными препаратами. Опыты проводились на крысах Вистар (самцы, масса тела 200–250 г). В группах O1 и O2 и в контроле K1 в первые три дня животным, ежедневно вводили ампициллин и метронидазол (в/ж 15 и 10 мг на животное), а в контроле K0 – дистиллированную воду. Затем в течение 14 дней животным групп O1 и O2 вводили в/ж соответственно *E. faecium* L3 и *E. faecium* 1-35 в дозе 8 lg КОЕ/мл, а в группах K1 и K0 – дистиллированную воду. На разных сроках опыта определяли состав микробиоты в фекалиях, используя бактериологические методы, а также, после декапитации животных, активности пищеварительных ферментов в слизистой оболочке кишечника и в фекалиях, используя биохимические методы. Применение пробиотиков в течение 14 дней способствовало снижению содержания *E. coli* в микробиоте кишечника, а в случае применения *E. faecium* L-3 в течение 5 и 14 дней в ней повышалось содержание лактобацилл по сравнению с контролем K1. Под влиянием обоих штаммов в слизистой оболочке тонкой кишки через 3 дня снижались активности мальтазы, α -амилазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N по сравнению с K1, а через 14 дней наблюдалась тенденция к восстановлению активностей этих ферментов до уровня в K0. В фекалиях активности аминопептидазы-N и мальтазы в группах O1 и O2, будучи повышенными через 3 дня после индукции дисбиоза, снижались через 7 и 14 дней применения пробиотиков по сравнению с K1. Таким образом, штамм *E. faecium* L-3, в отличие от *E. faecium* 1-35, более эффективен при восстановлении бактерий вида *Lactobacillus* spp., а при длительном применении снижает активности ферментов, участвующих в углеводном, белковом и жировом обменах, что может быть важно при лечении дисбиозов, вызванных метаболическими заболеваниями.

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ И ТОРМОЗНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА

ОСОБЕННОСТИ ТРЕНИРОВКИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ В МОЛОДОМ И ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

О.М. Разумникова, В.А. Каган

Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск

Рост доли пожилых людей среди населения экономических развитых стран и связанный с этим риск развития деменции вызывает многочисленные исследования механизмов старения мозга и способов профилактики когнитивного дефицита. Многочисленными исследованиями, что когнитивная тренировка способствует повышению пластичности нейронных сетей мозга и активации когнитивных резервов для профилактики патологического старения. Однако мнения расходятся относительно возрастного диапазона результативности тренировки и ее режимов: следует ли начинать тренировку памяти в молодом возрасте или уже при наступлении симптомов когнитивного дефицита. В связи с этим целью работы стало выяснение временной динамики изменений кратковременной зрительной пространственной памяти пожилых людей в сравнении с молодыми и зависимости от ее базового уровня. К исследованию были привлечены 71 человек пенсионного возраста (Гр_П) и 206 студентов университета (Гр_С). Участникам исследования была прочитана лекция о механизмах старения мозга и роли гиппокампа в организации памяти и путях улучшения или восстановления его функций при тренировке пространственной памяти. После чего предлагалось систематически выполнять задание «Visual Patterns Test», размещенное на сайте psytest.nstu.ru, до достижения устойчивого воспроизведения 80-90% памяти. Согласно результатам анализа собранных данных установлено, что при достоверно более низких значениях кратковременной зрительной пространственной памяти в Гр_П, чем в Гр_С в первой сессии тестирования для повышения ее эффективности пожилым требуется не менее 80 сессий тренировки, тогда как молодые достигают воспроизведения в 80-100% за 20 сессий. Достижение максимальных показателей памяти быстрее происходит при ее изначально высоких значениях, однако эффект тренировки в первых сессиях в большей степени проявляется у лиц с низкими значениями памяти независимо от возраста. Можно заключить, что эффективность тренировки пространственной памяти на ее первых этапах обусловлена потенциалом обучения, а реализация компенсаторных ресурсов мозга и достижение сравнимого с молодыми результата у лиц пожилого возраста определяется высоким уровнем исполнительного контроля поведения, который обеспечивал длительную систематическую тренировку только 7% пожилых участников исследования. *Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках научного проекта № 19-29-01017 и Министерства науки и высшего образования в рамках госзадания (проект № FSUN-2020-0009).*

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ В РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ У ДЕТЕЙ С ОВЗ

Э.Б. Дунаевская, С.Н. Никифорова, И.М. Деханова

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург

Выделение группы детей с задержкой психического развития (ЗПР) произошло в 50-х годах 20 столетия в связи с объявлением всеобщего среднего образования и выявлением в связи с этим группы детей, стойко не успевающих в школе (Малофеев, 2001). В основе обучаемости как индикатора зоны ближайшего развития и основы для прогнозирования индивидуального маршрута развития таких детей (Бабкина, Коробейников, 2018) лежат механизмы рабочей памяти. При оценке этих механизмов, обычно, опираются на два: забывание, обусловленное воспроизведением (retrieval-induced forgetting, RIF) и «обучение, обусловленное воспроизведением» (retrieval-based learning – RBL) (Cinel et al., 2018). Оба механизма действуют одновременно и являются дополнительными: если RIF представляет собой ухудшение воспроизведения последующих стимулов из-за необходимости удерживать предыдущие, то RBL – процесс, связанным с улучшением запоминания при неоднократном тестировании. В тоже время, не смотря на многочисленные работы, направленные на исследование причин ЗПР у детей, нет данных о том, как работают эти два механизма у таких детей в зависимости от возраста. Это и определило задачу данного исследования: сопоставить параметры рабочей памяти нормативно развивающихся детей и детей с ЗПР. В исследовании участвовали дети с ЗПР первого и шестого классов и дети тех же уровней средней школы с нормативным развитием. Рабочую память оценивали с помощью методики О.М. Разумниковой (Разумникова, Николаева, 2018). Предполагалось, что дети с ЗПР будут отличаться худшим механизмом обучения, обусловленного запоминанием. Результаты же показали, что у этих детей страдает не столько механизм обучения, сколько механизм забывания. Это соответствует данным А.Р. Лурии (2012), обсуждаемыми в «Маленькой книжке о большой памяти», согласно которым эффективному мышлению мешает неспособность забывать информацию. Такое понимание направляет работу с детьми ЗПР не только на повышение эффективности запоминания, но и на тренировку забывания.

ТОРМОЗНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ВЕСТИБУЛЯРНОГО АППАРАТА У ДЕТЕЙ

В.Л. Ефимова

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург

Тормозный контроль является важнейшей составляющей когнитивного развития ребенка, которая обеспечивает успешность в обучении. Это способно подавить возможное, но не соответствующее цели поведение для выполнения запланированного, соответствующего цели поведения (Bari, Robbins, 2013; Luna, 2009; Nigg, 2000). Мы предположили, что на формирование тормозных процессов в младшем школьном возрасте могут оказывать негативное влияние дисфункции вестибулярной системы (Ефимов, Ефимова, 2020). Эти дисфункции могут быть выявлены только с использованием аппаратных исследований. Вестибулярная система устроена достаточно сложно, а взаимосвязь ее функционального развития с когнитивными функциями у детей изучена недостаточно. В нашем исследовании изучались особенности функционирования вестибулярного аппарата у

детей с трудностями в обучении, проявлениями гиперактивности и невнимательности. Для этого использовалась оригинальная батарея аппаратных исследований (Ефимова, Новожилов, 2020), в которую входили следующие методики: вестибулярные миогенные вызванные потенциалы, оценка постротационного нистагма с регистрацией окулограммы, оценка вестибулоглазного рефлекса и оптокинетического нистагма методом айттрекинг. Нам удалось доказать, что незавершенные процессы функционального развития вестибулярной системы ребенка младшего школьного возраста могут препятствовать формированию тормозного контроля. Полученные экспериментальные результаты позволяют создать конкретные рекомендации для каждого ребенка с трудностями в обучении.

КОДИРОВАНИЕ ПАМЯТИ О ТИПЕ И ПОЛОЖЕНИИ ОБЪЕКТОВ В ПРОСТРАНСТВЕ НЕЙРОНАМИ ГИППОКАМПА И РЕТРОСПЛЕНИАЛЬНОЙ КОРЫ У МЫШЕЙ

О.И. Ивашкина^{1,2,3}, К.А. Торопова^{1,2,3}, О. Рогожников¹, В.В. Плюснин^{2,4}, В.П. Сотсков^{1,4}, И.В. Федотов⁵, К.В. Анохин^{1,3}

¹Институт перспективных исследований мозга, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ²КК НБИКС-нт, НИЦ «Курчатовский институт», Москва; ³НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва; ⁴Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный; ⁵Физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Нейронное кодирование информации об окружающей среде находится в центре внимания нейробиологии в течение долгого времени. Данная работа посвящена проверке гипотезы о том, что нейроны в гиппокампе и ретроспленальной коре (РСК) кодируют информацию о пространстве и объектах, соответственно. Нами был разработан подход, сочетающий оптическую регистрацию активности нейронов и оценку поведения животных при решении задач распознавания объектов нового типа и находящихся в новом месте. Мы регистрировали кальциевую активность, связанную с типом или положением объекта в пространстве, в РСК и гиппокампе CA1 мышей с помощью метода волоконно-оптической фотометрии. Мы обнаружили увеличение количества кальциевых событий в РСК, в те моменты, когда животные обследовали знакомый объект, находящийся в новом месте. Также обнаружили снижение активности РСК при обследовании объекта нового типа. Затем была разработана модель распознавания типа (Mobile Home Cage) – установка на воздушной подушке, в которой закрепленное за голову животное может передвигаться и исследовать окружающую среду. Мы показали, что мыши активно исследовали МДК со зрительными ключами и объектами и успешно формировали память как о типе, так и о положении объектов. С помощью мультифотонной микроскопии и минимикроскопии NVista была зарегистрирована кальциевая активность идентифицированных нейронов РСК и CA1 во время выполнения задач РТО и РМО в МДК. Нейроны CA1 демонстрировали увеличение активности в ситуациях новизны, например, при помещении в арену нового объекта или перемещении его на новое место. Также в CA1 были обнаружены специализированные клетки, специализации которых не зависели от положения и типа объектов в МДК. Таким образом, мы показали, что гиппокамп кодирует информацию о пространстве, включая объекты в нем, но независимо от их типа и конкретного положения. Мы также провели популяционный анализ активности нейронов в РСК и показали, что эта область специфически активизируется в связи с типом объектов, независимо от их положения. Эти результаты свидетельствуют в пользу выдвинутой гипотезы – о независимом кодировании информации о пространстве в гиппокампе и информации об объектах в РСК. *Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2020-801).*

МЕХАНИЗМЫ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ У ДОШКОЛЬНИКОВ

С.А. Буркова, В.С. Меренкова

*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург;
Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, Елец*

Актуальность исследования эффективности рабочей памяти состоит в том, что она лежит в основе процессов обучения, поскольку прочно связана с вниманием (Cowan et al., 2006), формированием новых моторных и сенсорных навыков (Leonard et al., 2015), обеспечивает освоение языков (Weiland et al., 2014), процессы чтения (Kudo et al., 2015) арифметические действия (Stagg et al., 2017). Именно поэтому снижение функционирования рабочей памяти ведет к тем или иным трудностям в обучении, в частности доказана связь с языковыми проблемами (Archibald, 2017), дислексией и трудностями в освоении чтения (Jeffries et al., 2004), дискалькулией (Szucs et al., 2013). Более того, ухудшение рабочей памяти отражается на самом процессе обучения в школе: от снижения уровня запоминания и выполнения инструкций (Jaroslawska et al., 2016) до невозможности планирования и решения учебных задач (Alloway et al., 2009). Функция рабочей памяти состоит в том, чтобы связывать элементы актуальной задачи, которые стояли ранее, с теми, которые будут реализовываться позже, а также контролировать последовательность решения, сохраняя промежуточные результаты всех этапов (Allen et al., 2009). При этом все эти промежуточные элементы могут меняться, трансформироваться, что позволяет реализовать цель в изменчивых условиях. Именно поэтому сохранение промежуточных результатов до конца выполнения задачи обеспечивает успех ее реализации (Merenkova et al., 2020). В настоящее время обсуждается несколько теоретических моделей функционирования рабочей памяти. Одна из первых моделей – компонентная модель – основывается на предположении о том, что рабочая память является особым видом памяти и включает ряд составных частей, представляющих собой отдельные отсеки для хранения различных типов информации (Baddeley et al., 1974). В течение 40 лет эта модель постоянно модернизировалась (Baddeley, 2000) и показала существенную эффективность. Однако согласно Cowan (2005, 2008), рабочая память не является отдельным видом памяти, но представляет собой активированную часть долговременной памяти. Надежных данных, позволяющих отдать предпочтение той или иной точке зрения, сейчас нет, поскольку прогнозы этих двух моделей порой очень близки. Обсуждению эффективности каждой из моделей будет посвящен доклад.

СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ ПОДРОСТКОВ С ОСОБЕННОСТЯМИ ВОСПРИЯТИЯ ИНСТРУКЦИИ В ИНТЕРНЕТЕ

Е.И. Николаева, Н.В. Сутормина

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург

Тексты в интернете, с одной стороны, открывают многообещающие перспективы для обучения и познания, с другой стороны, могут нести опасный контент, направляющий человека на неадекватные действия (Guo et al., 2016). Особенно важно изучение этой проблемы в отношении подростков, которые вынуждены в настоящий момент проводить значительное время в интернете в поиске значимой информации, с другой стороны, их психофизиологические особенности могут либо облегчать понимание текста или, напротив, ухудшать. Одним из наиболее подходящих инструментов, позволяющих оценить поведение человека при чтении текста в интернете, можно считать окулографию- метод отслеживания точки пересечения оптической оси глазного яблока и плоскости наблюдаемого объекта или экрана (Николаева, Сутормина, 2020). Однако между движением глаз и когнитивным процессом существует множество звеньев, что требует применения дополнительных инструментов. Таким инструментом может быть рабочая память (Archibald, 2016). Наиболее обсуждаемые механизмы, функционирующие в рабочей памяти – забывание, обусловленное воспроизведением (retrieval-induced forgetting, RIF) и «обучение, обусловленное воспроизведением (retrieval-based learning – RBL) (Cinel et al., 2018). RIF представляет собой ухудшение воспроизведения последующих стимулов как следствие воспроизведения близких по какому-то параметру предыдущих стимулов. RBL – обратный по отношению к RIF процесс, состоящий в том, что каждое последующее воспроизведение в рабочей памяти ведет к лучшему запоминанию информации при неоднократном тестировании. Все это определило задачу данного исследования: изучить связь параметров рабочей памяти подростков с особенностями восприятия инструкции в интернете. Изучение рабочей памяти выполнено с использованием оригинальной компьютеризированной методики (Разумникова, Николаева, 2018). По результатам оценки рабочей памяти испытуемые были разделены на две группы: с высоким эффектом RIF и высокими результатами RBL. Группы с эффектами RIF и RBL отличаются способом восприятия текста: группа с эффектом RIF дольше читает текст и часто возвращается к уже прочитанному. Группа с эффектом обучения, обусловленного воспроизведением, быстрее понимает текст и не нуждается в возвратах к уже прочитанному

ТРАВМАТИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

К.А. Торопова^{1,2,3}, О.И. Ивашкина^{1,2,3}, К.В. Анохин^{2,3}

¹НИЦ Курчатовский институт; ²МГУ им. М.В. Ломоносова; ³НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва

Механизмы посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) в последние годы привлекают все большее внимание. Однако, несмотря на большие успехи в изучении ПТСР механизмы развития этого расстройства до сих пор не ясны. Целью данной работы является установление основ патологической устойчивости травматической памяти, формирующейся при развитии ПТСР, а также различий между механизмами формирования нормальной и травматической памяти. Мы изучили зависимость развития ПТСР от синтеза белка при консолидации травматической памяти. Мыши, которым вводили ингибитор синтеза белка циклогексимид (90 мг/кг) за 30 мин до индукции ПТСР, сохраняли ассоциативную память, но не проявляли выраженной тревожности ни в одном из тестов. Аналогично, блокада синтеза белка при воспроизведении травматической памяти почти полностью снимала неспецифические симптомы травмы, но не влияла на ассоциативную память. Эти результаты показывают диссоциацию между ассоциативными и неассоциативными последствиями травматического опыта с точки зрения их чувствительности к фармакологическим воздействиям. Мы также изучали зависимость развития ПТСР от процессов *de novo* метилирования. Введение ингибиторов метилтрансфераз 5-AZA и RG108 (0,5 мг/кг) за 30 мин до травматического эпизода уменьшало симптомы ПТСР у мышей, но не снимало их полностью. Ингибирование процессов метилирования при воспроизведении травматической памяти, по нашим данным, не влияло на симптомы ПТСР. Используя *c-Fos* нейромиджинг мы проанализировали активность мозга мышей при формировании нормальной памяти в задаче условно-рефлекторного замирания (УРЗ) и травматической памяти при ПТСР. Формирование травматической памяти сопровождалось активацией паттерна областей мозга, аналогичного тому, который активируется при формировании памяти в задаче УРЗ. Однако при ПТСР активность миндалины, прелимбической коры и зубчатой фасции была выражена значительно больше. Эти результаты показывают важные различия между нормальной и травматической формами памяти в момент их формирования. Кроме того, мы предполагаем, что повышенная активация миндалевидного тела и префронтальной коры при ПТСР может быть связана с патологической устойчивостью травматической памяти. *Работа поддержана грантами РФФИ №№ 19-015-00534, 20-015-00427.*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ТЕТРАПЕПТИДА Ас-D-MPRG НА ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

О.Г. Воскресенская¹, А.А. Стаханова¹, В.П. Голубович², А.А. Каменский¹

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Исследовалось влияние аналога С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина Ас-D-MPRG при однократном и хроническом введении на различные типы поведенческих реакций белых крыс в онтогенезе. Пептид вводили интраназально в дозе 0,01 мкг/кг за 5 минут до начала эксперимента или хронически с 3-го по 21-ый день жизни детенышей. Исследовали ориентировочно-исследовательское поведение (ОИР) в тестах «открытое поле» и «норковая камера»; уровень тревожности в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «светлая-темная камера», а также у животных вырабатывали условную реакцию с отрицательным подкреплением (УРАИ). Исследование ОИР на 28, 36 и 42-ой день показало, что в этом возрасте тетрапептид не влияет на поведение крыс при однократном введении, но улучшает ОИР при хроническом введении в обоих тестах уже с 22-го дня жизни. Уровень тревожности животных был значительно снижен при однократном введении на 25, 50 и 68-ой день, тогда как на 35 и 39-ый день не наблюдалось различий между опытными и контрольными животными в обоих тестах. При

хроническом введении уровень тревожности в опытной группе снижен во всех возрастных периодах. Выработка УРАИ проводилась на 59-69 день жизни. При хроническом введении препарата обучение проходило значительно быстрее, количество выполненных реакций было больше уже с 1-го дня обучения. Скорость обучения также была выше. Полученные результаты показали, что влияние пептида выражено значительно сильнее при хроническом введении препарата. По-видимому, это объясняется тем, что именно в данные сроки происходит постнатальное формирование вазопрессинергической системы и стимулирование этого процесса экзогенно вводимым производным аргинин-вазопрессина оказывает положительное влияние на поведение животных даже через 50 дней после окончания введения препарата. *Работа выполнена в рамках договора о научно-техническом сотрудничестве по созданию лекарственного препарата ноотропного действия для внедрения в медицинскую практику Российской Федерации и Республики Беларусь между ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» и кафедрой физиологии человека и животных Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

ПОИСК НОВЫХ КОМБИНАЦИЙ СОЧЕТАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО С МУТАЦИЯМИ В EGFR

Н.А. Барлев, Е.В. Байдюк, В. Голотин, О.А. Демидов

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) был идентифицирован как критический онкоген при мелкоклеточном раке легкого НМРЛ и других эпителиальных раках. Считается, что нарушение регуляции активности EGFR с помощью онкогенных механизмов, таких как увеличение числа копий EGFR, сверхэкспрессия белка EGFR и активация мутаций гена, активирует нижестоящие сигнальные пути, что может противодействовать апоптозу и усиливать метаболизм и пролиферацию клеток, осложняя терапию. Активирующие соматические мутации в домене тирозинкиназы (ТК) связаны с чувствительностью опухолей к ТК ингибиторам (ТКИ) EGFR. Большинство этих мутаций происходят либо в виде микроделений в экзоне 19 (L858R), либо в качестве миссенс-мутации (L858R) в экзоне 21 EGFR. Низкомолекулярные ТКИ, нацеленные на внутриклеточный домен тирозинкиназы EGFR (например, гефитиниб (Iressa®)) обладают хорошим терапевтическим эффектом, но быстро теряют свою эффективность. К сожалению, часто возникающая мутация T790M EGFR является наиболее частой причиной устойчивости к терапии ТКИ. В этом исследовании мы использовали линию клеток мелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) H1299 с EGFR дикого типа. Используя систему редактирования генома CRISPR / Cas9, мы ввели как одиночные специфические точечные мутации в экзоны 20 и 21 гена EGFR (H1299 T790M и H1299 L858R), так и двойную мутацию (H1299 L858R / T790M). Клеточные линии H1975 (L858R / T790M) и H1650 (делеция в экзоне 19 (E746-A750)) с естественными мутациями в гене EGFR также были взяты в исследование в качестве контроля. Был проведен скрининг библиотеки лекарственных препаратов в присутствии гефитиниба на вышеописанных клеточных линиях. В результате этого исследования мы обнаружили несколько лекарств, которые обладают синергетическим эффектом с гефитинибом. Мы обнаружили, что выявленные нами препараты повышали уровень АФК в клетках. Сочетанная терапия также показала высокий терапевтический потенциал на ксенографтах в животных. По-видимому, механизм цитотоксического воздействия заключается в нарушении митохондриального потенциала и повышению генотоксического стресса. Работа была поддержана грантом РФФИ № 19-45-02011.

БАРЬЕРНЫЕ СВОЙСТВА КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

В.В. Бекусова¹, Л. Дресслер², С. Амашех², А.Г. Марков¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; ²Институт ветеринарной физиологии, Свободный университет Берлина, Германия

Рак толстой кишки сопровождается нарушением ее барьерных свойств, главным образом обусловленных плотными контактами между соседними эпителиальными клетками. Ранее мы показали, что трансэпителиальное электрическое сопротивление (ТЭС) опухолей толстой кишки (ТК) достоверно повышается у крыс при 1,2-диметилгидразин (ДМГ)-индуцированном канцерогенезе¹. Целью настоящего исследования было проанализировать экспрессию белков плотных контактов (БПК) кишечного эпителия при экспериментальном ДМГ-индуцированном канцерогенезе. Для исследования системного (хронического) действия ДМГ мы использовали модель ДМГ-индуцированного канцерогенеза у крыс Вистар. Для изучения непосредственного (острого) действия ДМГ на барьерные свойства кишечного эпителия мы провели исследование на культуре клеток IPES-J2. Экспрессию и локализацию белков плотных контактов анализировали с помощью Вестерн-блот и иммуногистохимии. ТЭС измеряли эпителиальным вольтметром. Парацеллюлярную проницаемость для флуоресцеина натрия исследовали с помощью спектрофотометрии. Было показано, что в опухолях ДМГ-индуцированных крыс экспрессия клаудина-3 и -4 была достоверно повышена по сравнению с контролем, в то время как экспрессия клаудина-1, -2, -5 и окклюдина не изменилась. В клетках IPES-J2 ТЭС увеличилось на 7-11 день воздействия ДМГ, а парацеллюлярная проницаемость для флуоресцеина натрия понизилась, что сопровождалось повышенной экспрессией клаудина-4. Увеличение содержания клаудина-4 в ТК крыс после хронического воздействия ДМГ согласуется с острым эффектом ДМГ на клетки IPES-J2. Повышенная экспрессия клаудина-4 как на ранней, так и на поздней стадии канцерогенеза может указывать на важную роль этого белка в развитии колоректального рака. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-01050, гранта Немецкого исследовательского*

фонда № DFG AM141/11-2 и Партнерской программы Свободного университета Берлина и Санкт-Петербургского государственного университета.

1. Bekusova VV, Falchuk EL, Okorokova LS, Kruglova NM, Nozdrachev AD, Markov AG. Increased paracellular permeability of tumor-adjacent areas in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Biology & Medicine* 2018;15(3):251-259

РОЛЬ FGF-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ТЕРАПИИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ (ГИСО)

С.В. Бойчук¹, Е.Г. Михеева¹, А.М. Аухадиева¹, А.Р. Галембикова¹, С.В. Петров^{1,2}, Д. Халиков², Р.С. Куртасанов²
¹Казанский государственный медицинский университет; ²Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань

Цель: исследовать механизмы активации FGFR-сигнального пути в гастроинтестинальных стромальных опухолях (ГИСО) их роль в патогенезе данного заболевания. Исследования были выполнены на иматиниб (ИМ) чувствительных и резистентных линиях ГИСО, а также на опухолевом материале, полученном от 44 пациентов с ГИСО желудка, которым выполнялось хирургическое или комбинированное лечение таргетным препаратом ИМ, а также на ксенографтных моделях опухолей. Уровень экспрессии общих и фосфорилированных форм FGFR, FGF-2 и адаптерных молекул (FRS-2 и др.) оценивали иммуногистохимическим (ИГХ) методом, а также методом иммуноблоттинга с использованием соответствующих МАТ. Проведен корреляционный анализ клинических и морфологических показателей. Был доказан факт активации FGFR-сигнального пути в ИМ-резистентных клеточных линиях ГИСО, что проявлялось усилением секреции FGF-2 и фосфорилированием FGFR1/2, FRS-2, AKT- и MAPK-сигнальных путей. Была доказана способность ИМ индуцировать активацию данного сигнального пути *in vitro* и *in vivo*. Ингибирование FGFR-сигнального пути (нейтрализующие анти-FGF-2 АТ, ингибиторы BGJ398) приводило к гибели ИМ-резистентных ГИСО по механизму апоптоза исключительно в условиях комбинированного ингибирования KIT-сигнального пути, что свидетельствовало о способности ИМ активировать альтернативный сигнальный путь, приводящий в дальнейшем к резистентности ГИСО к ИМ. Комбинированное применение ИМ и BGJ398 приводило к значительному уменьшению размеров ксенографтных опухолей и гибели клеток по механизму апоптоза. Анализ уровней экспрессии FGFR1/2 и FGF-2 больных с ГИСО выявил повышение уровней экспрессии низкомолекулярной изоформы FGF-2 у пациентов с высоким риском рецидивирования, что коррелировало с пролиферативным индексом опухоли и ее размером.

Таргетная терапия ИМ запускает процесс аутокринной активации FGFR-сигнального пути в клетках ГИСО, что отражается в усилении секреции FGF-2 и обуславливает развитие резистентности ГИСО к ИМ. Ингибирование FGFR-сигнального пути в ИМ-резистентных ГИСО вызывает ресенситизацию ГИСО к ИМ. Гиперэкспрессия FGF-2 в первичных ГИСО после назначения терапии ИМ свидетельствует о формировании резистентности к ИМ и рассматривать его в качестве прогностического маркера и потенциальной мишени.

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД В ДИССЕМИНАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Н.И. Литовка, И.Ю. Житняк, А.С. Ильницкая, С.Н. Рубцова, Н.А. Глушанкова
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва

Раковые клетки используют программу эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) при инвазии и метастазировании. В ходе ЭМП опухолевые клетки утрачивают межклеточную адгезию и приобретают способность к миграции. Ранее мы показали, что исчезновение стабильных тангенциальных адгезионных контактов, образованных E-кадхерином (ЭК) или их замещение динамичными радиальными АК, способствует появлению у клеток миграционной активности. Целью работы было изучение роли белка АК, α -катенина, высвобождающегося из разрушающихся контактов, в появлении у опухолевых клеток миграционной активности. Исследования проведены на клетках линии рака молочной железы MDA-MB-468, для которых описана амплификация гена рецептора эпидермального фактора роста (EGF) и угнетение экспрессии α -катенина, исследовали индукцию ЭМП под действием EGF. Клетки MDA-MB-468 были трансфицированы конструкциями полноразмерного α -катенина (mCherry- α -cat-906), α -катенина с делецией актин-связывающего домена (mCherry- α -cat-505) и α -катенина с мутацией винкулин-связывающего домена (mCherry- α -cat- Δ Vin), получены стабильные линии. При обработке EGF не наблюдалось существенных изменений фенотипа клеток MDA-MB-468, выраженной стимуляции клеточной миграции также не происходило: в присутствии EGF клетки лишь отходили друг от друга на небольшие расстояния. Клетки MDA-MB-468-mCherry- α -cat-906, экспрессирующие полноразмерный α -катенин, при добавлении EGF в среду приобретали передне-заднюю поляризацию и с высокой скоростью мигрировали по подложке. На ведущем крае собирались многочисленные фокальные контакты, с помощью которых клетки прикреплялись к субстрату во время миграции. Экспрессия α -катенина без концевой актин-связывающего домена не способствовала клеточной миграции, в присутствии EGF клетки MDA-MB-468-mCherry- α -cat-505 проявляли низкую ламеллиподиальную активность. В культуре MDA-MB-468-mCherry- α -cat- Δ Vin добавление EGF стимулировало образование ламеллиподий на ведущем крае клеток, однако выраженная межклеточная адгезия не способствовала клеточной миграции. Полученные данные свидетельствуют о том, что наряду с участием в формировании структур межклеточной адгезии, α -катенин может влиять на миграционную активность опухолевых клеток. Работа поддержана грантом РФФИ №16-15-10288-П и грантом РФФИ №18-54-16005.

ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЕ МОЛЕКУЛЫ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ: РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ГЛИОБЛАСТОМЫ И РАЗВИТИИ РЕЦИДИВА ЗАБОЛЕВАНИЯ

А.Ю. Цидулко¹, Г.М. Казанская¹, А.В. Суховских¹, С.В. Айдагулова², М.А. Колпакова¹, М.О. Политко¹, А.М. Волков³, Р.С. Киселев³, О.А. Пашковская³, А.А. Жеравин³, К.Э. Купер⁴, О.Б. Шевелев⁵, А.С. Гайтан⁶, Е.Л. Завьялов⁵, А.Л. Кривошапкин⁶, Э.В. Григорьева¹

¹Институт молекулярной биологии и биофизики, ФИЦ ФТМ, Новосибирск; ²Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск; ³НМИЦ им. Е.Н. Мешалкина МЗ РФ, Новосибирск; ⁴Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск; ⁵ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск;

⁶Европейский медицинский центр, Москва

Глиобластома (ГБМ) является одной из самых агрессивных опухолей, а ее лечение по-прежнему недостаточно эффективно. Изучение молекулярных механизмов развития и рецидивирования ГБМ остается актуальной задачей, и одно из перспективных направлений связано с исследованием роли опухолевого микроокружения, в том числе его неклеточных компонентов (внеклеточный матрикс, ВКМ). Целью данной работы было изучение роли гликозилированных компонентов ВКМ, таких как протеогликаны (ПГ) и гликозаминогликаны (ГАГ), в прогрессировании ГБМ и развитии рецидива заболевания. Для решения поставленных задач проводили изучение клинических образцов ГБМ и эксперименты в модельных системах *ex vivo* (совместное культивирование клеток ГБМ U87 с органотипическими срезами мозга животных до или после радиохимиотерапии с использованием темозоломида (ТМЗ) и/или дексаметазона (ДКС) и *in vivo* (модель рецидива ГБМ в мышцах SCID). Экспрессию ПГ и содержание ГАГ определяли методами ОТ-ПЦР, Вестерн-блот, дот-блот, ИГХ анализ; пролиферативную активность клеток U87, их адгезивный и инвазивный потенциал – с использованием конфокальной микроскопии. Показано, что в глиобластомах происходит значительное повышение уровня экспрессии некоторых ПГ (CSPG4/NG2, декорин, перлекан) и углеводных молекул гепарансульфата (ГС), которое было ассоциировано с низкой выживаемостью пациентов с ГБМ, что позволило впервые предложить панель внеклеточных гликомаркеров для определения прогноза заболевания и оптимизации стратегии лечения пациентов. Радиохимиотерапия значительно изменяла экспрессию и паттерн ПГ и содержание ГАГ в нормальной ткани головного мозга животных (крысы, мыши), что приводило к усилению адгезии клеток ГБМ U87 к обработанным органотипическим срезам мозга, их повышенной пролиферативной активности и инвазии вглубь срезов в системе *ex vivo*. На модели рецидива ГБМ *in vivo* был продемонстрирован ускоренный рост ортотопических опухолей U87 в головном мозге мышей SCID, предварительно получавших ТМЗ/ДКС. В целом, адьювантная радиохимиотерапия ГБМ значительно влияет на гликозилированные компоненты ВКМ нормальной ткани головного мозга, что может способствовать его трансформации в про-опухолевое микроокружение и развитию рецидива заболевания. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№18-29-01036) и РНФ (№16-15-10243).

БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА Bcl-2 И ОТВЕТ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ТЕРАПИЮ

Б.Д. Животовский

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

Белки семейства Bcl-2 являются регуляторами апоптоза, одного из наиболее изученных типов программируемой клеточной гибели. Данное семейство белков представлено как про-, так и антиапоптотическими членами. Антиапоптотические белки семейства Bcl-2 нередко используются опухолевыми клетками в качестве механизма отвечающего за устойчивость их к гибели, играя важную роль как в процессе возникновения онкологических заболеваний, так и в приобретении злокачественными клетками резистентности к терапевтическим воздействиям. Следовательно, эти белки представляют собой привлекательные мишени для противоопухолевой терапии. Детальное изучение взаимодействий между белками семейства Bcl-2, лежащих в основе регуляции запуска апоптоза, позволило сделать существенный прорыв в разработке высокоселективных ингибиторов отдельных антиапоптотических представителей семейства. В настоящее время данные вещества активно изучают на доклинических и клинических стадиях. В частности, большим прорывом можно считать одобрение для медицинского применения Венетоклакса, селективного ингибитора белка Bcl-2. Подавление активности антиапоптотических белков Bcl-2 семейства обладает существенным терапевтическим потенциалом, который только предстоит раскрыть. В грядущую эру персонализированной медицины необходимо детальное изучение механизмов, ответственных за чувствительность или резистентность опухолевых клеток к различным терапевтическим агентам, а также подбор наиболее эффективных комбинаций. В докладе будут рассмотрены собственные и литературные данные о фундаментальных основах функционирования белков семейства Bcl-2 и в частности, белка Mcl-1, принципах их ингибирования с помощью малых молекул, успехах такого подхода в противоопухолевой терапии и, наконец, биохимических особенностях, которые могут послужить основой для дальнейшего совершенствования использования ингибиторов антиапоптотических белков семейства Bcl-2 в терапии опухолевых заболеваний.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ХИМИОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С САРКОМАМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

К.И. Кирсанов^{1,2}, Т.И. Фетисов¹, А.М. Щербаков¹, Н.И. Моисеева¹, Л.А. Лалетина¹, А.Е. Маникайло¹, А.Ю. Бохян¹, Д.А. Буров¹, В.Ю. Зиновьева¹, Е.А. Лесовая^{1,3}, Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская¹

¹НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва; ²Российский университет дружбы народов, Москва;

³Рязанский государственный медицинский университет, Рязань

Наряду с хирургическим вмешательством и радиотерапией в лечении сарком мягких тканей (СМТ) и их метастазов активно применяется химиотерапия. При этом эффективность каждого из препаратов, используемых при химиотерапии, относительно невысока, что в первую очередь связано с молекулярными особенностями опухолевых клеток конкретных пациентов. Метод тестирования лекарственной чувствительности *in vitro* на первичных культурах клеток в последние годы широко используется

для определения показателей лекарственной чувствительности солидных опухолей. Целью нашего исследования было изучение возможности использования клеточного теста на хемочувствительность для прогнозирования резистентности сарком мягких тканей к химиопрепаратам, а также определение функционально-значимых особенностей опухоли. По результатам исследования была определена хемочувствительность переживающих культур к доксорубину, ифосфамиду, доцетакселу, гемцитабину и их комбинациям. По результатам исследования образцы были разделены на группы по чувствительности и резистентности к исследуемым препаратам. Был проведен анализ клинического течения заболевания у соответствующих пациентов. Было продемонстрировано, что исследование резистентности опухоли к химиопрепаратам *in vitro* позволяет выявить резистентность опухоли к определенным препаратам и провести выбор наиболее эффективной комбинации. Была обнаружена сильная корреляция между уровнем экспрессии белка карбоангидразы 9 (CA9) и резистентностью к гемцитабину ($p=0,0018$; $r=0,55$). Уровень VEGF-A слабоположительно коррелировал с резистентностью к ифосфамиду ($p=0,041$; $r=0,33$). Во всех полученных культурах была продемонстрирована способность гипоксии индуцировать экспрессию VEGF-A, у плеоморфных сарком наблюдалась положительная корреляция между ответом на гипоксию и резистентностью к доцетакселу ($p=0,021$; $r=0,67$). Во всех исследуемых образцах наблюдался высокий уровень AMPK и pAMPK. Нами было показано, что резистентность клеток СМТ не связана с уровнем экспрессии генов МЛУ. Полученные данные позволяют предположить, что в основе механизмов формирования резистентности СМТ к препаратам могут лежать изменения сигнальных путей, вовлеченных в репарацию, ангиогенез и регуляцию клеточного метаболизма. *Работа выполнена при поддержке РФФИ, №18-29-09095.*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ УРОКИНАЗНОЙ СИСТЕМЫ КАК ОПТИМАЛЬНЫХ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЖКТ

П.С. Климович^{1,3}, К.А. Рубина¹, В.В. Какоткин², Н.А. Олейникова², М.А. Агапов², Е.В. Семина^{1,2,3}

¹Факультет фундаментальной медицины и ²Медицинский научно-образовательный центр, МГУ им. М.В. Ломоносова;

³Лаборатория молекулярной эндокринологии, Институт экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

Урокиназная система, включающая протеазу урокиназу (uPA) и ее рецептор (uPAR), играет важную роль в процессах опухолевого роста и метастазирования. uPA/uPAR ремоделируют внеклеточный матрикс, необходимый для метастазирования и активируют факторы роста и цитокины, стимулирующие пролиферацию и миграцию клеток опухоли. Повышенный уровень uPA и uPAR сопровождает метастатические опухоли и ассоциирован с неблагоприятным прогнозом, что позволяет рассматривать их как перспективные мишени в диагностике и лечении онкологических заболеваний. В работе оценивали прогностическую значимость содержания uPA/uPAR в сыворотке крови и их экспрессию в первичном опухолевом узле у пациентов с аденокарциномой ЖКТ. Надо отметить, что в литературе нет исследований с одновременной оценкой экспрессии uPA/uPAR в тканях и в крови. При исследовании образцов сыворотки 30 здоровых добровольцев и 80 пациентов с онкозаболеванием обоих полов обнаружено, что концентрация uPA в среднем на 2,82 нг/мл выше в группе онкобольных по сравнению со здоровыми добровольцами ($p<0,05$, влияния пола не обнаружено). При этом у небольшой группы пациентов отмечалось повышение uPA более, чем на 6 нг/мл, и у этих же пациентов через 3 месяца обнаруживались метастазы, что говорит о прогностической значимости uPA, как маркера риска возникновения метастазов до их клинической манифестации. Концентрация uPAR достоверно повышалась у онкобольных пациентов женского пола по сравнению со здоровыми донорами ($p<0,05$), тогда как разницы в показателе у пациентов мужского пола не выявлено. Иммуногистохимический анализ окрашивания опухолевых тканей показал, что экспрессия uPA и uPAR стабильно повышена в опухоли по сравнению с нормой, что может говорить об активном пролиферативном и метаболическом состоянии опухолевого узла, а также о том, что источником эти белков в сыворотке является ткань опухоли. По результатам проведенного исследования можно сделать вывод о том, что uPA и uPAR являются перспективными мишенями в диагностических и прогностических целях. Выявление же уровней экспрессии этих белков в опухолевых тканях и поиск их взаимосвязи с экспрессией маркеров метастазирования позволит разрабатывать дифференцированные подходы к лечению пациентов возможных групп риска. *Работа выполнена за счет гранта РФФИ № 20-015-00186.*

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ СИСТЕМНОГО КРОВОТОКА: УРОВЕНЬ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ И ЛЕЙКОЦИТАХ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

И.В. Кондакова, Г.В. Какурина, М.Н. Стахеева, И.А. Бахронов, О.В. Черемисина, Е.Л. Чойнзонов

НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН, Томск

Развитие злокачественных опухолей сопровождается перестройкой актинового цитоскелета, что необходимо для пролиферации и подвижности опухолевых клеток. Ремоделирование цитоскелета осуществляется актин-связывающими белками (АСБ), уровень которых повышен в опухолях по сравнению с нормальными тканями. Вероятно, АСБ продуцируются в кровеносное русло, причем их источниками могут быть не только опухолевые клетки, но и лейкоциты крови. В настоящей работе изучали уровень АСБ в сыворотке крови и вероятные клеточные источники АСБ (САР1, кофилина 1, профилина 1, эзрина, фасцина) на системном уровне на модели рака гортани (РГ). Уровень АСБ в сыворотке крови был исследован методом иммуноферментного анализа (ИФА) и количество этих белков в лейкоцитах и циркулирующих опухолевых клетках (ЦОК) методом проточной цитометрии. Уровень САР1 в сыворотке крови был значимо выше у больных РГ, чем в группе здоровых волонтеров. Выявлено, что в группе больных РГ с клинически зарегистрированными регионарными метастазами уровень сывороточного фасцина был значимо выше в 10 раз, уровень САР1 – на 40 %, чем в группе больных без метастазов. Определение уровня АСБ в ЦОК и лейкоцитах показало, что относительное количество белков различалось между этими двумя популяциями клеток. Если в популяции ЦОК практически все клетки содержали САР-1, эзрин и фасцин, то доля САР-1+, EZR+ и FSCN1+лейкоцитов была ниже. Кофилин и профилин содержались в лейкоцитах, но практически отсутствовали в ЦОК. Таким образом, сопоставляя результаты проточной цитофлуорометрии и иммуноферментного анализа, можно предположить, что присутствие фасцина, САР-1 и эзрина в сыворотке крови может быть связано с его наличием в ЦОК, в то время как наличие

кофлина и профилина обусловлено лейкоцитами. Обобщая представленные результаты, можно констатировать, что уровень САР1 в сыворотке крови больных РГ значительно выше, чем у здоровых доноров. Фасцин и САР1 имеют большое значение в метастазировании рака гортани, что отражается на их уровне в системном кровотоке. Эти показатели можно рассматривать в качестве кандидатных маркеров прогноза метастазирования РГ. Вероятно, наличие актин-связывающих белков в сыворотке крови может быть обусловлено как опухолевыми клетками, так и лейкоцитами. *Работа была поддержана РФФИ (Грант № 20-015-00151 А).*

ЭКЗОСОМЫ И МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

М.А. Красильников

НИИ канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва

Целью настоящего исследования явилось изучение роли экзосомальных микроРНК в распространении и поддержании резистентного фенотипа в клетках рака молочной железы. Эксперименты проводились на эстрогензависимых клетках рака молочной железы линии MCF-7 и тамоксифен-резистентной сублинии MCF-7/T, полученной при длительном культивировании клеток MCF-7 с антиэстрогеном тамоксифеном. При сравнительном анализе экзосом родительской и резистентной линий было идентифицировано более 2500 микроРНК, из которых 471 микроРНК гиперэкспрессирована в экзосомах резистентных клеток MCF-7/T - по сравнению с экзосомами родительских клеток MCF-7. При сравнении профиля микроРНК экзосом и самих клеток-продуцентов оказалось, что из 471 микроРНК, гиперэкспрессированных в экзосомах резистентных клеток, только 21 микроРНК отличается повышенным содержанием в резистентных клетках - что свидетельствует о специфическом сортинге микроРНК в экзосомы. Биоинформатический анализ микроРНК, гиперэкспрессированных в экзосомах резистентных клеток, выявил шесть микроРНК - супрессоров рецептора эстрогенов ER alpha: микроРНК-142, 203, 219b, 520a, 874-3p и 181. Методом репортерного анализа идентифицированные микроРНК были исследованы на способность подавлять активность ER alpha при трансфекции в клетки MCF-7. Полученные данные продемонстрировали высокую ингибирующую активность исследованных микроРНК. Параллельно проведенный анализ активности одного из основных митогенных транскрипционных факторов - AP-1, выявил сходную тенденцию к снижению активности AP-1 при трансфекции исследованных микроРНК. Мы показали, что многократная трансфекция микроРНК-181 в клетки MCF-7 приводит к необратимым изменениям эстрогенового сигналинга, в том числе к снижению транскрипционной активности рецептора эстрогенов и частичной резистентности к анти-пролиферативному действию тамоксифена, сохраняющимся в течение не менее 3 мес после последней трансфекции клеток. В целом, полученные данные свидетельствуют о ведущей роли подавления эстрогенового сигналинга в развитии гормональной резистентности, и о возможности межклеточного распространения гормональной резистентности с участием экзосомальных микроРНК. *Работа поддержана РФФИ (№19-15-00245, эксперименты с микроРНК) и РФФИ (№18-29-09016, эксперименты с экзосомами).*

ВКЛАД МИКРООКРУЖЕНИЯ ОПУХОЛИ В ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИ-PD-L1 ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Л.А. Таширева, А.В. Бузенкова, В.В. Алифанов, О.Е. Савельева, В.М. Перельмутер

НИИ онкологии, Томский НИМЦ, Томск

Наиболее перспективным и активно развивающимся направлением в терапии онкологических заболеваний является, на сегодняшний день, иммунотерапия. Однако, терапия новейшими препаратами – ингибиторами иммунных контрольных точек, в том числе ингибиторами PD-L1-PD1, основанными на принципе реактивации иммунных клеток микроокружения в опухоли, в 4-29% случаев сопровождается гиперпрогрессией заболевания. Причины данного феномена до сих пор остаются не ясными, однако, исследования сосредоточены на выявлении нативных свойств опухоли. Для этого существуют определенные предпосылки. Так, известно, что типы иммуновоспалительных реакций (ИВР), развернутых в опухоли, не всегда направлены на подавление опухоли. В представленной работе охарактеризовано различие клеточного состава микроокружения инвазивной карциномы молочной железы у пациентов в зависимости от их PD-L1 статуса. В исследовании включены 37 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом инвазивной карциномы не специфического типа молочной железы (средний возраст 56,3±11,1; T1-2N0-2M0; все молекулярно-генетические подтипы). Неоадьювантного лечения пациенты не получали. Статус экспрессии белка PD-L1 был определен на платформе Benchmark Ultra (Ventana, США). Субпопуляционный состав иммунных клеток был определен в суспензии замороженных образцов опухолевой ткани, полученных в ходе оперативного лечения, с помощью многоцветной проточной цитофлуориметрии. Количество всех клеток было стандартизировано путем пересчета на 1000 опухолевых клеток. В исследовании у 20 пациентов статус белка PD-L1 был положительным, у 20 – отрицательным. Частоты встречаемости всех изучаемых популяций клеток были сопоставимы в данных двух группах пациентов. Однако у PD-L1-положительных пациентов в первичной опухоли доля дифференцированных Th2-лимфоцитов, экспрессирующих PD-1 (т.е. ингибированных опухолью) была выше, а доля дифференцированных Th1-лимфоцитов, экспрессирующих PD-1 – ниже, чем у пациентов с негативным статусом PD-L1. На основании этих знаний можно полагать, что потенциальными предикторами гиперпрогрессии в ходе терапии ингибиторами иммунных контрольных точек могут являться соотношение Т-хелперных лимфоцитов в первичной опухоли. *Работа выполнена в рамках проекта РФФИ №20-75-10.*

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА: PROS ET CONS

А.М. Щербаков¹, А.Е. Щекотихин²

¹НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ; ²НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

Активное развитие химиотерапии в XX веке привело к созданию ряда высокоэффективных противоопухолевых средств, направленных на активно делящиеся злокачественные клетки. В большинстве случаев высокая селективность химиотерапев-

тических средств основана на их «нацеленности» на клетки с высокой скоростью пролиферации. Это с одной стороны приводит к значительным (и достаточно быстрым) противоопухолевым эффектам, с другой – создает ряд нежелательных явлений, включая токсичность в отношении здоровых тканей, что впоследствии резко снижает качество жизни больных. Все это определяет высокий интерес исследователей к новым классам препаратов, которые избирательно блокируют метаболические пути опухолевой клетки. Среди наиболее перспективных метаболических мишеней можно выделить: ферменты гликолиза, ферменты окислительного фосфорилирования, HIF1 α , mTOR, AMPK, баланс pH в опухоли (CAIX, CA XII, NHE1), синтез жирных кислот (АТФ-цитрат-лиаза, FASN). Стремительное развитие методов направленного синтеза и молекулярного дизайна открывает широкие возможности для создания селективных ингибиторов таких сигнальных путей в опухолевой клетке. В серии экспериментов мы исследовали возможности блокирования роста клеток рака молочной железы с помощью ингибирования путей окислительного фосфорилирования, гликолиза и CAIX. Обнаружена гиперсенситивизация клеток люминального А рака молочной железы MCF7 к ингибитору АТФ-синтазы олигомицину А при ингибировании гликолиза и при снижении биодоступности глюкозы. Более того, олигомицин А оказывал ингибирующее воздействие на гормональный аппарат клетки. Показана высокая антипролиферативная активность новых ингибиторов CAIX в отношении трижды негативного рака молочной железы MDA-MB-231. Гипоксия (1% кислорода) приводила к увеличению экспрессии транспортера глюкозы GLUT1 в клетках MDA-MB-231, тогда как ингибитор CAIX блокировал это увеличение. Разработка селективных ингибиторов опухолевого метаболизма является приоритетной задачей, в том числе для создания новых низкотоксичных комбинаций с химиотерапией. Работа поддержана РФФ (№ 20-13-00402, эксперименты с CAIX) и РФФИ (№ 18-29-09017, исследование путей ERA).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДНК-ТРОПНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИКАНЦЕРОГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ, НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА

М.Г. Якубовская¹, О.А. Власова¹, Н.Ю. Карпеченко¹, И.А. Чернова¹, А.А. Иванов¹, Г.А. Белицкий¹, К.И. Кирсанов^{1,2}
¹НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ; ²Российский университет дружбы народов, Москва

Козволюция флоры и фауны складывалась таким образом, что пищевой рацион животного мира во все исторические периоды определялся не только калорийностью потребляемых растений, но и другими их свойствами, способствовавшими сохранению вида. В состав растительных экстрактов входит более 300 полифенолов с различной терапевтической активностью, включая антиканцерогенные и противоопухолевые эффекты. Ароматические структурные фрагменты позволяют полифенолам интеркалировать в спираль ДНК, нековалентно взаимодействовать с малой бороздкой дуплекса или с альтернативными структурами ДНК. Эти соединения, аналогично установленному действию известных интеркаляторов и узкобороздочных лигандов, могут изменять стабильность спирали, жесткость/гибкость, кривизну дуплекса, конформационные свойства, а также физико-химические характеристики ДНК. Анализ взаимодействия 11 полифенолов с ДНК с помощью абсорбционной спектроскопии, кругового дихроизма холестерических жидкокристаллических дисперсий, вытеснения флуоресцентного индикатора подтвердил их тропность к биополимеру. Полифенолы с антиканцерогенной активностью разнообразны по своей структуре, однако близкие по направленности изменения в регуляции сигнальных путей при их воздействии позволили нам предположить возможность существования однонаправленных эффектов на структуру хроматина. Анализ продуктов расщепления ДНК при обработке ядер микрококковой нуклеазой показал отсутствие сильного дестабилизирующего эффекта полифенолов на нуклеосомы. Этот результат был подтвержден с помощью микроскопии клеток HeLa с флуоресцентно меченым гистоном H2B. В то же время, микроскопия клеток HT1080 H1-mCherry показала влияние большинства изучаемых соединений на структуру популяции клеток по локализации линкерного гистона H1 в ядре. Время- и дозозависимое изменение доли клеток с нестандартной локализацией H1 в ядрах клеток HT1080 H1-mCherry было выявлено при обработке ресвератролом, тимохиноном, куркумином, сангвинарином, EGCG и физетином. Статистически значимое уменьшение количества линкерных гистонов H1.2 и H1.4 в хроматин-связанной фракции белков мы наблюдали при воздействии генистеина, эпигаллокатехина галлата, куркумина, ресвератрола, дельфинидина, физетина, апигенина и кэмпферола.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-15-01526.

МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СИГНАЛИНГА I ТИПА РЕСВЕРАТРОЛОМ, БЕРБЕРИНОМ, ГЕНИСТЕИНОМ

О.А. Власова¹, И.А. Чернова¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, М.Г. Якубовская¹

¹НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ; ²Российский университет дружбы народов, Москва

Для природных полифенолов ресвератрола, берберина и генистеина ранее нами было показано их непосредственное нековалентное взаимодействие с ДНК, что оказывает влияние на процессы компактизации хроматина. Вызванные геномные изменения могут опосредовать активацию в норме репрессированных последовательностей LINE-1, дцРНК которых детектируется рецепторами пути интерферона I типа. Поскольку индукция интерферонного сигналинга является одним из возможных механизмов антиканцерогенного действия исследуемых соединений, нами был проведен анализ их влияния на данный сигнальный путь и активацию ретротранспозиции LINE-1. Специфическая транскрипция LINE-1 оценивалась для трех различных ампликонов данной последовательности и гена ORF1 LINE1 методом ПЦР в реальном времени. Для ресвератрола, берберина и генистеина экспрессия ампликонов LINE 1 увеличивалась в среднем в 1,7; 1,6; 1,9 раз соответственно, а экспрессия ORF1 в 1,5; 2,1 и 2,0 раз соответственно. Увеличение экспрессии является статистически значимым, $p < 0,05$. Полученные данные были подтверждены иммунофлуоресцентным окрашиванием клеток HeLa (антителами к ORF1 LINE1 и H2Ax-gamma, маркера дуплексных разрывов) с последующим анализом распределений популяций обработанных и контрольных клеток на проточном цитометре. Так, для всех трех соединений продемонстрировано увеличение средней интенсивности флуоресценции распределения популяции обработанных клеток по отношению к контрольной и увеличение процентного содержания клеток с повышенным уровнем экспрессии флуоресценции по двум каналам. Активация растительными полифенолами интерферонного

сигналинга оценивалась методом ПЦР в реальном времени при помощи панели из 84 пар праймеров к таргетным генам данного сигнального пути (Qiagen, PAHS-069ZD). Исследуемые полифенолы показали увеличение экспрессии всех таргетных генов на представленной панели, проявив себя эффективными активаторами данного сигнального пути. Полученные данные свидетельствуют о существовании ДНК-зависимого механизма реализации антиканцерогенного действия растительных полифенолов, за счет активации репрессированных участков генома, в частности последовательностей LINE1, и дальнейшего запуска сигнального пути интерферона- α . *Исследование поддержано Российским научным фондом (17-15-015260).*

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЬЮГАТОВ ПИНОСТРОБИН ХАЛКОНА С ТРИТЕРПЕНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

И.В. Галаяутдинов¹, З.Р. Зилеева¹, Л.М. Закирова^{1,2}, И.П. Байкова², Е.В. Третьякова²

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН; ²Уфимский институт химии УФИЦ РАН, Уфа

В данной работе было изучено влияние конъюгатов пиностробин халкона с литохоловой и тритерпеновыми кислотами на метаболическую активность условно-нормальных клеток эмбриональной почки человека (HEK293) и опухолевых клеточных линий карциномы легкого (A549), гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2), нейробластомы (SH-SY5Y), клеток колоректального рака (HTC116) с использованием витального красителя PrestoBlue®. Пиностробин халкон (2',6'-дигидрокси-4'-метоксихалкон) выделен в виде красных кристаллов из тополиных почек *Populus nigra*. В качестве конъюгатов использовали олеановую, урсоную, глицирретовую и 3-оксо-литохоловую кислоты. Результаты оценки метаболической активности полученных соединений показывают, что пиностробин халкон снижает цитотоксическую активность конъюгатов по сравнению с исходной кислотой (значения IC₅₀ больше 200 мкМ). Способность подавлять метаболическую активность клеток эмбриональной почки человека (HEK293), нейробластомы (SH-SY5Y), клеток колоректального рака (HTC116) наблюдалась только у производного пиностробина халкона с урсонной кислотой (значения IC₅₀ 36.26, 61.69 и 56.68 мкМ соответственно). В то же время в отношении клеток карциномы легкого (A549) и гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2) аналогичного эффекта не наблюдалось (значения IC₅₀ больше 200 мкМ). *Работа выполнена в соответствии с планами госзадания ИБГ УФИЦ РАН № АААА-А21-121011990119-1 и УФИХ УФИЦ РАН № АААА-А20-120012090029-0.*

КЛИНИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СРЕДСТВ В ЛЕЧЕНИИ АЛКОГОЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС

А.Л. Коваленко¹, Н.А. Лычева^{1,2}

¹ООО «НТФФ «ПОЛИСАН»; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Исследование выполнили на 130 самцах крыс линии Вистар. Алкогольное поражение печени моделировали путем внутривенного введения этанола в дозах 5 г/кг в течение 2 недель и 3,75 г/кг в последующие 2 недели. Лечение осуществляли путем внутривенного введения препаратов Гептрал (Эбботт Лэбораториз ГмбХ) в дозе 167 мг/кг по действующему веществу адemetионина, Урдокса (АО «Фармпроект») в дозе 62 мг/кг по действующему веществу, внутривенного введения препарата Ремаксол (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН») в дозе 6,7 мл/кг или физиологического раствора в течение 14 дней. В ходе исследования проводили биохимический анализ крови, определяли количество адemetионина в печени, массу и гистологическое строение печени. Введение на протяжении 28 дней привело к развитию хронического алкогольного стеатогепатоза и умеренного гепатофиброза с нарушением функции печени, проявляющихся снижением синтеза S-аденозилметионина, альбумина, выходом в кровь печеночных ферментов аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, увеличением коэффициента де Ритиса вследствие токсического действия этанола и его метаболитов на гепатоциты. Анализ совокупности полученных результатов показал, что препарат Ремаксол снижал коэффициент де Ритиса, а также степень стеатоза и фиброза печени. Препарат Гептрал показал слабую или отсутствующую гепатопротекторную активность в примененной дозе и схеме введения в отношении биохимических показателей крови, не влиял на уровень S-аденозилметионина в печени, вероятно из-за малой системной абсорбции, редуцировал только степень стеатоза гепатоцитов. Препарат сравнения Урдокса увеличивал уровень альбумина и общего белка в крови, снижал активность щелочной фосфатазы, коэффициент де Ритиса, но не способствовал синтезу S-аденозилметионина и не влиял на степень фиброза печени. Таким образом, в ходе исследования показаны нормализация биохимических параметров крови при введении Урдоксы и уменьшение степени морфологических изменений печени при введении препарата Ремаксол.

НОРМАЛИЗАЦИЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА РЕАМБЕРИН® КРЫСАМ НА МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА

А.Л. Коваленко¹, Н.А. Лычева^{1,2}

¹ООО «НТФФ «ПОЛИСАН»; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Исследование выполнили на 40 беспородных крысах самцах, массой 339-371 г. Индукцию метаболического ацидоза осуществляли путем замены питьевой воды на 1,5% раствор хлорида аммония на протяжении 7 дней. По окончании введения индуктора патологии экспериментальным животным, регистрировали развитие некомпенсированного гиперхлоремического метаболического ацидоза, что подтверждалось статистически значимым уменьшением pH крови животных, снижением концентрации бикарбонатов (HCO₃⁻), уменьшение концентрации буферных оснований во внеклеточной жидкости (BE(ecf)) и

увеличением концентрации ионов хлора (Cl). Лечение патологии осуществляли путем ежедневного внутривенного введения лекарственного препарата РЕАМБЕРИН[®], раствор для инфузий, ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Россия в дозах – 5, 7,5 или 10 мл/кг/сут или физиологического раствора в объеме 10 мл/кг/сут. Через 24 ч после каждого введения тестируемых объектов оценивали биохимические параметры крови, при нормализации параметров лечение патологии прекращали. При анализе крови по окончании 7 дней индукции патологии зарегистрировали статистически значимое уменьшение pH, концентрации HCO³⁻ и BE(ecf), напряжения CO₂, что свидетельствовало о развитии ацидоза у экспериментальных животных. Полученные данные о направленности, статистической значимости и выраженности отклонений показателей кислотно-щелочного равновесия после начала лечения препаратом РЕАМБЕРИН[®] в дозах 5 мл/кг/сут и 7,5 мл/кг сут свидетельствовали о выходе из метаболического ацидоза после второй инъекции препарата с интервалом между введениями 1 сут. При этом компенсацию метаболического ацидоза после первой инъекции регистрировали после введения препарата РЕАМБЕРИН[®] в дозе 10 мл/кг/сут.

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ И ВНУТРИВЕННОЙ АНЕСТЕЗИИ НА РОСТ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Е.Р. Михайлова¹, С.М. Ефремов², Е.А. Леонова², Н.А. Андреева², Б.А. Маргулис¹, И.В. Гужова¹

¹Институт цитологии РАН, ²Санкт-Петербургский государственный университет, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова, Санкт-Петербург

Одним из наиболее распространенных методов лечения онкологических заболеваний является хирургическое вмешательство, которое проводится в условиях общей анестезии. Послеоперационные осложнения, такие как опухолевые рецидивы, являются наиболее острой проблемой современной онкологии. Препараты для общей анестезии могут не только оказывать иммуносупрессивное влияние на организм человека, но и влиять на синтез HSP70 в опухолевых клетках, что приводит к активации механизмов, отвечающих за пролиферативную активность и поддержание гомеостаза опухолевой клетки после лучевой или химиотерапии, что в дальнейшем может привести к рецидиву онкологических заболеваний. Мы определили, как меняются основные характеристики опухолевых клеток: темп роста, подвижность и способность формирования колоний после экспозиции с пропифолом и севофлураном в присутствии или отсутствии широко применяемой химиотерапии. Полученные результаты помогут оценить целесообразность применения дополнительной терапии, направленной на снижение активности HSP70, а также помочь выбрать анестетик при хирургическом лечении онкологических больных.

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАРГАНЦА НА ОРГАНИЗМ В ПЕРИОД ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Т.В. Казакова^{1,2}, О.В. Маршинская^{1,2}, С.В. Нотова^{1,2}

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН; ²Оренбургский государственный университет, Оренбург

Пренатальный период имеет решающее значение для развития нервной системы. Несмотря на свою эссенциальную роль, марганец обладает нейротоксическим эффектом и его избыточное воздействие может привести к негативным постнатальным последствиям. В исследовании изучалось пренатальное влияние сульфата марганца на концентрацию сывороточной аргиназы I (ARG1), марганцевой супероксиддисмутазы II (SOD2) и ацетилхолинэстеразы (AChE) в двух поколениях. С этой целью крысы линии Wistar в течение 28 дней до гестации и в период гестации (20-26 дней) получали основной рацион с добавлением MnSO₄ в дозе 2/3LD50. Измерение показателей проводили с помощью наборов для иммуноферментного анализа в соответствии с инструкциями производителя. Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с использованием статистического пакета «STATISTICA 10» (StatSoft Inc., США). По результатам исследования было получено, что уровни ARG1 и SOD2 у самок были достоверно выше относительно контрольной группы на 145 % и 111 %, соответственно, наблюдалась тенденция к более высоким уровням AChE в сыворотке крови. У животных первого поколения ARG1 был статистически достоверно выше контрольных значений на 14 %, но ниже, чем у самок, подвергавшихся непосредственному пероральному воздействию металла. У животных второго поколения уровень ARG1 был близок к контрольным значениям. Уровень AChE был достоверно больше на 22 % относительно животных, которые не подвергались пренатальному воздействию. У животных второго поколения прослеживалась тенденция к более высокой концентрации AChE относительно интактных животных. Уровень SOD2 у животных первого и второго поколения не изменялся. Таким образом, в исследовании было продемонстрировано, что пренатальное воздействие сульфата марганца способно оказывать влияние на концентрацию ARG1 и AChE в сыворотке крови не только в материнском организме, но и в поколении. Анализ данных показателей в сыворотке крови, возможно, может служить скрининговым биомаркером нейротоксичности марганца и оценки риска воздействия данного металла. *Исследования выполнены в соответствии с планом НИР на 2019-2021 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0526-2019-0001).*

АДАПТАЦИЯ, СТРЕСС И ЗДОРОВЬЕ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ: НА ПРИМЕРЕ НЫРЯТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У ЧЕЛОВЕКА

Т.И. Баранова, Е. Ю. Подьячева, Т.А. Землянухина, М. Данилова, А.С. Глотов

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Адаптивность – основное свойство, определяющее здоровье организма. Механизмы любой адаптации к новым условиям начинаются с мобилизации генетически детерминированных компенсаторных реакций. На характер их рекрутирования через эпигенетические механизмы оказывают влияние текущий гормональный статус организма и условия среды. Цель работы состояла в исследовании динамики легочного кровотока при реализации нырятельного рефлекса у обследуемых с различными полиморфизмом гена ADRA1A (p.Arg347Cys; rs1048101). Работа проведена в лабораторных условиях на модели, имитирующей ныряние: погружение лица в холодную воду на задержанном дыхании. Обследовано 120 человек, имевших общую физическую подготовку, в возрасте от 18 до 35 лет. В состоянии покоя, при имитации ныряния и при восстановлении регистрировали ЭКГ, АД и реограмму легких. Анализировали показатели: реографический индекс (РИ; характеризует кровенаполнение легочной ткани), диастолический индекс (ДСИ; отражает соотношение венозного оттока крови к артериальному притоку), дикротический индекс (ДКИ; отражает преимущественно тонус артериол, степень нарушения микроциркуляции в тканях, а также тонус артерий мелкого калибра). Полиморфизм гена ADRA1A (rs1048101) анализировали методом ПЦР-ПДРФ. Данные обрабатывали с использованием пакетов программ для Windows 10 (MS Excel 2010; OriginPro 2015 version b9.2; GraphPad Prism 8). Оценка значимости различий для несвязанных переменных и связанных между собой парных рядов проводилась с использованием непараметрических критериев Манна–Уитни (Mann–Whitney) и Краскела–Уоллиса. Данные анализировали по гендерному признаку. Впервые показано рефлекторное снижение во время имитации ныряния тонуса сосудов бассейна легочной артерии и генетические различия между мужчинами и женщинами по p.Arg347Cys ADRA1A гена при погружении. Наиболее эффективной адаптивной реакцией при погружении будет возрастание кровенаполнения легких (увеличение РИ показателя) и уменьшение тонуса легочных сосудов малого круга кровообращения (показатели ДСИ и ДКИ). По исследуемым показателям более эффективны эти адаптивные реакции у обследуемых женского пола с С/Т полиморфизмом ADRA1A гена. Результаты различий между мужчинами и женщинами обсуждаются в генетическом, геномном (эпигенетическом) и вне геномном аспектах.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И УРОВЕНЬ ССЛ11 ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК У СТАРЫХ КРЫС

Ю.А. Бондарчук, И.Н. Манаева, И.И. Шахматов, М.Н. Носова, П.С. Маршалкина, Д.А. Прокопец

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

Умеренные физические нагрузки продлевают период активного долголетия, тогда как интенсивные физические тренировки могут приводить к патологическим изменениям со стороны различных органов и систем, среди которых особое место занимает система гемостаза. Уровень хемокина ССЛ11 (эотаксин1) увеличивается с возрастом и способствует апоптозу нейронов головного мозга. Динамика изменения концентрации хемокина ССЛ11 и РФМК в плазме крови может служить критерием для подбора интенсивности физических нагрузок. Цель исследования – выявление оптимального режима физических нагрузок, сохраняющего гемостазиологические параметры и уровень ССЛ11 в пределах нормы. Исследования выполнены на 40 белых крысах мужского пола линии Wistar возрастом 20–21 месяц. Животные контрольной группы не подвергались физическим нагрузкам. Крысы, составлявшие опытные группы, подвергались принудительной ходьбе в тредбане со скоростью 6–8 м/мин в течение 30 дней в разных режимах: животные 1 группы подвергались ежедневным физическим нагрузкам в течение 2 часов, крысы 2 группы – нагрузкам в течение 2 часов в режиме 3 раза в неделю, животные 3 группы подвергались ежедневным нагрузкам в течение 8 часов. Забор крови осуществляли по истечении 30 дней. У животных 1 опытной группы наблюдалась гиперкоагуляция по внутреннему пути плазменного гемостаза и на конечном этапе свертывания. Концентрация РФМК повышалась в 2 раза. У крыс 2 опытной группы параметры системы гемостаза не отличались от контроля. Животные 3 опытной группы отреагировали на ежедневные 8-часовые тренировки гиперкоагуляцией по внешнему и внутреннему пути активации плазменного гемостаза, а также на конечном этапе свертывания. Уровень РФМК повышался в 4 раза. При этом ситуация усугублялась снижением антикоагулянтной активности на фоне угнетения фибринолиза. Концентрация ССЛ11 у животных 1 и 2 опытных групп достоверно не отличалась от контроля, в 3 опытной группе уровень ССЛ11 увеличивался на 60%. Таким образом, исходя из динамики уровня хемокина ССЛ11 и состояния параметров гемостаза наиболее эффективным режимом физических нагрузок для старых животных является ходьба в тредбане в течение 2 часов со скоростью 6–8 м/мин 3 раза в неделю в течение месяца.

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА К ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ

В.Р. Горст, И.Н. Полунин, И.А. Быков, Н.А. Горст, Л.В. Шебеко, М.И. Лобанова

Астраханский государственный медицинский университет МЗ РФ, Астрахань

Физическая работа приводит к значительным изменениям физиологических параметров сердечно-сосудистой и дыхательной систем. При этом у каждого показателя этих систем есть свой диапазон допустимых отклонений от минимальных до максимальных величин, в пределах которых сохраняется работоспособность организма. Для обеспечения полноценной и гармоничной адаптации при физических нагрузках динамические колебания параметров различных физиологических систем должны иметь определенную сопряженность. Для изучения степени сопряженности, мы сопоставили изменения частоты сердечных сокращений и частоты дыхания, выразив их в относительных величинах. ЧСС и ЧД в покое были приняты за 0%, максимальные значения, при которых сохраняется возможность длительно выполнять физическую работу, приняли за 100%.

Физическая нагрузка создавалась с помощью велоэргометра до достижения частоты пульса 170 в минуту. В течении всего времени наблюдения проводили сопоставление степени увеличения частотных характеристик дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Нами выявлено практически полное совпадение этих показателей, что свидетельствовало о максимальной сопряженности в работе ведущих систем жизнеобеспечения. Одним из показателей, отражающих гармоничность физиологических систем, являются золотые пропорции показателей их активности. В условиях функционального покоя золотые пропорции встречаются в соотношениях показателей систолического и диастолического артериального давления, продолжительности интервалов QT и TQ электрокардиограмм, величины резервных объемов выдоха и вдоха. При физической работе малой и средней интенсивности эти соотношения выходят из позиций золотых пропорций. Однако, на границе срыва адаптации при максимально допустимых физических нагрузках вновь формируются золотые пропорции, которые переходят на новый уровень и отличаются от исходных значений на одну единицу. Между золотыми пропорциями физиологических показателей в покое и на границе срыва адаптации возникает функциональный коридор, который можно использовать для оценки компенсаторно-приспособительных возможностей организма при мышечной работе.

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ АДДИКТИВНОГО ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ

В.В. Посохина¹, Л.И. Губарева²

¹Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр, Центр охраны здоровья семьи и репродукции; ²Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь

По данным ВОЗ более миллиарда человек на планете страдают избыточным весом. С ростом ожирения в популяции растет число напрямую связанных с излишней массой тела угрожающих жизни заболеваний: сахарный диабет, артериальная гипертония, инфаркт миокарда, инсульт, атеросклероз, онкологические заболевания, бесплодие и др., а люди продолжают набирать вес. Целью исследования явилось изучение роли гормонов и психологических факторов в формировании аддиктивного поведения при ожирении. Были обследованы женщины 21–63 лет с ожирением. Контрольную группу составили здоровые женщины с нормальным весом. Уровень кортикотропина (АКТГ), пролактина (ПРЛ), кортизола (К) и тестостерона (Т) определяли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). Тип темперамента определяли с помощью теста Айзенка, уровень личностной и ситуативной тревожности – теста Спилберга, тип пищевого поведения – опросника DEBQ, выявление ограничительного пищевого поведения – по анкете Т.Г. Вознесенской, А.М Вена. Результаты исследования подвергались статистическому анализу. Исследование психологического статуса показало, что 50% женщин экспериментальной группы до формирования пищевой зависимости испытывали сильное эмоциональное напряжение. Это подтверждается повышенным уровнем личностной тревожности у женщин с ожирением по сравнению с женщинами контрольной группы ($p < 0,05$). Стоит отметить, что среди женщин с пищевой зависимостью в 2,6 раза больше, чем среди здоровых, женщин с высоким уровнем нейротизма (холерика и меланхолика). У 46% женщин, страдающих ожирением, преобладает эмоциогенно-экстернальный, эмоциогенный или эмоциогенно-ограничительный тип пищевого поведения, у 31% выявлен экстернальный тип пищевого поведения, у 15% – экстернально-ограничительный, у 8% – ограничительный тип. У женщин, страдающих ожирением, повышен уровень гормона стресса – К, а в период перименопаузы уровень АКТГ возрастает в 2,0 раза ($p < 0,05$), обуславливая дальнейшее повышение К в крови. Выявлены значимые изменения уровня ПРЛ и Т. Таким образом, высокий уровень личностной тревожности, нейротизма, слабый тип нервной системы, дисбаланс катаболических и анаболических гормонов, а также повышение уровня АКТГ, играющего важную роль в выработке и закреплении условно-рефлекторного поведения детерминируют формирование пищевой аддикции.

АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РАБОТЫ СЕРДЦА У ДЕТЕЙ 4-6 ЛЕТ С РАЗНЫМ СТАЖЕМ КОНТРАСТНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ

С.С. Колыванова^{1,2}, О.Н. Лепунова³, С.В. Соловьева⁴, А.В. Елифанов³

¹Тюменский научный центр СО РАН; ²АНО ДПО НОЦ «Регион здоровья»; ³Тюменский государственный университет; ⁴Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень

Активное совершенствование морфофункциональной организации сердечно-сосудистой системы (ССС) охватывает возраст 4-6 лет, что обуславливает эффективность внедрения в ДОУ новых подходов здоровьесберегающих технологий. Являясь вариацией температурного стресса, проведение закалывающих мероприятий с детьми требует контроля показателей ССС, отражающих состояние регулирующих систем и адаптационных возможностей организма. Цель: оценить влияние температурных контрастных процедур на состояние ССС детей 4-6 лет с разным стажем закалывания. Исследование проведено в ДОУ Тюменского района, в котором созданы условия для проведения контрастных закалывающих мероприятий по определенной методике [1]. Участвовало 25 детей (4-6 лет): 1 группа (n=7) соблюдали обычный режим ДОУ; 2 группа (n=11) занимались по методике 5 раз в неделю утром в течение 1 года (с 2020 г); 3 группа (n=7) соблюдали данный режим в течение 2 лет (с 2019 г). Регистрировали данные ЭКГ и ВРС с помощью «Поли-Спектр-8/ EX» (ООО «Нейрософт»). Обработка результатов – IBM SPSS Statistics 23. Данные ЧСС у детей из групп закалывания 2019 ($92,14 \pm 3,89$) и 2020 ($102,91 \pm 3,13$) гг. находились в пределах нормы, а в 1 группе детей зарегистрирована незначительная тахикардия ($107,57 \pm 4,40$). Данные ЭКГ и ВРС соответствовали нормативным значениям согласно возрасту исследуемых детей. Показатели R-R (min, max и mean) достоверно не отличались между 1 и 2 группами, тогда как в 3 группе R-Rmin и R-Rmean охватывали более длительный промежуток времени и значительно отличались от данных показателей в 1 и 2 группе ($p < 0,05$ во всех случаях). Показатели моды (Mo) и математического ожидания (Me) у детей 1-й и 2-й групп не отличались. В 3 группе данные показатели были значительно выше ($p = 0,017$), чем в 1 группе. Во 2 и 3 группах вегетативный показатель ритма был достоверно ниже, а вариационный размах выше, чем в 1 группе. Результаты свидетельствуют о снижении активности симпатической регуляции и улучшении функциональных возможностей сердца в

группах закаливания. Работа выполнена по госзаданию согласно Плану НИР ТюмНЦ СО РАН на 2021-2025 гг. (Программа IX.133.1. Проект: 0296-2021-0004).

1. Способ комплексного контрастного закаливания и оздоровления детей дошкольного возраста [Текст] : пат.2744024 РФ: МПК А61Н А61F С2.

ОСОБЕННОСТИ ПСИХОВЕГЕТАТИВНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ

Д.Ю. Кувшинов, Н.А. Литвинова, В.И. Иванов, А.И. Солобуев

Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово

В настоящее время особую актуальность приобретают исследования, направленные на изучение индивидуальных особенностей и механизмов адаптации к учебным нагрузкам с целью оптимизации этих нагрузок, прогнозирования и управления ходом индивидуальной адаптации. Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей психо-вегетативного обеспечения учебной деятельности в зависимости от включения механизмов вегетативной и нервно-психической регуляции. Обследовано 440 студентов медицинского вуза и биологов 1-3 курсов. Установлено, что в условиях обучения в вузе наиболее адекватные приспособительные реакции наблюдаются у лиц с ваготоническим типом реакции сердечно-сосудистой системы, высокими характеристиками работоспособности головного мозга, подвижности нервных процессов, психодинамика, комбинаторных способностей и преобладанием левой сенсорики и правой моторики функциональной асимметрии мозга. При повторном исследовании психофизиологических параметров на 3 курсе отмечается, что у студентов с преобладанием правой и неопределенной сенсорики значительно увеличивается реактивность всех показателей при выполнении умственной нагрузки перед экзаменом и не происходит восстановления до исходного уровня в течение часа. Это может свидетельствовать о длительном напряжении и не завершении процесса адаптации к 3 курсу у данных студентов. Установлено, что лица коронарного поведения типа А характеризуются рядом особенностей, формирующих риск развития сердечно-сосудистой патологии: высокой возбудимостью ЦНС, повышенной стрессреактивностью, снижением качества сна, более высоким уровнем артериального давления в покое и при стрессах, большим снижением при психоэмоциональном стрессе концентрации метаболитов оксида азота, а также признаками атерогенных изменений липидного профиля плазмы крови. Студенты, обладающие низкими значениями силы и подвижности нервных процессов, при выполнении сложных сенсорных нагрузок имеют выраженные дезадаптивные сдвиги вегетативных функций. Таким образом, можно утверждать, что важную роль в адаптации имеет взаимосвязь между разноуровневыми показателями: нейродинамическими, психическими, личностными, эндокринными и вегетативными.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА И УПРУГО-РАСТЯЖИМЫХ СВОЙСТВ СОСУДОВ ПРИ ВОЗДУШНОЙ ГИПОТЕРМИИ СРАЗУ ПОСЛЕ ПРЕКРАЩЕНИЯ ОХЛАЖДЕНИЯ И В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТГИПОТЕРМИИ

Н.А. Лычева^{1,2}, И.И. Шахматов³, В.М. Вдовин³, А.А. Блажко³, С.В. Москаленко³

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии, Санкт-Петербург; ²НТФФ "ПОЛИСАН", Санкт-Петербург;

³Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

Исследование выполнили на крысах линии Вистар, воздушную гипотермию моделировали путем помещения животных в индивидуальные клетках в охлаждающую камеру при температуре воздуха -25°C , на 6 ± 3 ч до достижения ректальной температуры $+27...+32^{\circ}\text{C}$. Оценку параметров проводили: сразу после прекращения охлаждения; через 2, 5–10 и 14 сут после прекращения охлаждения. В ходе исследований установили, что риск развития тромботических осложнений максимален через 2 сут после прекращения охлаждения и характеризуется развитием состояния тромботической готовности. В последующие периоды наблюдается нормализация состояния системы гемостаза. При оценке состояния микроциркуляторного русла установили снижение перфузии и увеличение миогенного тонуса сосудов сразу после прекращения охлаждения. Через 2 и 10 сут уровень перфузии возвращался к значениям, зарегистрированным до охлаждения, через 14 сут после охлаждения параметры микроциркуляции возвращались к исходным значениям. Сразу после прекращения охлаждения регистрировали увеличение средней систолической скорости и индекса пульсации по данным доплерографии. Через 2 сут после прекращения охлаждения сохранялись высокие систолическая скорость и индекс пульсации, свидетельствовавшие об интенсификации гемодинамики и увеличении сопротивления сосудистого русла. Через 5 сут на прежнем высоком уровне оставалась средняя систолическая скорость, возвращавшаяся к исходным значениям к 10 дню после прекращения охлаждения. Через 14 сут установили возвращение всех параметров к значениям, зафиксированным до охлаждения. При гистологическом исследовании после прекращения охлаждения в сосудах микроциркуляторного русла определялись незначительные патологические изменения, свидетельствующие о повышении сосудистой проницаемости и слабо выраженного периваскулярного отека. В течение 2-10 сут регистрировали регенеративные изменения, характеризовавшиеся увеличением числа капилляров и сосудов малого калибра с базофильным эндотелием и появлением новообразованных сосудов. При гистологическом анализе установлено, что через 14 дней после прекращения охлаждения состояние сосудов микроциркуляторного русла не отличалось от нормы.

ПСИХОЛОГО-СОЦИАЛЬНАЯ НАГРУЗКА И УСЛОВИЯ ПРОЖИВАНИЯ КАК ФАКТОР ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

В.В. Пожарская, Д.А. Петрашова

ФИЦ Кольский научный центр РАН, Апатиты

Проживание на Крайнем Севере связано с нарушением циркадианных ритмов из-за полярной ночи и дня (Коломейчук и др., 2019), витаминным статусом (Потолицына, Бойко, 2018), значительный вклад в заболеваемость вносят высокоширотные космо- и гелиофизические агенты, ассоциированные с солнечной активностью (Белишева, Талыкова, Мельник, 2012), повы-

шающие чувствительность к воздействию факторов среды и, приводящие к снижению адаптационных возможностей организма. Исследование направлено на выявление влияния условий проживания детей на периодичность простудных заболеваний и цитогенетический статус. В исследовании приняли участие более 150 детей (15-17 лет), проживающих на территории Мурманской области. Родители детей дали информированное согласие на проведение исследований. Интервьюирование школьников проводилось по специально разработанному опроснику; психологическое тестирование – с помощью типовой карты САН, теста по Спилбергеру–Ханину, теста Люшера и др. Во время исследований детей осматривал педиатр, производился забор венозной крови. Родители также заполняли специально разработанный опросный лист, содержащий комплекс вопросов, касающихся здоровья ребенка, успеваемости в школе, режима дня, физической активности, рациона питания, наличие в рационе питания продуктов местного происхождения и др. По результатам поперечного обсервационного исследования установлено, что более чем у половины исследуемых детей (52%) средний уровень непродуктивной нервно-психической напряженности и характерна оптимальная мобилизация физических и психических ресурсов и установка на активное действие. В результате проведенных исследований было установлено, что витаминные комплексы, рыбий жир и витамин Д употребляют с различной периодичностью 69% обследованных детей. Показано, что дети, употребляющие дополнительно витаминные комплексы и витамин Д реже (меньше 3 раз в год) болеют (77% от общего числа), при этом у 73% из них простудные заболевания протекают в легкой форме. При проведении микроядерного теста на лимфоцитах крови школьников и общего анализа крови также были выявлены закономерности, предположительно связанные с психолого-социальными показателями.

МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ФИННО-УГОРСКОЙ ГРУППЫ КОРЕННЫХ НАРОДОВ СЕВЕРА В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

М.А. Попова, В.Е. Граудина, А.С. Палюшкевич

Сургутский государственный педагогический университет, Сургут

Неблагоприятные экологические факторы и психосоциальный стресс при изменении традиционного образа жизни коренных малочисленных народов Севера (кмНС) на урбанизированную среду оказывают влияние на характер метаболических процессов и развитие кардиометаболических заболеваний.

Проведен сравнительный анализ нарушений липидного и углеводного обмена, распространенности метаболических нарушений и кардиометаболических заболеваний в финно-угорской субпопуляции кмНС хантов в нефтегазодобывающем районе на севере Западной Сибири.

В анализ включены 315 традиционных хантов (ТрХ) из родовых угодий Сургутского района Ханты-Мансийского автономного округа (148 женщин, 167 мужчин, средний возраст $33,9 \pm 12,0$ лет) и 189 урбанизированных хантов (УХ) (138 женщины, 51 мужчина, средний возраст $39,5 \pm 13,6$ лет), проживающих в промышленном городе Сургуте не менее десяти лет.

Проанализированы антропометрические, метаболические (липидограмма, глюкоза крови), функциональные (центральное и периферическое АД, кардиоритмография) и клинические показатели с учетом принятых диагностических критериев предпатологии – избыточной массы тела (МТ), предгипертензии, преддиабета и кардиометаболических заболеваний – ожирения, диабета 2 типа, АГ, ИБС, по результатам диспансеризации кмНС в лечебно-профилактических учреждениях ХМАО.

Метаболические нарушения выявлены в 23,9% у ТрХ и 58,4% УрХ.

ТрХ имели нормальную МТ в 79,4%, избыточную МТ в 16,7%, ожирение в 3,9%, дислипидемии в 28,6%, гипергликемию натощак в 11,1%, предгипертензию в 12,8%, АГ в 9,8%, повышенное цСАД в 22,6%, ИБС в 1,6%, преддиабет в 6,4%. УрХ имели нормальную МТ в 41,6%, избыточную МТ в 28,0%, ожирение – в 30,4%, дислипидемии в 48,8%, гипергликемию натощак в 30,4% (при дообследовании выявлен преддиабет в 12,4%, диабет в 4,0%), предгипертензию в 24,8%, АГ в 22,9%, повышение цСАД в 40,8%, ИБС в 5,2%. По данным кардиоритмографии 53,4% УрХ и 26,0% ТрХ имели избыточную симпатическую активацию.

При изменении традиционного образа жизни на урбанизированную среду у хантов в 2,8 раз увеличивается встречаемость избыточной МТ и ожирения, в 1,7 – дислипидемий, в 2,7 – преддиабета и диабета, в 2,2 раза АГ, в 3,3 раза ИБС. При симпатикотонии показатели гликемии, холестерина и АД у хантов выше, чем при вегетативном балансе и парасимпатикотонии.

ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СПОРТСМЕНОВ-«МОРЖЕЙ», ЗАНИМАЮЩИХСЯ ЗИМНИМ ПЛАВАНИЕМ, В ЭСТАФЕТЕ ПО ЧЕРНОМУ МОРЮ – 555 КМ

Т.А. Фишер С.С. Кольванова

¹Тюменский научный центр СО РАН; ²АНО ДПО НОЦ «Регион здоровья», Тюмень

За последние несколько лет соревнования по зимнему плаванию становятся все более популярными, как в РФ, так и в Европе. Спортсмены-«моржи» организуют международные заплывы и устанавливают мировые рекорды в холодной воде. Такие мероприятия часто остаются без серьезного научного сопровождения. Цель: оценить динамику психофизиологических показателей спортсменов, занимающихся зимним плаванием проплывших 555 км в акватории Черного моря в условиях формирования нового коллектива в период пандемии COVID-19. Материалы и методы: Обследованы мужчины ($n=24$, средний возраст $41 \pm 1,9$) принявшие участие в спортивно-физкультурном мероприятии «Черноморская Эстафета Победы» посвященной 75-ой годовщине Победы. Подписаны добровольные согласия за возможные негативные последствия во время эстафеты. Изучалась динамика, функционального состояния по интегральным показателям метода Люшера на протяжении трех этапов: 1 этап «Новороссийск-Керчь», 2 этап «Керчь-Ялта», 3 этап «Ялта-Севастополь». Обработка результатов – IBM SPSS Statistics 23. Результаты. По цветовому тесту Люшера на старте (1 этап: $0,0[-4,0; 2,5]$) – спортсмены были автономны, независимы, активны. К середине дистанции (2 этап: $0,0[-0,5; 1,5]$) – пассивны, склонны к зависимому положению от окружающих, спонтанному поведению. На финише (3 этап: $0,0[-4,0; 4,0]$) – относительное равновесие между показателями «Егерономность» и «Автономность». Показатель «Баланс личностных свойств» до заплыва (1 этап: $0,0[-2,0; 2,0]$) характеризовался противоречивой и неустойчивой личностью, на финише (3 этап: $-2,0[-3,5; 1,5]$) личностные качества сбалансированы и образуют целостный комплекс. Показатель «Наличие стрессового состояния», на старте (1 этап: $6,8[0,0; 6,8]$) и в середине эстафеты (2 этап: $6,8[0,0;$

10,1]) находились на одном уровне, а к финишу наблюдается снижение (2 этап: 6,0[0,0; 10,1]). Таким образом, несмотря на высокий уровень физических нагрузок от преодоления морской дистанции в акватории Черного моря и психологических нагрузок, связанных с преодолением трудностей разного характера при тестировании психофизиологических показателей спортсменов в динамике особых изменений не установлено. *Работа выполнена по госзаданию согласно Плану НИР ТюмНЦ СО РАН на 2021-2025 гг. (Программа IX.133.1. Проект: 0296-2021-0004).*

ВОЛНОВАЯ СТРУКТУРА РИТМА СЕРДЦА, ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН И ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА С ПОЗИЦИЙ РИСКА РАЗВИТИЯ ДИЗРЕГУЛЯЦИОННЫХ СОСТОЯНИЙ СРЕДИ ЮНОШЕЙ СТУДЕНТОВ

Л.Д. Цатурян, Е.О. Меликбемян, Л.О. Княжецкая, Р.Х. Абдулаева, А.И. Уварова, В.А. Васильева, М.О. Табунщикова
Ставропольский государственный медицинский университет, кафедра нормальной физиологии, Ставрополь

Адаптация организма обеспечивается функциональными системами. По степени напряжения регуляторных механизмов можно судить о дизрегуляторных процессах в организме. Нами проведено исследование с целью выявления дизрегуляторных состояний у юношей студентов. Комплексно обследовано 99 студентов: 58 русской (I группа) и 41 узбекской национальной (II группа). Волновая структура (LF, HF, VLF, ULF мс²) ритма сердца исследовалась на программно-аппаратном комплексе «Варикард 2,5». Изучались основные показатели липидограммы и коагулограммы. Статистическую обработку выполняли с применением программы IBM SPSS Statistics 23, уровень статистической значимости различий верифицировали при $p < 0,05$. Во II группе студентов отмечались более высокие значения LF, ULF волн и низкие значения HF в сравнении со студентами I группы. Анализ показателей липидограммы иллюстрировал достоверно большие значения ЛПНП, ЛПОНП, ТГ и КА у студентов II группы. Отмечалась тенденция к укорочению АЧТВ и ПВ у студентов II группы. Уровень фибриногена у студентов II группы превышал значения в сравнении со студентами I группы. Поскольку, установленные различия можно рассматривать как адаптивные механизмы, связанные с активацией симпатического контура вегетативной регуляции в условиях высокой энергетической потребности организма, а также активацией системы гемостаза в юношеском организме, постольку представляется очевидным развитие дизрегуляторных состояний, повышающих вероятность манифестации различных нозологических форм сердечно-сосудистой патологии.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ РИТМОГРАММЫ В ОЦЕНКЕ АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА К УСЛОВИЯМ ВЫСОКОГОРЬЯ

Ф.А. Шукуров

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Целью исследования явилось изучение динамики корреляционных ритмограмм в условиях низкогогорья с последующим перемещением лиц в условия высокогорья.

Было обследовано 27 человек в условиях низкогогорья и после их перемещения в условия высокогорья.

Нами выделено четыре типа корреляционных ритмограмм (КРГ). Для I типа КРГ (нормотонический) характерно состояние организма с достаточно высоким функциональным резервом. Для II типа КРГ характерна различная степень симпатикотонии. При III типе отмечается появление экстрасистол, а при IV типе КРГ отмечается полное отсутствие корреляционной зависимости между последующими и предыдущими кардиоинтервалами – для них характерно снижение функциональных возможностей организма с проявлением недостаточности защитно-приспособительных механизмов. При сравнительном анализе типов КРГ у одних и тех же обследованных в привычных для них условиях с результатами, полученными в условиях высокогорья мы отметили три типа изменений: положительная динамика – при переходе второго типа КРГ в первый тип; отрицательная динамика – при переходе первого типа КРГ во второй, третий или четвертый тип и нейтральная динамика тип КРГ остается без изменения. Установлено, что у каждого третьего из обследованных лиц при перемещении в условия высокогорья отмечается положительная динамика. Для них оптимальное функциональное состояние достигается при их перемещении на высоту 2200 м над ур.м. У 33,3% обследованных отмечается отрицательная динамика, что может свидетельствовать о двух исходах: 1) они находятся в аварийной фазе адаптации. В этом случае отмечается переход первого типа КРГ во второй тип; 2) эти лица не способны адаптироваться к данной высоте, так как это высота значительно превышает их высотный порог. В этом случае отмечается переход первого типа КРГ в третий или четвертый. У 37,1% обследованных отмечается нейтральная динамика с сохранением первого типа КРГ или с сохранением второго типа. В первом случае можно говорить о том, что высота, куда переместились испытуемый ниже высотного порога. Их можно перемещать на большую высоту без ущерба для здоровья. Во втором случае усиливается напряжение регуляторных механизмов их не целесообразно перемещать на большую высоту.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ НА СЕВЕРЕ РОССИИ

А.Э. Щербакова, М.А. Попова

Сургутский государственный педагогический университет, Сургут

Медико-биологические и социально-психологические подходы к сохранению здоровья жителей арктических территорий России чрезвычайно актуальны, поскольку лимитирующим звеном эффективной реализации экономических и социальных проектов в экстремальных условиях среды чаще всего становится «человеческий фактор». Цель: диагностика и анализ факторов риска физического и психического здоровья представителей различных профессиональных групп стратегически значимого Северного региона на этапах образовательного процесса и в социальной сфере. Обследованы сотрудники системы МЧС ХМАО-Югры (пожарные, диспетчеры, водители) (n=134), врачи экстремального профиля многопрофильной больницы Сургута (n=46), преподаватели северного педагогического высшего учебного заведения после дистанционной работы в период пандемии COVID-19 (n=97), спортсмены-парашютисты на тренировочных и соревновательных этапах (n=27). Проанализированы функциональные показатели: периферическое (САД и ДАД) и центральное систолическое (цСАД) артериальное давление.

ние; кардиоритмограмма, записанная в покое (5 мин) и при активной ортостатической пробе (6 мин); простая зрительно-моторная реакция. Изучены физиологические реакции на стресс, текущие психические состояния (тревожность, фрустрированность, агрессивность, ригидность), нервно-психическая устойчивость, личностный адаптационный потенциал, индивидуально-типологические особенности и показатели качества жизни (физический и психологический компоненты здоровья). Среди сотрудников системы МЧС (33%), врачей (18%) и преподавателей (55%), выявлены лица с нарушениями функционального состояния ВНС и ЦНС, неудовлетворительными психическими состояниями и низкими показателями качества жизни, что ставит под сомнение возможность оптимального выполнения ими профессиональных обязанностей. Спортсмены высокой квалификации отличались высоким уровнем функциональных психологических возможностей и удовлетворительной адаптацией после предельных стрессовых нагрузок. Для снижения риска развития неблагоприятных состояний в процессе профессиональной деятельности в экстремальных условиях на Севере России необходимо повышение качества отбора специалистов в профессии с высоким уровнем психофизиологических нагрузок, оптимизация показателей работоспособности.

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА МАГНИЕВЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА У ПАЦИЕНТОВ В СОСТОЯНИИ ОСТРОГО ТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССА

М.Т. Гедулянов

НМИЦ ЦНИИ стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва

Магний (Mg) – второй по важности внутриклеточный катион, который необходим для широкого спектра физиологических функций. Нарушения содержания Mg в организме, которые могут быть вызваны загрязнением окружающей среды, образом жизни и образом питания, могут иметь серьезные негативные последствия для здоровья. Одним из факторов, влияющих на гомеостаз Mg, является чрезмерное потребление этанола. Взаимодействие между этанолом и Mg может происходить на разных стадиях метаболизма Mg (абсорбция, распределение в организме и выведение этого элемента), а также на стадии его биологических функций у пациентов в состоянии острого травматического стресса. Прием этанола приводит к серьезным нарушениям метаболизма Mg, с одной стороны, в то время как потребление Mg с пищей, как сообщается, влияет на метаболизм и токсичность этанола, с другой стороны. Экспериментальные данные показывают, что добавление магния может предотвратить или уменьшить неблагоприятные эффекты действия этанола у пациентов, тогда как его дефицит может усилить токсичность этанола. В статье взаимодействия этанола и Mg у пациентов с челюстно-лицевой травмой обсуждаются на основе имеющихся экспериментальных данных на фоне обычного потребления этанола и недостаточного потребления Mg.

СТРЕССОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ЗДОРОВЬЯ ВРАЧЕЙ-ОНКОЛОГОВ В ЭПОХУ ПАНДЕМИИ

Е.А. Евстифеева, С.И. Филиппченкова, Л.А. Мурашова

Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Россия

Экзистенциально-психологическая модель врачевания разрабатывается в рамках проекта РФФИ № 19-013-00038 «Управление качеством жизни, связанным со здоровьем в онкологии: междисциплинарные подходы, экзистенциально-психологическая модель врачевания» и представляет собой конструкт межличностного взаимодействия врача и пациента, базирующийся на рефлексивной методологии и соединяющий психологическую и биомедицинскую парадигмы в лечебной практике. Это психометрический инструмент для врача-онколога, предназначенный для феноменологического анализа, объяснения, обобщения полученных в результате исследования психологических данных и целостных экзистенциальных переживаний онко-больного. Профессия врача требует от специалиста не только физического (физиологического) здоровья, но и психологического, социального, личностного, профессионального и т.д. Под психологическим здоровьем мы понимаем адекватное гармоничное функционирование психических и когнитивных процессов, адекватность самооценки, автономия личности, психологическое благополучие и удовлетворительное качество жизни. Профессионально важные качества медика требуют когнитивных условий: интуиция, аналитичность, внимательность, сосредоточенность, волевая выносливость. В повседневной профессиональной практике повышенные психические нагрузки, требующие предельного терпения и выдержки обусловлены встречами с пациентами, больными и их близкими из так называемого «трудного» контингента, а именно психиатрические, странные больные, пациенты с алкогольным и наркотическим опьянением, с девиантным поведением ит.д. В 2020 году на II этапе исследования осуществлена психологическая диагностика профессионально важных качеств и психологического выгорания врачей-онкологов. В нём приняли участие врачи и заведующие отделениями ГБУЗ «Тверской областной клинической онкологической диспансер», выборка составила 45 человек, средний возраст 47 лет. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что врачи-онкологи демонстрируют низкий уровень рефлексивности и не слоны к доверительности в межличностных контактах, причем практически две трети обследованных врачей-онкологов имеет уже сформировавшийся синдром эмоционального выгорания. Налицо необходимость разработки системы психологического сопровождения врачей-онкологов.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОЭКДИСТЕРОИДОВ С ПОЛИФЕНОЛАМИ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ИЗ ЗЕРЕН КИНОА, НА ФИЗИЧЕСКУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ, ПАМЯТЬ И ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС-САМЦОВ ЛИНИИ ВИСТАР

Н.А. Петров, Н.А. Бирюлина, В.К. Мазо

ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва

Не вызывает сомнений взаимосвязь питания с когнитивными способностями, а также адаптацией организма человека к стрессорным воздействиям, включающим повышенные физические и/или эмоциональные нагрузки. Целью данного исследования является создание новых пищевых ингредиентов адаптогенного действия, предназначенных для увеличения работоспособности и повышения когнитивного потенциала. Эксперимент проведен с использованием 50 крыс-самцов линии Вистар. В

рацион животных вводили ПИ1 – экстракт фитостероидов и флавоноидов из зерна киноа в количестве 0,05% или ПИ2 – концентрат фитостероидов и флавоноидов зерна киноа, сорбированных на коагулированном белке куриного яйца. Для оценки физической выносливости животных в эксперименте использовали беговую дорожку Treadmill (PanLab, Испания). Крысы, необучаемые бегу, не принимали участия в исследованиях. Перед началом и на 32 сутки эксперимента проводили тестирование животных на установке Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ). На 25 сутки эксперимента проводили тестирование животных на установке Открытое поле. Оценка поведения и памяти животных проводили, используя тест «Условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ). На 36 сутки эксперимента животные подвергались истощающей физической нагрузке на беговой дорожке. Продолжительность нагрузки составила 50 мин, скорость ленты плавно повышали с 19 см/с до 43 см/с, наклон полотна 10°. Не было выявлено различий между группами в показателях выносливости в тесте Беговая дорожка. На 14е сутки тестирования долгосрочной памяти показано отрицательное влияние регулярных физических нагрузок на долгосрочную память крыс. Сочетанное использование двух физиологических тестов ПКЛ и ОП показало, что ежедневная физическая нагрузка повышала тревожность лабораторных животных. В тесте ПКЛ было показано, что введение в рацион пищевых ингредиентов приводило к нормализации всех оцениваемых показателей. В тесте ОП не было выявлено эффекта разработанных пищевых ингредиентов. Получаемый результат свидетельствует о влиянии физической нагрузки на показатели памяти и тревожности, которое может быть частично нивелировано введением в рацион разрабатываемых пищевых ингредиентов. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 19-16-00107.*

ВЛИЯНИЕ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ НА СОСТОЯНИЕ ГЛИИ В ГИППОКАМПЕ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ

А.О. Манолова, М.Ю. Степанчев, Я.Д. Коробкина, А.А. Буянова, В.А. Аниол, А.А. Квичанский, Н.В. Гуляева
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Инфекционные болезни, перенесенные в раннем детском возрасте, могут приводить к развитию в последующем расстройств депрессивного спектра. Для выяснения механизмов этого явления используют модель неонатального провоспалительного стресса (НПС). В этой модели крысята получают инъекцию бактериального липополисахарида (ЛПС) или физ. раствора на 3 и 5 постнатальные дни (ПД). Ранее было показано, что такая манипуляция приводит к депрессивно подобному поведению в возрастах 1 и 3 месяца. Среди механизмов, приводящих к развитию депрессивно подобного поведения называют и нейровоспаление. Целью эксперимента было исследовать динамику изменений микро- и астроглии в ответ на провоспалительный стресс в раннем онтогенезе. Для этого у крыс возрастов 18, 30 и 90 ПД исследовали плотность популяции микро- и астроглии в гиппокампе. Для микроглии были дополнительно исследованы фрактальная размерность и наличие чашек фагоцитоза. Также было исследовано воздействие острого стресса во взрослом возрасте (вынужденное плавание) и совместное действие стрессов в раннем и взрослом возрастах на состояние глии в дорсальном и вентральном отделах гиппокампа. Обнаружен половой диморфизм в наличии отставленных эффектов НПС: у самок изменения глии в ответ на НПС проявлялись в ювенильном возрасте, в то время как у самцов только во взрослом возрасте. Наибольшие эффекты НПС на состояние глии гиппокампа проявлялись во взрослом возрасте (именно тогда, когда проявления депрессивно-подобного поведения становятся выраженными) и, в основном, в вентральном гиппокампе. Поведенческий стресс во взрослом возрасте приводил к изменениям состояния глии гиппокампа у самок, но не у самцов крыс. Совместное воздействие стресса в раннем и во взрослом возрастах приводило к изменениям состояния глии в вентральном гиппокампе у животных обоих полов. Таким образом, НПС приводит к долговременным изменениям состояния микроглии в мозге крыс. Полученные данные позволяют предполагать участие глии в проявлении депрессивно подобного поведения. *Работа поддержана грантом РФФ № 21-75-10156.*

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОБЫ СЕРДЕЧНО-ДЫХАТЕЛЬНОГО СИНХРОНИЗМА ПРИ ОЦЕНКЕ РЕГУЛЯТОРНО-АДАПТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

В.В. Полищук, В.М. Покровский

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

Проба сердечно-дыхательного синхронизма (СДС) позволяет количественно охарактеризовать межсистемные взаимодействия нескольких вегетативных функций и интегрально оценить регуляторно-адаптивные возможности организма при различных функциональных состояниях и заболеваниях, поскольку результирующие показатели пробы формируются с участием различных сенсорных входов, центральной и вегетативной нервной систем, координированная работа которых свидетельствует об адекватности регуляторно-адаптивных реакций организма. Проба СДС предусматривает дыхание испытуемого с частотой, задаваемой светозвуковым стимулятором, превышающей исходную ЧСС. При определенной частоте дыхания ЧСС начинает совпадать с частотой дыхания. Компьютерная программа фиксирует факт синхронизации, когда наблюдается более 7 циклов подряд с одинаковой частотой стимулятора, дыхания и сердцебиений. Были проведены исследования с целью оптимизации воспроизведения заданного ритма дыхания при проведении пробы СДС. Полученные результаты показали, что перед пробой СДС эффективно: 1) провести тест с определением моторной асимметрии рук и для удобства испытуемого разместить ЭКГ-электроды на ногах и только на одной руке; 2) просмотреть обучающую видеозапись, демонстрирующую испытуемому алгоритм предстоящего исследования; 3) провести тест на определение латентного периода простой сенсомоторной реакции на звуковой и световой раздражитель. Исследования с предложенными приемами были проведены на 30 студентах-юношах (19±1 год), составивших основную группу. Длительность тестирования в контрольной группе (n = 30) статистически значимо (p < 0,001) превышала длительность тестирования в основной группе в среднем на 10,2 минут. Степень соответствия воспроизведенного и заданного ритмов дыхания в основной группе была выше, чем в контрольной, и составляла (M±SD) 47,0±15,7 %. Максимальное количество точных дыхательных циклов, воспроизведенных подряд в первой пробе, также продемонстрировало преимущества основной группы, где данный показатель составил 10,3±3,4 цикла. Количество дыхательных циклов от

начала первой пробы до точного воспроизведения задаваемого ритма снизилось в основной группе по сравнению с контрольной на 76,3 %. Исследование продемонстрировало эффективность предложенных приемов оптимизации проведения пробы СДС.

АДАПТАЦИЯ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ СТУДЕНЧЕСКОЙ МОЛОДЕЖИ В СИТУАЦИИ ПАНДЕМИИ

С.И. Филиппченкова, Е.А. Евстифеева, Л.А. Мурашова, Л.В. Удалова

Тверской государственный медицинский университет, Тверь

Исследование проводится в рамках приоритетных национальных проектов России, Национальных проектов «Демография» и «Образование» (2019–2024 гг.) и выполняется при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-013-00188 «Репродуктивный потенциал молодежи: риски ответственности и управление качеством жизни, связанным со здоровьем». Репродуктивное здоровье – важнейшая составляющая здоровья человека, которое предстает синергетическим индикатором качества жизни, которое формируется с помощью здоровьесберегающих технологий, базирующихся на индивидуальном, личностно-ориентированном подходе к студенту, и предполагающих активную жизненную позицию обучающегося в формировании опыта собственного здоровьесбережения и самоконтроля. На молодежные представления о качестве жизни, связанного со здоровьем, на демографические экспектации, уровень притязаний и степень удовлетворенности жизненной ситуацией, поведенческие паттерны влияют такие личностно-психологические переменные как ответственность, рефлексивность, ценностно-смысловая матрица, личностные риск-факторы принятия решений. В 2020 году осуществлено исследование отношения к репродуктивному здоровью с помощью анкетирования, на материале которого верифицируются различные аспекты репродуктивного поведения и демографические ожидания молодежи. Социологическое исследование проведено с помощью авторской анкеты, включающей 35 вопросов. В анкетировании приняли участие 600 студентов Тверских вузов в возрасте от 17 до 23 лет. По результатам исследования создана база данных анкетирования, разработана и апробирована программа тренинга развития рефлексивности и ответственности в области репродуктивного здоровья для студентов в Тверском государственном медицинском университете. Полученные социально-психологические данные лежат в основе разрабатываемой психолого-педагогической программы формирования здорового жизненного стиля у студентов в сфере репродуктивного здоровья с интеграцией ее в практику высшего образования. Выявление специфики взаимосвязи качества жизни, связанного с репродуктивным здоровьем и личностно-психологических особенностей молодежи направлено на разработку психологической модели управления качеством жизни, связанным с репродуктивным здоровьем.

ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЛИЦ ЮНОШЕСКОГО ВОЗРАСТА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ ЭЛЕУТЕРОКОККОМ

Л.Д. Маркина¹, В.В. Маркин¹, Э.А. Мубаяджян¹, В.С. Дубук²

¹Тихоокеанский государственный медицинский университет, кафедра физиологии человека; ²Дальневосточный федеральный университет, школа искусств и гуманитарных наук, департамент физической культуры и спорта, Владивосток

Компенсаторно-приспособительные возможности подростков г. Владивостока в возрасте 17–20 лет (30 девушек и 20 юношей) определялись по показателям биологического возраста (БВ) по В.П. Войтенко, индексу функциональных изменений (ИФИ) по Р.М. Баевскому и типу коронарного поведения по Дженкинсу. Эффективность коррекции дезадаптационных состояний путём приёма элеутерококка оценивалась по компьютерной программе «Антистресс» (Гаркави Л.Х. и др., 1998). С этой целью обследовано 50 человек (по 25 в контрольной и экспериментальной группах). У 86% (95% юношей и 80% девушек) обследованных отмечен повышенный показатель старения (отношение фактического БВ к должному). ИФИ у большинства обследованных не превышал нормальных значений, но колебался в диапазоне от 2,00 до 2,67, причём у юношей был выше. Среди девушек преобладал тип коронарного поведения АВ, у юношей – А (менее благоприятный). Выявлены прямая и обратная пропорциональная зависимость БВ от ИФИ и типа коронарного поведения соответственно. В контрольной группе исходно доля лиц с I уровнем здоровья составила 8%, со II – 44%, с III – 48%. В экспериментальной группе I уровень здоровья имел место в 12% случаев, II – в 36%, III – в 52%. Через 30 дней приёма элеутерококка доля студентов с I уровнем здоровья составила 40%, со II – 52%, с III – 8%. В группе контроля наблюдалась незначительная положительная динамика состояния. В целом адаптационные возможности подростков г. Владивостока оказались пониженными. Доказана высокая эффективность элеутерококка в коррекции дезадаптационных состояний, что проявилось в значительном увеличении числа лиц экспериментальной группы с отличным и хорошим общим состоянием в сравнении с группой контроля, где отмечена незначительная положительная динамика состояния здоровья обследуемых.

ОЦЕНКА ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА У СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Е.А. Наговицына, Н.Н. Васильева, Е.В. Елисева

Ижевская государственная медицинская академия МЗ РФ, Ижевск

Изучение здоровья студентов – тема актуальная и стратегически важная, так как данная группа населения является будущим государства. В связи с этим, возникает необходимость мониторинга уровня адаптационных возможностей и функциональных резервов организма обучающихся. Сердечный ритм и вариабельность данного показателя – интегральный критерий оценки уровня адаптации. Цель – оценить показатели вариабельности ритма сердца и адаптационного потенциала у студентов с различным типом физической активности. Было обследовано 40 студентов мужского пола в возрасте 19–21 год, 10 из которых входили в сборную команду ВУЗа по футболу, с регулярностью тренировок 4 раза в неделю; 10 студентов были легкоатлетами, с регулярностью тренировок 3 раза в неделю. Остальные 20 молодых людей имели основную группу здоровья и посещали

занятия физкультуры 2 раза в неделю. Регистрация ЭКГ-сигнала проводилась лежа на спине в I, II и III стандартных отведениях в течение 5 минут. Обработка значений кардиоинтервалографии и анализ variability ритма сердца проводилась с помощью операционной программы аппарата фирмы «НейроСофт» (г. Иваново). Среди студентов-легкоатлетов в 90% случаев умеренное преобладание парасимпатической активности. У студентов-футболистов 40% – умеренное преобладание симпатической и центральной регуляции сердечного ритма, умеренное напряжение регуляторных систем; 40% – умеренное преобладание парасимпатической регуляции. Среди студентов, не занимающихся спортом профессионально, наибольшую группу (63%) составляют молодые люди с умеренным преобладанием парасимпатического влияния и оптимальным состоянием регуляторных систем организма. Выводы: 1. Среди исследуемых групп наибольший адаптационный потенциал имеют студенты-легкоатлеты. 2. У студентов-футболистов адаптационные механизмы значительно напряжены, что может привести к различным функциональным расстройствам, и требует мониторинга показателей ВСР в тренировочном процессе. 3. Изучение физиологического состояния и показателей ВСР у студентов, имеющих повышенную физическую активность, необходимо для определения оптимального тренировочного режима и контроля основных физиологических показателей организма, а также для снижения риска возникновения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ РЕЗЕРВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ ПРИ РАЗНЫХ ФОРМАХ ОБУЧЕНИЯ

М.Б. Устоев, Б.Р. Устоев

Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан

Целью данного исследования является изучение физиологических характеристик функциональных резервов студентов 1 курса кредитной и дистанционной форм обучения.

В исследовании принимали участие 30 – студентов кредитной и 30 – студентов дистанционной форм обучения биологического факультета Таджикского национального университета. Были определены показатели для характеристики физиологических резервов студентов на основе определения преимущественно регуляторных параметров организма (КВ, ИР), поскольку именно ими определяется функциональный запас организма.

Для оценки состояния компенсаторноприспособительных возможностей кардиореспираторной системы определялся адаптационный потенциал системы кровообращения и индекс Скибинской. Коэффициент выносливости (КВ), усл. ед., определялся по формуле индекса Робинсона.

Результаты исследований показали, что механизм возникновения адаптации к обучению происходит за счет резервной возможности организма студентов, исходя из этого изучение и её оценка имеют большое значение для приспособления организма. Если анализировать показатели, обеспечивающие функциональные возможности у студентов 1-курса с кредитной и дистанционной формами обучения, то следует отметить, что значения показателей выносливости, которые расположены под последними нормальными показателями при исследовании обнаружена слабость работы вегетативных показателей. Далее можно уверенно сказать о преобладании сосудистого типа регуляции кровообращения у студентов первого курса потому, что средний показатель работы и регуляции сердечной деятельности составляет более 100 %; установлено, что индекс Робинсона у студентов 1-курса, кредитной формы обучения, ниже, по сравнению с показателями у студентов 1-курса, дистанционной формы обучения, что касается их адаптационного потенциала то выше ($t_{\text{эмп}} = 2,17$; $p < 0,05$).

Таким образом, на основании результатов исследований можно сделать некоторые выводы о роли социально-бытовых факторов и условий обучения студентов на их функциональные возможности. Установлено, что наиболее оптимальным является сердечно-сосудистый тип саморегуляции кровообращения, в котором задействованы два регуляторных звена, а доминирование одного из них приводит к напряжению функции и преждевременному истощению организма во время обучения.

НАПРАВЛЕННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ЗДОРОВЬЯ ОБЩЕСТВА – ПЕРВОСТЕПЕННАЯ ЗАДАЧА ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ

Ф.И. Фурдуй, В.К. Чокинэ, В.Ф. Фурдуй, Л.Ф. Вуду

Институт физиологии и санокреатологии, Кишинев, Молдова

Одной из жизненных проблем современного общества, угрожающей дальнейшему его развитию, является проблема здоровья. Специальные исследования показывают, что большая часть населения Планеты страдают от различных заболеваний и что прогноз заболеваемости на ближайшее будущее весьма неутешителен. Имеются и другие научные доказательства для признания проблемы здоровья одной из непосредственно угрожающей дальнейшему развитию современного общества и его прогрессивному благоприятному существованию, решение которой зависит от специально направленных исследований физиологии, биохимии и других наук. Этим в свое время был обусловлен пересмотр исследований Института физиологии и санокреатологии АН Молдовы и ориентирование на изучение механизмов становления и поддержания здоровья. Причин высокого уровня заболеваемости современного общества много, но главная, на наш взгляд, состоит в том, что функциональные способности жизненно важных органов и систем организма человека сформировались в процессе эволюции к другим условиям существования, претерпевшим за последнее время резкие изменения. Изменились условия жизни и деятельности, темп жизни, увеличилось количество стрессогенных факторов и их агрессивность, вызывающих диссаногенные эмоции, а здоровье, как таковое, формируется, как и сотни лет назад, стихийно, из-за чего структурно-функциональный потенциал организма не в состоянии выдерживать прессинг актуальных стрессогенных факторов, обстоятельств и ситуаций и обеспечить саногенное функционирование жизненно важных органов и систем, что и детерминирует их расстройство и развитие заболеваемости. Существует лишь один путь реального решения проблемы здоровья – отказ от стихийного его становления в пользу направленного формирования от закладки гамет и до полной реализации биологического и психического потенциала. На базе собственных и литературных данных были разработаны научные концепции о психическом и сомато-висцеральном здоровье, которые легли в основу исследований. Были установлены научные доказательства возможностей направленного влияния на

становление как психического, так и сомато-висцерального здоровья, феноменологические принципы, рефлектирующие состояния здоровья, определены принципы, пути и методы направленного создания и поддержания психического здоровья и др.

ВЛИЯНИЕ ДВУХ СТРЕССОРОВ – ГИПОДИНАМИИ И ГИПОТЕРМИИ НА ЛЕГОЧНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ И ГИСТОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ЛЕГКИХ

К.М. Хамчиев¹, Ф.А. Шукуров²

¹Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Казахстан; ²Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Условия окружающей среды оказывают значительное влияние на здоровье человека и животных. Очень часто они могут воздействовать на организм комбинированно и вызывать существенные сдвиги гомеостаза и нарушения процессов жизнедеятельности организма. На 22 белых крысах обоего пола нами было изучено комбинированное влияние двух стрессорных факторов: 6-часовой иммобилизации и гипотермии на показатели скорости кровотока, тонуса сосудов, венозного оттока крови в малом круге кровообращения. Для этого была использована собственная методика регистрации реопульмонограммы у крыс. Морфологическое исследование ткани легких животных, которая окрашивалась гематоксилином и эозином позволило выявить изменения в легочной ткани при таком воздействии. Изменения легочного кровообращения по данным реографического исследования при комбинированном стрессе, обусловленном гипотермией и иммобилизацией показал односторонние изменения в период от 1 до 3 часа опыта и свидетельствовал о снижении объема кровенаполнения, скорости кровотока, повышении тонуса прекапиллярных сосудов легких и венозном застое крови в системе малого круга кровообращения. После 3 часа и до окончания воздействия (через 6 час), эти реографические характеристики приближались к уровню показателей контрольных животных, по-видимому, вследствие включения в это время компенсаторных реакций перераспределения крови. У одного животного было выявлено понижение тонуса сосудов легких на фоне повышения регионального кровенаполнения легочной ткани. Морфологическая картина, которая наблюдается при этом свидетельствует о значительной гипоксии тканей: выраженные признаки артериолоспазма, увеличение кровенаполнения на уровне пре- и посткапилляров, увеличение проницаемости стенок мелких сосудов. Как следствие всего перечисленного, возникает реактивный бронхоспазм, очаговая эмфизема и дистелектазы паренхимы легких. Таким образом, одновременное сочетанное шестичасовое воздействие двух мощных стрессорных факторов – гипотермии и иммобилизации, способствуют возникновению у животных односторонних геодинамических сдвигов в малом круге кровообращения: увеличению сосудистого давления на уровне микроциркуляторного русла легких, понижению их кровенаполнения, и, как следствие – затруднению венозного оттока крови к сердцу.

ПОСЛЕДСТВИЯ ВЛИЯНИЯ ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ПСИХИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ

В.К. Чокинэ, В.Ф. Фурдуй, В.Г. Врабие, Л.Ф. Вуду, С.Г. Вуду, А.И. Леорда, В.И. Райский, О.В. Булат

Институт физиологии и санокреатологии, Кишинев, Молдова

Более полутора лет мир охвачен пандемией вирусной инфекции COVID-19 и пока она, хотя и начата вакцинация, не идет на убыль, чем держит общество в напряженном психическом состоянии. Пандемия оказала мощное негативное влияние на психическое состояние общества в целом. Изменение привычного образа жизни, переживания из-за неуверенности в своей безопасности, риск инфицирования, изоляция, отсутствие уверенности в завтрашнем дне и др. стали стрессогенными факторами, вызывающими состояние стресса, последствия которого проявляются в виде устойчивого тревожного и депрессивного поведения, представляющего риск развития психических расстройств. Чаще всего проявляются следующие симптомы: тревожность, страх, фобии, высокая раздражительность и возбудимость, импульсивное поведение, социальная дезадаптация, апатия, депрессия. У людей, заболевших коронавирусной инфекцией, симптомы нарушения психического здоровья (тревога, страх, паника, трудности с концентрацией внимания, апатия, депрессия, нарушения сна и др.) чаще всего проявляются на 3-5 день заболевания, когда пациент осознает, что он заболел коронавирусом. Факт осознания развития у себя коронавирусной инфекции становится усугубляющим фактором течения болезни. Первые симптомы развития коронавирусной инфекции представляют собой генетически закрепленную общую защитную вегетативную реакцию – повышение температуры тела, кашель, утомляемость, фагоцитоз, лейкоцитоз, иммунореактивность. Клинические специфические симптомы коронавируса возникают после 3-5 дня заболевания, когда иммунная система не в состоянии остановить распространение и репликацию вируса к его непосредственному воздействию на клетки легких. Последствия влияния коронавируса на организм столь значительны, что даже после выздоровления пациенты нуждаются в специальной реабилитации. Пандемия оказала сильное негативное влияние и на психическое здоровье медицинских работников, у которых проявляется синдром эмоционального выгорания – крайняя усталость, депрессия, колебания артериального давления, раздражительность, высокая возбудимость, апатия, разочарования и др., обусловленные большими физическими нагрузками, сменным графиком работы, высокой смертностью больных и др. По эффекту влияния пандемии COVID-19 на психическое здоровье ее следует считать и психогенной пандемией.

СТРЕСС, БАЗОВЫЕ ЭМОЦИИ И ПСИХИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ

В.К. Чокинэ, В.Ф. Фурдуй, С.Г. Вуду, В.Г. Присяжнюк, Пушика Зайня

Институт физиологии и санокреатологии, Кишинев, Молдова

Согласно психосанокреатологии, стресс и базовые эмоции являются составляющими компонентами современного образа жизни, оказывая существенное влияние на психическое здоровье. Последствия их действия имеют много общего в плане развития сано- и диссаногений. Исследования последних лет по направленному формированию и поддержанию психического здоровья показали, что базовые эмоции, как и стресс, возникли в филогенезе как защитные, а не адаптивные реакции, как считается в настоящее время. Это и предопределило задачу установить, чем обусловлено наличие двух защитных реакций и особенности их проявления. И стресс, и базовые эмоции возникли в процессе эволюции, однако в различные ее периоды. Проявив себя биологически полезными, они стали передаваться по наследству и сохранились на всех этапах прогрессивного

развития животного мира. Стресс, как таковой, сформировался как защитная реакция, на начальном этапе развития у общих предков растительного и животного мира, организм которых представлял собой одно целое, не дифференцированное на органы и системы. Это обусловило проявление стресса не только в животном мире, но и в растительном. Эта защитная функция имела однотипный, неспецифический, стереотипный гуморальный характер, которая проявляется и у человека. Селье обозначил ее как стресс. Однако, впоследствии к симптоматике генетически закрепившейся стрессовой реакции неправомерно, неоправданно стали приписывать диссаногенные последствия базовых эмоций, механизм развития которых совсем другой, чем стрессогуморальной природы. Базовые эмоции (тревога, страх, гнев, ярость, агрессия, боль, горе) возникли на более поздних этапах филогенеза, когда у животных уже было достаточно хорошо развита ЦНС, включая относительно специфические эмоциональные структуры мозга, чем обеспечивались элементы сознания, за счет которых стало возможным психогенно оценить значимость воздействующего фактора, предвидеть возможные последствия, провоцирующих волнение и синхронно мобилизовать организм к действию для устранения воздействующего фактора. Эмоционально-защитная реакция, будучи психогенного происхождения, связана с мотивационной, эмоциональной, когнитивной и поведенческой сферой человека, т.е. с психической деятельностью.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОСНОВНЫХ ЭЛЕКТРОЛИТОВ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К ВЫСОКОГОРЬЮ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕАДАПТАЦИЕЙ

Ф.А. Шукуров, З.У. Арабова

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Изменение концентраций наиболее важных электролитов (калия, натрия, кальция, хлора) в условиях гипоксии значительно осложняет состояние организма и является непосредственной причиной нарушений кислотно-основного равновесия крови.

Целью данного исследования явилось изучение динамики электролитов при кратковременной адаптации человека к условиям высокогорья. Для этого у 27 человек трижды определяли ионы натрия, калия, хлора и кальция: в условиях низкогогорья (г. Душанбе, высота 840 м над ур.м); после перемещения их на 10 суток в условия высокогорья и после возвращения в условия низкогогорья (реадаптации). Исследования проводили на портативном анализаторе газов и электролитов крови Abbott I-STAT.

Результаты анализа показывают, что до восхождения в горы концентрация ионов натрия составила $133,9 \pm 0,9$ ммоль/л, в условиях высокогорья этот показатель увеличился ($p < 0,05$). В процессе реадаптации количество ионов натрия оставалось статистически выше результатов отмечаемых до восхождения в горы ($p < 0,05$). До восхождения в горы концентрация ионов калия составила $4,4 \pm 1,2$ ммоль/л, в условиях высокогорья этот показатель уменьшился до $3,7 \pm 0,6$ ммоль/л ($p < 0,01$). В процессе реадаптации количество ионов калия составляла $3,9 \pm 0,8$ ммоль/л и статистически отличалось от показателей, полученных у испытуемых до восхождения в горы ($p < 0,01$). Концентрация ионов кальция до восхождения в горы составила $0,6 \pm 0,1$ ммоль/л, в условиях высокогорья этот показатель уменьшился до $0,5 \pm 0,1$ ммоль/л ($p < 0,05$). В процессе реадаптации количество ионов кальция было равно $0,6 \pm 0,1$ ммоль/л и статистически не отличалось от показателей, полученных у испытуемых до восхождения в горы. Концентрация ионов хлора до восхождения в горы составила $100,9 \pm 2,7$ ммоль/л, в условиях высокогорья этот показатель уменьшился на 5,1% и составил $96,0 \pm 2,8$ ммоль/л ($p < 0,05$). В процессе реадаптации количество ионов хлора было равно $97,5 \pm 4,3$ ммоль/л и статистически отличалось на 3,5% от показателей, полученных у испытуемых до восхождения в горы ($p < 0,05$).

Таким образом, концентрация ионов натрия в условиях высокогорья увеличилась, а концентрация ионов калия, кальция и хлора уменьшилась ($p < 0,05$), в процессе реадаптации ионы натрия остаются увеличенным, концентрация ионов калия и хлора остается меньше ($p < 0,05$), а концентрация ионов кальция не отличается.

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЛЮДЕЙ С РАЗЛИЧНЫМ СРОКОМ ПРОЖИВАНИЯ НА ВЫСОТЕ

Н.Я. Шукурова, Ф.Ф. Курбанов

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Установлено, что при адекватной адаптации к высокогорью гипоксический фактор может быть использован для лечения целого ряда заболеваний, что подтверждено рядом работ. Исследования в области высокогорья показывают, что комплекс факторов высокогорья повышают неспецифическую устойчивость организма, стимулируя противовоспалительные и противоаллергические реакции.

Нами проведено исследование 137 людей с различным сроком проживания в условиях высокогорья (высота 3600 м над ур.м). По срокам проживания на высоте исследуемые были разделены на 4 группы: со сроком проживания 3-4 мес., 6-8 мес., 10-12 мес. и 18 мес. и более. Всем обследованным определяли систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД), пульсовое давление (ПД), ЧСС. По формуле Стара определяли систолический объем крови (СОК) и минутный объем крови (МОК), систолический и сердечный индексы.

Установлены оптимальные значения показателей: для САД 110 мм рт.ст. и менее, ДАД 60 мм рт.ст. и менее, ПД 40 мм рт.ст. и менее, СОК 81 мл и более, систолического индекса 51 мл/м и более, МОК – 7,1 л и более и сердечного индекса 4,1 л/м и более. Сравнительный анализ всех показателей в зависимости от срока проживания на высоте показывает, что со сроком проживания на высоте 12 мес. и более адаптированными следует считать людей со значением СОК 81 мл и более, систолического артериального давления (САД) 110 мм рт.ст. и менее, диастолического артериального давления (ДАД) 60 мм рт.ст. и меньше, пульсового давления (ПД) 40 мм рт.ст. и меньше, систолического индекса 51 мл/м и больше, МОК 7,1 л и больше, сердечного индекса (СИ) 4,1 и больше. Явления дизадаптации отмечается у людей со сроком проживания 12 мес. и более со значением СОК 70 мл и меньше, САД 121 мм рт.ст. и больше, ДАД 71 мм рт.ст. и больше, ПД 61 мм рт.ст. и больше, систолический индекс 40 мл/м и меньше, МОК 5,0 л и меньше, СИ 3,0 л/м и меньше. Стабильная фаза адаптации отмечается у лиц со значением ЧСС до 70 уд/мин после пребывания их на высоте 10-12 мес. и более. Сохранение ЧСС 91 уд/мин и более после

проживания на высоте 4-6 мес. и более свидетельствует о явлениях дизадаптации – дальнейшее их пребывание на высоте может привести к срыву адаптации и возникновению болезней адаптации.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ И МЕХАНИЗМОВ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА У КРЫС

Л.Ю. Карпенко, А.И. Енукашвили, Ф.И. Алистратова

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

Исследовано влияние интервальной гипобарической гипоксии изучение микрогемодинамики, реологических свойств крови у крыс в норме и при влиянии экспериментальной гипо- и нормобарической гипоксии. Крыс-самцов стока Wistar массой 210-235 гр. содержали в стандартных условиях вивария. Было сформировано 3 группы, n=10: группа №1 – крысы в течение 21 дня крысы подвергались воздействию гипоксии, 1 час; группа №2 – подвергались курсу «ложной» гипоксии, группа №3 – группа интактных животных. Эффективность действия интервальных гипоксических тренировок оценивали на основе изменения формы клетки, клинического анализа крови, изучения реактивности сосудов микрогемодинамики, состоянии сосудистого тонуса и механизмы его регуляции. Анализ воздействия интервальных гипобарических тренировок на микроциркуляцию кожного покрова методом лазерного доплерфлоуметрического зондирования в условиях наркотизации животного (изофлюран). Регистрацию параметров осуществляли на 0-ые сутки, 1-ые, 7-ые, 14-ые и 21-ые сутки.

Курс интервальной гипобарической тренировки приводит к компенсаторному увеличению числа эритроцитов от $6,75 \pm 0,12$ до $9,63 \pm 1,0 \times 10^{12}/л$, морфологические изменения поверхности мембранного рельефа эритроцитов не обнаружены. Проведение курса интервальных гипобарических тренировок способствует снижению микроциркуляции кожи на 7-е и 14-е сутки, что обусловлено компенсаторным оттоком крови к центральной системе кровообращения, впоследствии наблюдалось частичное восстановление уровня микроциркуляции на 21-й день, что свидетельствует о развитии адаптивной реакции после курса интервальной гипоксической тренировки.

Содержание эритроцитов и гемоглобина в периферической крови крыс после моделирования пониженного давления достоверно увеличивается в 1,43 и 1,45 раз соответственно по отношению к интактным крысам; рельеф поверхности эритроцитов не изменяется. В ответ на действие гипоксии в коже конечности крысы отмечено угнетение показателя микроциркуляции на 54% ($p \leq 0,05$) на 7–14 сутки. Показано увеличение пределов регуляции периферического кровотока по кардиальному пути (пульсовая волна) на 34%, ($p \leq 0,05$).

СПОСОБЫ УСТРАНЕНИЯ ПРИЗНАКОВ СОСТОЯНИЯ ТРОМБОТИЧЕСКОЙ ГОТОВНОСТИ ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.А. Блажко, И.И. Шахматов, Ю.А. Бондарчук, О.В. Алексева, В.М. Вдовин, Н.А. Лычева, С.В. Москаленко

Алтайский государственный медицинский университет МЗ РФ, Барнаул

Физические тренировки высокой продолжительности и интенсивности могут приводить к неблагоприятным последствиям со стороны сердечно-сосудистой системы и системы гемостаза, таким как: внезапная сердечная смерть и развитие ДВС-синдрома. Для того чтобы минимизировать при сверхпороговой физической нагрузке риск развития состояния тромботической готовности и его последствий необходимо вести поиск путей повышения устойчивости организма и, в частности, системы гемостаза, а также микроциркуляторного русла, к действию стрессора. При исследовании показателей системы гемостаза и микроциркуляторного русла у самцов крыс линии Вистар нами было показано, что предшествующая ежедневная 2-часовая физическая тренировка в течение 7 дней препятствовала развитию состояния тромботической готовности у крыс после 8-часового навязанного бега в тредбане. Такой профилактический эффект достигался за счет снижения активности сосудисто-тромбоцитарного и плазменного звеньев системы гемостаза, а также за счет повышения антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови. Похожая картина повышения адаптированности системы гемостаза и микроциркуляторного русла достигалась при помощи предварительного приема адаптогенов растительного и животного происхождения. Так, нами было показано, что 30-дневный прием элеутерококка повышает уровень адаптированности системы гемостаза крыс за счет повышения антикоагулянтной активности плазмы крови и препятствует развитию признаков тромбообразования при сверхпороговой физической нагрузке. Также нами было показано, что курсовой приём концентрата, содержащего кровь самцов марала, на протяжении 30 дней сопровождается повышением адаптационных резервов системы гемостаза за счёт роста антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови. Предварительный прием продуктов пантового оленеводства существенно снижает риск развития состояния тромботической готовности после сверхпороговой 8-часовой физической нагрузки. Таким образом, повышение стрессоустойчивости системы гемостаза и микроциркуляторного русла можно достигать как постоянными физическими тренировками, так и предварительным приемом адаптогенов, таких как: элеутерококк и продукты пантового оленеводства.

АДАПТАЦИОННАЯ ПЕРЕСТРОЙКА РИТМОВ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Ю.В. Гурман, Н.С. Тропская, Т.С. Попова

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Цель исследования: выявить особенности генерации мигрирующего миоэлектрического комплекса в тонкой кишке при пищевой депривации. Исследования выполнены на 8 крысах самцах линии Wistar, которым в ходе предварительной операционной подготовки были вживлены три монополярных электрода и зонд в начальный участок тощей кишки. Эксперименты выполняли после восстановления животных. В первый день эксперимента после 18-ти часовой пищевой депривации осуществ-

ляли регистрацию электрической активности трех участков тонкой кишки в течении 60 мин (фон). В последующие дни животные имели свободный доступ к воде при отсутствии доступа к корму. Каждый день осуществляли взвешивание крыс и выполняли регистрацию электрической активности тонкой кишки в течении 60 мин. Эксперимент завершился после потери 10% массы тела животных. Для статистического анализа электромиограмм (ЭМГ) использовали непараметрические критерии. Данные представляли в виде медианы и перцентилей – Me (25;75)%.

У всех животных в фоновых ЭМГ наблюдался мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК) – основной маркер электрической активности тонкой кишки в межпищеварительный период в норме. Период ММК составлял 699 (680;771) сек, количество ММК в час – 5(4;5). Фаза I (покоя) составляла 205 (185;229) сек, фаза II (нерегулярной, непропульсивной) активности – 314 (276;319) сек, фаза III (регулярной, пропульсивной активности) – 203 (191;219) сек. Потеря 10 % массы тела животных наблюдалась на 4 (4;4) сутки после пищевой депривации. В эти сроки по данным ЭМГ сохранялась последовательность фаз ММК и распространение фазы III в проксимо-дистальном направлении. Однако происходило постепенное уменьшение частоты генерации ММК с 5 (4;5) в час до 3 (3;3) ($p<0,05$). Структура ритма изменялась. Продолжительность фазы I сохранялась, фазы II – имела тенденцию к увеличению, а фазы III – статистически значимо уменьшалась до 176 (146;179) сек ($p<0,05$).

Ранняя адаптация к пищевой депривации, сопровождающаяся 10% потерей массы тела, проявляется в уменьшении частоты генерации ММК тонкой кишки со снижением времени пропульсивной перистальтики.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ КОНТРАСТНЫХ ЗАКАЛИВАЮЩИХ ПРОЦЕДУР НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЮНОШЕЙ 14-16 ЛЕТ

С.С. Кольванова^{1,2}, С.В. Соловьева³, Т.А. Фишер^{1,2}

¹Тюменский научный центр СО РАН; ²АНО ДПО НОЦ «Регион здоровья»; ³Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень

Пубертатный период (у девочек с 12–13 лет, у мальчиков с 14–15 лет) связан с критическим этапом формирования и становления иммунной системы и нейроэндокринной перестройкой организма. При внедрении в образовательный процесс старших подростков закаливающих мероприятий важно контролировать их гормональный и иммунологический статус. Цель: оценить по клинико-иммунологическим параметрам комплексную методику контрастного закаливания подростков 14–16 лет.

Исследование проведено в МАОУ «Богандинская СОШ №1». Участвовало 18 юношей (14-16 лет): 1 группа (n=9) соблюдала обычный режим ОУ; 2 группа (n=9) проводили комплексные контрастные мероприятия 3 раза в неделю в утреннее время в течение года. Критерии отбора: 1 и 2 группа здоровья; отсутствие ОРВИ и ОРЗ в течение 2 месяцев; результаты УЗИ сердца и ЭКГ; письменное разрешение родителей на проведение закаливающих процедур, научного исследования и обработку персональных данных. Допуск к занятиям: оценка самочувствия (отличное, хорошее); замер АД (диапазон АД сист 110-136 мм рт. ст., АД диас – 70-86 мм рт. ст.); 3. ЧСС (диапазон 55 – 85 уд/мин.). Этапы мероприятий: 1 – пробежка на свежем воздухе в удобной по сезону одежде (7-10 мин., $t \geq -24$ °C); 2 – дыхательная гимнастика по методике А.Н. Стрельниковой (3-4 мин.); 3 – босохождение по мокрым и массажным дорожкам (4-5 мин.), упражнения на «координационной лестнице» (4-5 мин.); 4 – выход на улицу и обливание тела холодной водой (6-8 °C) в оборудованном месте из 10-литровых пластмассовых ведер; 5 – разминка на воздухе (1-2 мин.); 6 – прогревание в сауне +60-65 °C (10-15 мин.); 7 – повторное обливание. Оценка клинико-гематологических параметров периферической крови – гематологический анализатор Minbraу; на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904+ – IgG, IgM, IgA; методом ИФА – уровни ИЛ-4, ИНФ- γ , ФНО- α , IgE, пролактина, кортизола, ТТГ, тестостерона. Статистическая обработка – «IBM SPSS Statistics 21».

Установлены сходства в обеих группах: показатели ОАК в диапазоне нормальных значений, тесты на наличие гриппа типов А, В отрицательные, уровни гормонов тестостерона, ТТГ и кортизола соответствовали норме и статистически не отличались между собой. Выявлено по 2 случая повышенного IgE относительно нормы (2,3-130,0 МЕ/мл) в обеих группах. Отличительные особенности: количество эозинофилов у детей 1 группы $0,39 \pm 0,05$ располагалось у верхней границы нормы ($0,00-0,45 \times 10^9$ /л) и значимо превышало ($p=0,049$) данный показатель во 2 группе $0,19 \pm 0,05$. Уровень пролактина у юношей 1 группы составил $17,25 \pm 1,36$, что значимо выше ($p=0,030$) его уровня во 2 группе $10,97 \pm 0,93$ и верхней границы нормы (4,04-15,20 нг/мл). Предполагаем, что применение комплекса закаливающих процедур способствует снижению напряжения иммунной системы и снижает риск возникновения аллергической реакции.

Работа выполнена по госзаданию согласно Плану НИР ТюмНЦ СО РАН на 2021-2025 гг. (Программа IX.133.1. Проект: 0296-2021-0004).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ ВО ВРЕМЯ И ПОСЛЕ ПЕРИОДА ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ ПРИ ПАНДЕМИИ COVID-19

А.С. Лакомкина, А.Э. Щербакова, М.А. Попова, В.В. Чистова, Э.Р. Рамеева

Сургутский государственный педагогический университет, Сургут

Цель: оценить и проанализировать психофизиологические показатели, особенности гемодинамики и функционального состояния вегетативной нервной системы по параметрам сердечной деятельности у студентов до и после периода дистанционного обучения при пандемии COVID-19. Обследование студентов Сургутского педагогического университета проводилось в два этапа: 1 – апрель-май 2020 г. дистанционно (102 чел.), 2 – февраль-март 2021 г. на базе лаборатории (81 чел.). На первом этапе изучены физиологические реакции на стресс (ФРС), текущие психические состояния (тревожность, фрустрированность, агрессивность и ригидность), нервно-психическая устойчивость (НПУ), личностный адаптационный потенциал (ЛАП), индивидуально-типологические особенности и качество жизни. На втором этапе дополнительно оценивали функциональное состояние (ФС) вегетативной нервной системы (ВНС) по результатам записи 11 минутной электрокардиограммы с использованием активной ортостатической пробы (АОП). Анализировали текущее функциональное состояние (ТФС), адаптационные резервы

(АР) и уровень функционирования физиологической системы (УФФС). Регистрировали периферическое артериальное давление (АД): систолическое (САД) и диастолическое (ДАД); центральное систолическое АД (цСАД); пульс. Достоверно более высокие значения медиан САД ($p=,0000$), ДАД ($p=,0540$) и цСАД ($p=,0000$) были в группе юношей. Высокое нормальное артериальное давление (ВНАД) зарегистрировано у 27,3% юношей и 8,1% девушек; артериальная гипертензия – у 13,6% юношей и 2,7% девушек. Повышение цСАД в аорте выявлено во всех случаях при ВНАД и АГ, как у юношей, так и девушек. Результаты временного и спектрального анализа ВРС указывали на смещение вегетативного баланса в сторону симпатикотонии при выполнении АОП в обеих группах. Статистически значимые отличия установлены только во время фоновой записи по показателям LF, n.u. ($p=,0028$), HF, n.u. ($p=,0028$) и LF/HF ($p=,0028$). ФС ВНС по данным ВРС у юношей хуже, чем у девушек: значительно снижено ТФС у 4,55%, резко снижены АР у 9,09%, снижен УФФС у 9,09%. Студенты с различным уровнем ЛАП по-разному реагируют на стрессовую ситуацию. При удовлетворительном и низком ЛАП необходимо формировать НПС, коммуникативные качества, развивать целенаправленную активность и мотивацию, адекватную самооценку.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПРИ ОТБОРЕ СПЕЦИАЛИСТОВ ДЛЯ РАБОТЫ В АРКТИКЕ

И.В. Мыльченко, М.А. Попова, А.Э. Щербакова, В.В. Чистова

Сургутский государственный педагогический университет, Сургут

Для отбора специалистов в условиях Арктики могут быть использованы прогностические модели профессиональной пригодности в сложно-технических видах спорта. Цель. оценить возможности использования способов оценки функционального состояния (ФС) организма и прогнозирования эффективности подготовки спортсменов экстремального профиля в северном регионе при отборе специалистов для работы в Арктике. Проспективное исследование ФС парашютистов высокой квалификации сборной РФ из ХМАО (приарктическая зона) перед и непосредственно после Чемпионата мира-2018 (ЧМ) (09.10.2018), после восстановительного периода (ВП) (11.2018), перед и после Чемпионата Европы (ЧЕ) и Кубка мира (КМ)-2019 (06.2019 и 08.2019), в период подготовки к ЧМ-2021 (04.2021). Обследовано 13 парашютистов-мужчин высокой квалификации (30,1±1,3лет), из них 5 – чемпионы мира 2018 и КМ-2019. Группа сравнения – 36 парашютистов (27,9±4,6 лет), тренирующиеся в ХМАО. ФС оценивали кардиоритмографией с ортопробой и простой зрительно-моторной реакцией с определением адаптационных резервов (АР) и работоспособности (РС). Определяли стрессоустойчивость, рассчитывали запатентованный нами интегральный показатель профессиональной пригодности работы в экстремальных условиях (ИППП 20,7 у.е. и выше).

В группе парашютистов высокой квалификации АР и РС были выше, чем в группе сравнения, однако после ЧМ-2018 АР были удовлетворительными в 57%, сниженными у 43%; РС была нормальной в 14%, ниже нормы в 86%. После ВП АР были удовлетворительными в 50%, сниженными в 50%; РС была нормальной в 50%, ниже нормы в 50%. После ЧЕ и КМ-2019 АР организма были удовлетворительными в 54%, сниженными в 46%; через месяц восстановления АР были удовлетворительными в 60%, сниженными в 20%, значительно сниженными в 20%. РС после ЧЕ и Кубка мира-2019 была нормальной в 8%, незначительно снижена в 7%, значительно снижена в 85%, после ВП в 100% отмечена нижняя граница нормы РС. Во время подготовки к ЧМ-2021, АР были удовлетворительными в 80%, сниженными в 20%; РС нормальная в 50%, незначительно снижена в 50%. ИППП был выше 20,7 у.е. у всех парашютистов высокой квалификации и 72,2% спортсменов группы сравнения, и может быть рекомендован при отборе специалистов для работы, связанной с воздушным десантированием в арктические районы.

РЕАКЦИИ СИСТЕМ ТРАНСПОРТА ГЛЮКОЗЫ И ФРУКТОЗЫ В КИШЕЧНИКЕ НА ОСТРЫЙ СТРЕСС У КРЫС Е.В. Савочкина¹, А.А. Груздков¹, А.С. Алексеева¹, Ю.В. Дмитриева¹, И.И. Каримова², Л.В. Громова¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, ²Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

Стресс существенно влияет на процессы пищеварения и всасывания углеводов. До сих пор остаются неясными вопросы о характере реакции на острый умеренный стресс со стороны мембранных пищеварительных ферментов и всасывания моносахаридов. Цель: исследовать активность ряда ключевых мембранных пищеварительных ферментов, всасывание глюкозы и фруктозы, а также структурные показатели тонкой кишки, при остром стрессе, вызванном иммобилизацией животных на холоде. Материал и методы. Эксперименты проводились на 28 взрослых крысах Вистар (самцы, масса тела 175–235 г). Животные из опытных групп после предварительного голодания в течение 18 – 20 ч подвергались 3ч иммобилизации в специальных индивидуальных клетках при температуре 5–6°C. Контрольные крысы на это время лишались корма и воды. После окончания стрессорного воздействия определяли скорость всасывания моносахаридов (глюкоза, фруктоза) в тонкой кишке крыс по скорости свободного потребления ими растворов глюкозы (20%) или фруктозы (10%) (Груздков А.А. и др, 2015). После выведения животных из эксперимента у них брали пробы ткани из различных отделов кишечника для биохимического определения активности пищеварительных ферментов и исследования структуры кишки. Всасывание глюкозы в тонкой кишке повышалось при стрессе на 18,8% ($p<0,01$) по сравнению с контролем (в отсутствие стресса), а всасывание фруктозы не изменялось. При гистологическом исследовании кишечника у крыс со стрессом чаще выявлялись различные нарушения в структуре ворсинок и энтероцитов. У крыс, потреблявших раствор фруктозы, наблюдалась тенденция к повышению активности щелочной фосфатазы в дистальном отделе тощей кишки и аминопептидазы N в двенадцатиперстной, а также снижение активности глюкоамилазы в подвздошной кишке. Выводы. Острый стресс, вызванный иммобилизацией животных на холоде, стимулирует всасывание глюкозы в тонкой кишке и не влияет на всасывание фруктозы. В случае потребления животными после стресса раствора фруктозы изменялись активности ряда ключевых мембранных ферментов, что может свидетельствовать о наличии в этих условиях воспалительного процесса в кишечнике. *Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 64).*

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПИЩЕВОЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ МНОГОЦЕЛЕВОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Ю.С. Сидорова, В.К. Мазо

ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва

Сбалансированное по составу макро и микронутриентов, а также минорных биологически активных веществ и адекватное физиологическим потребностям питание повышает устойчивость к стрессорным воздействиям различного генеза и профилактически влияет на развитие алиментарно-зависимых заболеваний, являясь важнейшим фактором, определяющим состояние здоровья человека. Разрабатываемая специализированная пищевая продукция должна в полной мере отвечать требованиям высокой пищевой и биологической ценности, безопасности и эффективности, характеризуемым с позиций доказательной медицины. Соответственно актуальны новые научные разработки алгоритма позволяющего давать комплексную физиолого-биохимическую оценку вышеназванных показателей путем проведения доклинического этапа исследований ингредиентов создаваемых пищевых продуктов. Необходимым условием, определяющим получение достоверных результатов для корректной экспериментальной оценки различных биологически активных веществ в составе разрабатываемых ингредиентов, является выбор соответствующей биомодели. Верификация выбранных моделей позволяет оценить сравнительную применимость каждой из них для тестирования ответной реакции организма лабораторного животного на алиментарное воздействие. Целью данного исследования явилась разработка дизайна первого этапа экспериментального комплексного подхода, включающего верификацию *in vivo* нескольких моделей, и последующего выбора для последовательного сочетания их при оценке эффективности создаваемых пищевых ингредиентов многоцелевого назначения. С использованием лабораторных грызунов предлагается: моделирование истощающей физической нагрузки, иммобилизации с последующей оценкой физической выносливости, иммобилизации с последующим стрессорным воздействием электрокожным раздражением; гиперлипидемии на фоне умеренной физической нагрузки бегом с оценкой артериального давления и состояния микробиоты кишечника. Реализация предлагаемого подхода позволит получать в рамках доклинических исследования новые данные о влиянии пищевых ингредиентов многоцелевого назначения, на такие показатели как артериальное давление, адаптационный потенциал, липидный профиль и кишечную микробиоту лабораторных животных.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-76-10049.

ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ИЗЛУЧЕНИЕ НАРУШАЕТ БАРЬЕРНЫЕ И ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА ЭПИТЕЛИЯ ТОЩЕЙ И ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС

А.А. Ливанова^{1,2}, А.А. Федорова¹, И.Р. Фатыхов¹, А.В. Завирский², И.И. Кривой¹, А.Г. Марков¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет; ²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Слизистая оболочка кишки представляет собой тканевой барьер, который обеспечивает защиту от бактериальной транслокации, а также поддерживает водный и электролитный баланс. Известно, что ионизирующее излучение оказывает значительное повреждающее воздействие на желудочно-кишечный тракт. В данной работе оценены барьерные и транспортные свойства эпителия тонкой и толстой кишки крыс при воздействии рентгеновского излучения в дозах 2 и 10 Гр. Самцов крыс Вистар (N=20) подвергали однократному тотальному облучению всего тела (2 или 10 Гр) на рентгеновском аппарате РУМ-17. В качестве контроля были использованы ложно облученные животные. Через 72 часа иссекали фрагменты тощей и толстой кишки для дальнейшей оценки трансэпителиального сопротивления (ТЭС), тока «короткого замыкания» и межклеточной проницаемости для флуоресцеина натрия в камере Уссинга. Достоверное снижение ТЭС в тощей и толстой кишке по сравнению с контролем было выявлено только в группе животных, облученных в дозе 10 Гр. При этом уменьшение сопротивления в этой группе относительно контроля в тощей кишке (16 ± 2 и $67 \pm 8 \text{ Ом} \times \text{см}^2$, $p < 0.001$, соответственно) было выражено сильнее по сравнению с толстой кишкой (47 ± 3 и $60 \pm 4 \text{ Ом} \times \text{см}^2$, $p < 0.0001$, соответственно). Снижение ТЭС после облучения в дозе 10 Гр сопровождалось повышением тока «короткого замыкания» по сравнению с контрольными значениями и в тощей (39 ± 8 и $9 \pm 2 \text{ мкА}$, $p < 0.01$, соответственно), и в толстой кишке (36 ± 5 и $14 \pm 3 \text{ мкА}$, $p < 0.01$, соответственно). Кроме того, межклеточная проницаемость тощей кишки при облучении в дозе 10 Гр была повышена по сравнению с контролем (4.4 ± 0.5 и $3.0 \pm 0.2 \text{ см}^2 \times 10^4$, $p < 0.01$, соответственно), в то время как в толстой кишке этот параметр не изменялся. Значения электрофизиологических характеристик и проницаемости при облучении в дозе 2 Гр не отличались от контрольных. Изменения электрофизиологических параметров (снижение ТЭС и повышение тока «короткого замыкания»), а также повышение межклеточной проницаемости позволяют заключить, что воздействие радиации в дозе 10 Гр вызывает значительные нарушения барьерных и транспортных свойств эпителия кишечника. При этом признаки лучевого дистресс-синдрома в толстой кишке менее выражены, что свидетельствует о ее повышенной радиорезистентности. *Работа поддержана грантом РФФИ №18-15-00043.*

МЕТАБОЛИЗМ, ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЕ, ТЕРМОРЕГУЛЯЦИЯ

НАРУШЕНИЕ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА КАК ОБЩАЯ ПРИЧИНА БОЛЬШИНСТВА ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Ю.С. Медникова

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

В нервных клетках асимметрия ионного состава по обе стороны мембраны является необходимым условием поддержания жизнеспособности [Наточин, 2007], а также лежит в основе формируемого возбуждения [Hodgkin, Huxley, 1952]. Возникновение локального и импульсного возбуждения связано с кратковременным потоком Na^+ и K^+ ионов по градиентам концентраций в неравновесной ионной системе нейронов. Помимо этого, рост импульсной активности (кроме специфического возбуждения) происходит с помощью блокирования K^+ каналов на мембране [McCormick, Prince, 1986] – энергозатратного и термозависимого процесса, осуществляемого диффузным выбросом ацетилхолина. Этот процесс при $t=36^\circ\text{C}$ приобретает очень высокую скорость. Поэтому снижение температуры мозга у теплокровных приводит к раскрытию K^+ каналов и постоянному истoku K^+ ионов из нейронов по направлению ионного градиента. Тот же эффект возникает в гипоксических условиях (в том числе при действии наркоза, наркотиков и ядов). Длительное истечение K^+ ионов из нейронов, за счет увеличения K^+ концентрации с внешней стороны мембраны приводит к деполяризации. Следовательно, потенциал-зависимые K^+ каналы продолжают раскрываться уже независимо от причины, которая вызывала их первоначальное стабильное раскрытие (гипотермия, гипоксия, распространяющаяся депрессия), что и приводит к разрыванию стойкого патологического процесса, признаками которого являются прогрессивное падение амплитуды спайков и рост частоты импульсации. Это доказывает, что устойчивое сохранение ионного гомеостаза является необходимым условием поддержания жизни и функциональных возможностей нервной системы.

ЛИРАГЛУТИД, СИНТЕТИЧЕСКИЙ АГОНИСТ РЕЦЕПТОРА ГЛЮКАГОН-ПОДОБНОГО ПЕПТИДА 1 ТИПА, СТИМУЛИРУЕТ РАЗВИТИЕ БЕЖЕВОГО ФЕНОТИПА У БЕЛЫХ АДИПОЦИТОВ 3T3-L1

**Е.Д. Мамонтова^{1,2}, С.С. Мичурин², Н.В. Подкуйченко², Е.Л. Соркина³, Ю.С. Стафеев², М.Ю. Меньшиков²,
М.В. Шестакова³, Е.В. Парфенова²**

¹МГУ им. М.В. Ломоносова; ²НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ³НМИЦ эндокринологии МЗ РФ, Москва

Ожирение – одна из самых распространенных патологий среди населения, которая связана с разрастанием белой жировой ткани. Ее основная функция – запасание липидов. Другим типом жировой ткани является бежевая, которая может образовываться в результате трансдифференцировки белой. Одна из основных функций бежевой жировой ткани – диссипация энергии в тепло. Одним из возможных индукторов трансдифференцировки является синтетический агонист рецептора глюкагон-подобного пептида 1 типа лираглутид, препарат, который вводится пациентам с морбидным ожирением в виде подкожных инъекций. Таким образом, целью данной работы стало изучить локальный эффект лираглутида на белую и бежевую дифференцировки. Для этого мы дифференцировали преадипоциты 3T3-L1 в белые и бежевые адипоциты согласно стандартным протоколам, к группе клеток в качестве индуктора добавляли лираглутид. Затем для качественной и количественной оценки адипогенеза проводили окрашивание липофильным красителем OilRed. Экспрессию белков-маркеров адипогенеза оценивали методом Вестерн блоттинг. В данной работе мы продемонстрировали, что лираглутид повышает количество белых адипоцитов, а также способствует образованию у них нескольких липидных капель, что является признаком бежевых адипоцитов. Лираглутид не влиял на экспрессию белка маркера адипогенеза PPAR γ ни в белых, ни в бежевых адипоцитах. Мы показали, что лираглутид усиливает экспрессию белка UCP-1 в белых адипоцитах. Это может свидетельствовать в пользу того, что лираглутид стимулирует формирование бежевого фенотипа у белых адипоцитов. Мы не наблюдали данные эффекты лираглутида на бежевых адипоцитах. *Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант 20-45-08003).*

СИСТЕМА МЕРИДИАНОВ КАК ИНФОРМАЦИОННО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА РЕГУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМА

И.Д. Кароматов, Ли Санг Унг

Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан; Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибн Сино, Душанбе, Таджикистан

Человек, как сложнейший объект Земли и природы унаследовал от своих предшественников все способы обработки и регистрации информации. Как мы уже отмечали, живое отличается от неживого стремлением к порядку, то есть к отрицательной энтропии, в то время как неживые объекты стремятся к беспорядку – увеличению энтропии. Живой объект, в том числе и человека, можно представить в виде сложнейшего компьютера, который самостоятельно воспринимает информацию непосредственно, посредством других объектов живой и неживой природы, обрабатывает и возвращает ее во внешнюю среду абсолютно другой.

Меридианный уровень появляется с появлением первого многоклеточного организма. Он состоит из систем биологических активных точек (БАТ), биологически активных зон (БАЗ), и связывающий их системы меридианов. Впервые о них начали говорить и использовать в практических целях древние китайцы. В дальнейшем такие системы были открыты у всех млекопитающих, земноводных и других животных. В 1969 году Ю. Гейкиным аналогичные системы были открыты и у растений. В настоящее время эта система считается более древней системой регуляции организма информационно-энергетической, наряду с нервной и гуморальной.

Характеристикой этой системы является ее универсальность. Рецепторы этого уровня – БАТ воспринимают информацию, поступающую с любыми объектами внешней среды: химическими, механическими, электрическими, электромагнитными, магнитными, тепловыми и др. Информацию, поступающую посредством этих объектов, БАТ модулируют в электрические

колебания, которые передаются уже во внутренние клетки и органы. Кроме того, воздействия сами передаются дальше. Известно о проводимости системы меридианов для света, звуковых колебаний и информации о структуре химических веществ.

СИНТЕЗ КИТАЙСКОЙ И ГРЕЧЕСКО-ПЕРСИДСКОЙ МЕДИЦИНЫ: ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ТРАВЫ И МЕРИДИАНЫ

И.Д. Кароматов, Ли Санг Унг

Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан; Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибн Сино, Душанбе, Таджикистан

Китайская и греческо-персидская медицина развивалась обособленно и самостоятельно. Греческо-персидская медицина считается гуморальной. Она основывалась на учении о темпераменте и «жидкостях».

Основа китайской медицины — это учение о двух начала – Инь и Ян. Другое основополагающее понятие, учение о 5 первоэлементах – У-син. Если, в персидской медицине, во главу поставлено учение о жидкостях организма, то в китайской медицине это учение об энергетическом строении человека. Энергетическое строение представлено в виде энергетических каналов, которые названы европейской медициной меридианами. Различают 12 парных меридианов. Синтез этих двух систем восточной медицины на основе взаимодополнения открывает многие возможности для лечения заболеваний. Мы постарались сделать этот синтез, дополнив учение о меридианах лекарственными веществами натурального происхождения для каждого меридиана. Проведенный нами сравнительный анализ лекарственных сборов, составленных древними врачами на основе греческо-персидской медицины, показал схожесть со сборами, составленными на основе китайской медицины.

Итак, на основе своих наблюдений и практики мы составили перечень трав, на основе учения Инь- Ян и системой меридианов. Янь травы каждого меридиана приводят к повышению энергии в соответствующих меридианах, оказывают лечебное воздействие при Инь заболеваниях этих меридианов. Инь травы действуют, наоборот, понижают количество энергии в соответствующих меридианах и оказывают лечебное воздействие при Ян заболеваниях меридианов. Наши наблюдения показали, что применение иглотерапии, в сочетании с фитотерапией, в соответствии с учением о меридианах повышает эффективность метода.

КОСМИЧЕСКАЯ И ГИПЕРБАРИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

ЧЕТЫРЕХМЕСЯЧНЫЙ КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЕТ И ЕГО НАЗЕМНАЯ МОДЕЛЬ: КАК ОТЛИЧАЮТСЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ УЧАСТНИКОВ

А.А. Маркин, О.А. Журавлева, Д.С. Кузичкин, Л.В. Вострикова, И.В. Заболотская, В.И. Логинов, Т.В. Журавлева

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Длительное действие на организм комплекса факторов космического полета (КП) сопровождается развитием изменений обмена веществ (ОВ), характеризующихся сниженной интенсивностью метаболических реакций (МР) из-за снятия гравитационных нагрузок на скелетную мускулатуру (СМ). Возврат к земным условиям обуславливает формирование аллостатических реакций, направленных на компенсацию неблагоприятных эффектов КП. Модель с изоляцией в гермообъеме (ИЗ) воспроизводит действие на организм человека практически всех его факторов за исключением невесомости. Представляет интерес исследование МР космонавтов (КМ) и испытателей (ИС) по завершении острой фазы реадаптации (ОФР) после реального и моделированного КП. На 7 сутки после КП длительностью 125 и 115 суток и в этот же срок после 120-суточной изоляции обследовали группы из трех КМ и трех ИС. В крови определяли значения 43 биохимических параметров, отражающих состояние внутренних органов, тканей и основных звеньев ОВ. Во всех КП и в ИЗ, КМ и ИС выполняли комплекс профилактических мероприятий с физическими нагрузками (ФН), сходными по продолжительности и интенсивности. У КМ наблюдалось повышение уровня неорганического фосфора и снижение содержания хлоридов относительно фона. Это объясняется перераспределением жидких сред организма (ЖСО) и электролитов при возобновлении действия гравитации. У ИС отмечалось двукратное повышение активности креатинкиназы и ее мышечного изофермента. Наблюдалась тенденция к двукратному снижению уровня железа. Достоверно повышалось содержание мочевины, кальция и альбумина. Эти изменения свидетельствуют об активации СМ без признаков нормализации на 7 сутки периода восстановления, вероятно, в связи с сочетанным действием гравитационной и профилактической нагрузок, что отсутствовало у КМ. Таким образом, при одинаковой продолжительности реального и моделируемого воздействий, сходной длительности и интенсивности профилактических мероприятий, МР КМ по завершении ОФР характеризуются последствиями обратного перераспределения ЖСО и электролитов, в то время как у ИС наблюдаются признаки активации СМ с изменениями параметров белкового, азотистого и электролитного обмена, задействованных в мышечной деятельности.

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ СМЕШАННОГО ЭКИПАЖА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ СО 120-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИЕЙ ПО ПРОГРАММЕ «SIRIUS-19»

И.А. Ничипорук, С.А. Чистогодова

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Результаты экспериментов с длительной и кратковременной изоляцией свидетельствуют о наличии изменений состава тела, психофизиологического, нейрогормонального и биохимического статуса человека, но их взаимосвязи и механизмы стратегии адаптации к непривычной среде обитания недостаточно изучены. Целью настоящих исследований являлось получение

новых научных данных о влиянии типологических особенностей исходного психонейроэндокринного статуса, нейрогормональной регуляции обмена веществ, их динамики и взаимосвязи на выбор стратегии адаптации организма человека к условиям 4-х месячной изоляции по программе «SIRIUS-19». Международный экипаж этих исследований, моделирующих условия космического полета, состоял из 3-х мужчин в возрасте от 31 до 44 лет и 3-х женщин в возрасте от 28 до 33 лет. Протокол эксперимента был утвержден комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН. До начала, на 37-е, 63-и, 120-е сутки и на 7-е сутки после изоляции проводилось многостороннее обследование участников. Полученные результаты комплексной оценки динамики антропометрических, гемодинамических и физиологических показателей, компонентного состава тела, сбалансированности питания, энергообмена и психонейроэндокринного статуса обследуемых свидетельствуют о важности сохранения энергетического баланса в организме. Выявлены достоверные различия психофизиологического статуса, попинг-стратегий и состава тела мужчин и женщин. Выдвинута гипотеза о влиянии активации эгоцентрических мотивов поведения на сохранность компонентов состава тела. Отмечены значительные потери жировой массы тела (негативный баланс липидов у 5 из 6 обследуемых) при недостаточности питания, высоких энерготратах при физических нагрузках или их сочетании. Показано, что отрицательный липидный обмен в течение продолжительного времени может вызвать не только функциональные, но и стойкие системные и внутриорганные изменения в организме вплоть до развития состояний, угрожающих жизни, что может иметь прикладное значение не только для космической медицины, но и при вынужденной изоляции в условиях пандемии.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ НА СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ КОСМОНАВТОВ

О.А. Журавлева, Е.А. Маркина, Л.В. Вострикова, И.В. Заболотская, А.А. Маркин

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

В ретроспективных когортных исследованиях установлено, что сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности российских космонавтов (Ushakov I.B., Bryleva M.S., Voronkov Y.I. et. al., 2017). Цель данной работы – оценить влияние факторов длительных орбитальных полетов на состояние сердечно-сосудистой системы космонавтов. В исследовании участвовали 29 российских космонавтов в возрасте от 37 до 53 лет, совершивших в период с 2006 по 2021 год экспедиции на Международную космическую станцию продолжительностью от 125 до 203 суток. Взятие у членов экипажей венозной крови проводилось за 30-45 суток до начала каждого полета, а также на 1-е и 7-е сутки восстановительного периода. В сыворотке крови космонавтов в указанные выше сроки определяли активность ферментов сердечной констелляции, концентрации кардиальных предикторов и показателей липидного обмена. На 1-е сутки после приземления в крови участников полетов активность АСТ была достоверно увеличена на 17%, а активность КФК в 2,6 раза превышала исходный уровень. Активность КФК-МВ при этом была выше дополетных значений на 24%. На фоне гиперлипопротемии, характеризующейся повышением на 11% содержания в крови ХС ЛПНП и снижением на 12% ЛПВП-отношения, на 11% увеличивался индекс атерогенности. Концентрация незатерифицированных жирных кислот была повышена на 23%. А содержание высокочувствительного С-реактивного белка (СРБвч), являющегося независимым предиктором сердечно-сосудистых осложнений, было увеличено в 3,3 раза относительно фоновых данных. На 7-е сутки периода восстановления показатели липидного обмена в крови космонавтов практически возвращались к исходным значениям. Но активность АСТ оставалась увеличенной на 13%, а концентрация СРБвч все еще в 1,9 раза превышала фоновые величины. Кроме того, наблюдалось увеличение активности ЛДГ и ГБДГ на 20% и 19% соответственно. Таким образом, длительное пребывание в невесомости оказывает неблагоприятное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы космонавтов, способствуя развитию эндотелиальной дисфункции и увеличению риска атерогенеза. В связи с этим комплекс реабилитационных мероприятий для российских космонавтов в первую очередь должен быть направлен на минимизацию кардиальных рисков. *Работа выполнена по теме № 65.1 фундаментальных исследований РАН.*

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ НА ДОФАМИНЕРГИЧЕСКУЮ И ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКУЮ РЕГУЛЯЦИЮ СТРИАТУМА У МЫШЕЙ

А.А. Наумова, А.В. Храмцова, А.С. Березовская, Е.А. Олейник, М.В. Глазова

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

Стриатум является центральным звеном системы базальных ганглиев и играет важную роль в регуляции двигательной активности. Существует два типа проекционных нейронов стриатума, которые запускают прямой и непрямой пути базальных ганглиев. Прямой путь стимулирует моторную кору и способствует запуску движений, в то время как непрямой путь подавляет двигательную активность. Важнейшими регуляторами активности нейронов стриатума являются дофамин и глутамат. Показано, что микрогравитация в условиях космических полетов оказывает значительное влияние на дофаминергическую систему головного мозга. Однако функциональное состояние стриатума в условиях микрогравитации в настоящее время мало изучено. Для моделирования невесомости мы использовали модель антиортостатической разгрузки нижних конечностей (модель вешивания). Длительность эксперимента составляла 3 дня. После 3 дней вешивания в стриатуме мышей наблюдалась сниженная экспрессия тирозингидроксилазы (ТГ) – ключевого фермента синтеза дофамина, локализованного в терминалях нейронов чёрной субстанции. Фосфорилирование ТГ по Ser40 было также снижено, что свидетельствует о снижении активности фермента и биосинтеза дофамина. В то же время было выявлено повышенное фосфорилирование ТГ по Ser31, которое может служить компенсаторным механизмом и способствовать адаптации нигростриарной системы к антиортостатической разгрузке. Проекционные нейроны прямого и непрямого пути экспрессируют дофаминовые рецепторы D1R и D2R, соответственно. Нами показано, что 3-дневное вешивание не влияло на экспрессию D1R, однако экспрессия D2R была повышена, что сопровождалось снижением активности протеинкиназы А. Эти данные свидетельствуют об усилении тормозного влияния

дофамина на нейроны непрямого пути. Кроме того, мы проанализировали экспрессию VGLUT1 и 2, которые являются маркерами кортикостриарных и таламостриарных глутаматергических проекций. Кратковременная разгрузка задних конечностей не влияла на экспрессию VGLUT2, однако снижала экспрессию VGLUT1, что указывает на снижение глутаматергической стимуляции клеток стриатума. Полученные данные свидетельствуют о нарушении дофаминергической и глутаматергической регуляции работы стриатума в условиях моделируемой микрогравитации. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-015-00062.*

ВЛИЯНИЕ 120-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИИ НА ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

Т.В. Журавлева, А.А. Маркин, О.А. Журавлева, В.И. Логинов

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Предметная и социальная среда оказывают детерминирующее влияние на опосредованный сознанием психический статус человека (Прохоров А.О., 2009). Взаимосвязь актуального психического состояния с регуляцией физиологических функций и метаболическими реакциями организма человека в космических полетах – слабо изученный феномен. Цель исследования – выявить психологические и метаболические особенности реакций у экипажа из 6 человек на условия 120-суточной изоляции в эксперименте "SIRIUS 18/19". Международный экипаж состоял из 3 мужчин в возрасте от 31 до 44 лет и 3 женщин в возрасте от 28 до 33 лет, допущенных к участию в эксперименте комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (Протокол № 501 от 18.02.2019 г.). За 31-и сутки до начала и на 14-е сутки после окончания изоляции проводилось психологическое тестирование испытуемых. Использовались многоуровневый личностный опросник "Адаптивность", шкала "Субъективная витальность" (СВ) и краткий опросник общего здоровья Д. Голдберга (ООЗ). В динамике эксперимента СВ и ООЗ члены экипажа заполняли на компьютере на 37-е, 63-и и 120-е сутки изоляции. В сыворотке крови испытуемых в указанные сроки определяли величины 42 биохимических параметров. В динамике изоляции личностный адаптивный потенциал и ситуационная субъективная витальность у членов экипажа характеризовались стабильностью. На 63-и сутки эксперимента на фоне 3-кратного снижения индекса общего здоровья наблюдалось уменьшение в крови концентраций глюкозы, ХС ЛПВП и аполипопротеина А1 на 9%, 30% и 17% ($p < 0,05$) соответственно. Уровень НЭЖК уже на 37-и сутки был увеличен на 87% ($p < 0,05$) и оставался высоким на протяжении всего эксперимента. На 120-е сутки величина индекса атерогенности практически в 2 раза превысила фон. На 14-е сутки после изоляции нервно-психическая устойчивость у членов экипажа все еще оставалась сниженной на 29% ($p < 0,05$). Выявленные изменения психологических и метаболических реакций свидетельствовали о наличии у испытуемых умеренно выраженного стресса. Но, несмотря на это, личностный адаптивный потенциал каждого из участников эксперимента отражал достаточно эффективное приспособление к 120-суточной изоляции с сохранением здоровья и работоспособности в моделируемых условиях. *Работа выполнена по темам № 63.2 и № 65.1 фундаментальных исследований.*

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ 7-СУТОЧНОЙ СИМУЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ДИНАМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ СТОП НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГАМК И ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ ГИППОКАМПА КРЫС

Е.А. Олейник¹, А.С. Березовская¹, С.А. Тыганов², Б.С. Шенкман², М.В. Глазова¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии РАН, Санкт-Петербург; ²Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Исследования нарушений в ЦНС, вызванных микрогравитацией, до сих пор остаются малоизученными. Было показано, что во время космического полета и в условиях симуляции невесомости нарушались пространственная ориентация, процессы распознавания объектов, долговременные задачи, в которых требуются процессы внимания. Также было показано, что микрогравитация вызывает нейрохимические изменения в головном мозге. Гиппокамп, как часть лимбической системы мозга, участвует в обучении, формировании памяти и эмоций, пространственной ориентации, а также является нейрогенной зоной, тем самым вызывая огромный интерес в рамках исследования влияния факторов космического полета на функционирование ЦНС. Цель нашей работы заключалась в изучении влияния симулированной микрогравитации на функциональное состояние гиппокампа. В качестве модели гравитационной разгрузки был использован метод антиортостатического вывешивания по Новикову-Ильину в модификации Morey-Holton. Самцы крыс линии Вистар были разделены на 3 группы: изолированный контроль (С), 7-ми суточное вывешивание (HS) и 7-ми суточное вывешивание с механической стимуляцией стоп задних конечностей в течение 4 часов каждый день (DFS). В гиппокампе методами вестерн-блот анализа и ПЦР в режиме реального времени были исследованы изменения в ГАМК и глутаматергической системах. Также была оценена активность PDK1/Akt/GSK3 β сигнального каскада и активность PKA и ERK1/2 киназ. Полученные данные показали, что ни в группе HS, ни в DFS активность глутаматергической системы не изменялась. Однако в группе DFS уровень ферментов GAD65/67, определяющих уровень ГАМК, значительно снижался. При этом мы наблюдали увеличение количества рецепторов ГАМК, что, вероятно, является компенсаторным механизмом. В группе DFS также было показано увеличение активности PKA и, как результат, увеличение уровня фосфорилирования GSK3 β . При этом мы наблюдали снижение активности Akt-сигнального каскада, что может свидетельствовать о наличии клеточного стресса и возможном запуске апоптотической гибели нейронов. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-015-00062.*

ГОРМОНАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ЖЕНСКОГО ОРГАНИЗМА ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ

С.А. Чистоходова, И.А. Ничипорук., О.А. Журавлева

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Гормоны играют огромную роль в поддержании гомеостаза организма человека и его адаптации в ответ на изменения условий внешней и внутренней среды, воздействуя на регуляцию водно-солевого, минерального, белкового и энергетического

обмена, а также на состояние репродуктивной системы. В связи с этим большое значение имеют вопросы состояния здоровья и работоспособности космонавтов при осуществлении межпланетных миссий.

Целью данной работы являлось изучение гормональной реакции женского организма на условия кратковременной изоляции в гермообъекте в восьмисуточном эксперименте «Луна-2015», имитировавшем облет Луны. В исследовании участвовали 6 женщин в возрасте от 25 до 34 лет. На начальной стадии эксперимента пятеро из обследуемых находились в фолликулярной фазе менструального цикла и одна – в овуляторной, по завершении двое были в фолликулярной фазе и четверо – в лютеиновой. Для определения гормональных показателей венозную кровь отбирали утром натощак за 25 суток до начала изоляции, на 5 сутки изоляции в гермообъекте и на 1 сутки после изоляции. В пробах венозной крови определяли концентрацию кортизола, пролактина, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), тестостерона, адренкортикотропного гормона (АКТГ), альдостерона, кальцитонина, паратиреоидного гормона (ПТГ). При статистической обработке данных рассчитывали медиану и границу интерквартильных отрезков, достоверность различий определяли по критерию Вилкоксона. Не было выявлено достоверных изменений в концентрациях ЛГ, ФСГ, тестостерона, АКТГ, альдостерона, кальцитонина, ПТГ. На 5 сутки изоляции и 1 сутки после ее окончания было выявлено достоверное увеличение кортизола в крови на 25,65% и 45,96% ($p < 0,05$) от фона соответственно. Также на 5 сутки изоляции отмечалось выраженное повышение пролактина на 49,51% (тенденция), а на 1 сутки после изоляции его достоверный рост на 163,94% ($p < 0,05$) от фоновых значений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что участницы эксперимента испытывали умеренно выраженный стресс, который адекватно преодолевался организмом, вероятно, за счет анксиолитического действия пролактина.

Работа выполнена по теме фундаментальных исследований РАН № 65.1.

ФИЗИОЛОГИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ЭФФЕКТЫ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ НА ОРГАНИЗМЕННОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Л.В. Капилевич^{1,2}, А.Н. Захарова¹, Е.Ю. Дьякова¹, Т.А. Кироненко¹, К.Г. Милованова¹, Ю.Г. Калининкова¹, А.А. Орлова¹, А.В. Чибалин¹

¹Томский государственный университет, ²Томский политехнический университет, Томск

Изучено влияние принудительных беговых нагрузок на содержание некоторых цитокинов в скелетных мышцах мышей с моделью сахарного диабета II типа. Для формирования модели заболевания была использовалась высокожировая диета, физические нагрузки в виде принудительного бега проводились в течение 4-х недель. Концентрация миокинов в мышечной ткани *m.gastrocnemius* определялась методом иммуноферментного анализа (ИФА). Формирование диабета у мышей сопровождается возрастанием концентрации IL-6 и снижением концентрации IL-15 в мышечной ткани. Принудительные беговые нагрузки по-разному влияют на содержание миокинов в мышечной ткани у здоровых и больных мышей. У здоровых животных наблюдается снижение концентрации IL-6 и IL-15 и увеличение концентрации LIF в мышечной ткани после 4 недель регулярного принудительного бега. В то же время у мышей с диабетом концентрации IL-6 и IL-15 после нагрузок возрастала, а LIF – напротив, снижалась. Концентрация NAR3 в мышечной ткани мышей оказалась нечувствительной ни к формированию СД II, ни к регулярному принудительному бегу. Обнаруженные различия могут иметь в своей основе целый ряд механизмов. Клеточный состав скелетных мышц и фенотипические особенности мышечных волокон, изменяясь в результате метаболических нарушений и регулярных тренировок, могут модифицировать процессы продукции миокинов. Важное значение так же играют особенности транскрипционных механизмов в мышечных волокнах. Модификация этих механизмов под влиянием метаболических расстройств и физических нагрузок представляют значительный интерес, так как являются перспективным путем воздействия на процессы метаболизма как на клеточном, так и на системном уровне, что весьма актуально для поиска новых путей коррекции метаболических расстройств при сахарном диабете второго типа. *Исследование выполнено за счет гранта РФФИ # 19-15-00118.*

ВЛИЯНИЕ РЕАЛЬНОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА АРХИТЕКТУРУ И ФУНКЦИЮ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА

Ю.А. Коряк

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Изменения скелетных мышц на воздействие микрогравитации задокументированы еще в ранних работах [Шурина-Какучева et al., 1976]. Драматические изменения наблюдаются в мышцах-разгибателях колена и стопы [Akima et al., 2002], особенно стопы, из-за большей загруженности в гравитационных условиях. После воздействий микрогравитации отмечается большая потеря силы мышцы по сравнению с ее размером [Kawakami et al., 2001], указывая, что другие факторы кроме атрофии вносят вклад в «слабость» мышцы. Внутренняя архитектура мышцы является важным детерминантом функциональных характеристик [Gans, Vock, 1965], которая может быть изучена *in vivo*, используя ультразвуковую визуализацию [Kuno, Fukunaga, 1995]. Используя метод ультразвукового изображения (УЗИ), было показано, что уменьшение размера мышцы после неупотребления связано с изменениями длины и угла наклона волокон [Reeves et al., 2002]. Целью исследования было оценить степень адаптации функций трехглавой мышцы голени (ТМГ) и архитектуры медиальной (МИМ) и латеральной (ЛИМ) икроножных и камбаловидной (КМ) мышц у космонавтов после продолжительного космического полета (КП). Сократительные свойства ТМГ оценивали методом тендометрии [Коряк, 1985] по показателям максимальной произвольной силы (МПС) и максимальной силе (P_0). Методом УЗИ осуществлялась визуализация МИМ, ЛИМ и КМ с использованием В-режима линейным датчиком 7.5 МГц и апертурой 60 мм при угловых позициях голеностопного сустава -15° , 0° , 15° и 30° и коленном 0. В каждой

позиции были получены УЗИ мышц с определением длины (Lв) и угла наклона (Өв) волокон [Fukunaga et al., 1997]. После КП МПС и Ро уменьшались на 25 и 12,8 %, соответственно; Lв МИМ, ЛИМ и КМ уменьшалась с 43, 57 и 35 мм (позиция -15°) до 34, 38 и 25 мм (позиция 30°), и Өв увеличивался с 27, 21 и 23° до 43, 29 и 34°, соответственно. Уменьшение Lв и Өв приводит к потере последовательных и параллельных саркомеров. Функциональным последствием уменьшения Lв уменьшение укорочения во время сокращения. Потеря последовательных саркомеров означает, что, хотя каждый саркомер будет сокращаться на ту же абсолютную величину, но общее сокращение всего волокна будет уменьшено, что, повлияет на отношение сила-длина и сила-скорость мышцы. *Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России – соглашение № 075-1502020-919.*

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МЫШЦ-РАЗГИБАТЕЛЕЙ КАК СПОСОБ РЕГУЛЯЦИИ ПОЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Т.Р. Мошонкина¹, О.П. Тимофеева², Н.Д. Шандыбина¹, И.Г. Андреева²

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Неинвазивная электрическая стимуляция спинного мозга человека может быть использована для адресной активации мышц сгибателей и разгибателей. Показано, что унилатеральная стимуляция дорзальных корешков спинного мозга на уровне L1-L2 при ходьбе в фазе опоры увеличивает коактивацию мышц голени на стороне стимуляции, что увеличивает жесткость голеностопного сустава. Подвижность голеностопного сустава является критически важной в регуляции вертикальной позы. Цель работы - исследование постральной устойчивости при изменении жесткости голеностопного сустава методом электрической чрезкожной стимуляции спинного мозга (ЧССМ).

Здоровые добровольцы (N=14, 27±1,1 лет) стояли с закрытыми глазами на стабилметрической платформе в анэхоидной звукозаглушенной камере при следующих видах воздействий: без ЧССМ (1), ЧССМ на уровне позвонков L1-L2 над корешками слева (2), над корешками справа (3) или по осевой линии спинного мозга (4). ЧССМ с частотой 20 Гц, модулированной 5 кГц. Сравнивали показатели колебаний центра давления тела, зарегистрированные в течение 30 с. Постуральные показатели при воздействии (4) достоверно отличались от условия без ЧССМ: площадь эллипса увеличена в 1,5 раза, качество равновесия уменьшено на ~10%, скорость перемещения сагиттальной компоненты увеличена на ~20%, вариабельность сагиттальной и фронтальной компонент увеличена на >20%. Увеличение жесткости голеностопных суставов с использованием ЧССМ вызвало уменьшение устойчивости вертикальной стойки. *Работа поддержана средствами государственного бюджета по госзаданию на 2021 (тема № АААА-А18-118013090245-6) и, частично, Программой НЦМУ Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2020-921 от 13.11.2020).*

РОЛЬ МЫШЕЧНОГО ТОНУСА В РЕГУЛЯЦИИ АТРОФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ, ВЫЗВАННЫХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКОЙ ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ

С.А. Тыганов, С.П. Белова, Е.П. Мочалова, Б.С. Шенкман, Т.Л. Немировская

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Функциональная разгрузка скелетных мышц сопровождается снижением электрической активности и мышечного тонуса. Введением тетанотоксина (столбнячного токсина) при разгрузке мышцы можно искусственно повысить её тонус. В данном эксперименте было исследовано влияние мышечного тонуса на развитие атрофических изменений в m.soleus крысы. Самцы крыс Wistar (200-220 г) были разделены на 4 группы: группа интактного контроля (С), группа контроля с введением тетанотоксина (СТ), группа вывешивания 7 дней (НС), группа вывешивание с введением тетанотоксина в камбаловидную мышцу крысы (НСТ). Мышца, выделенная из одной лапы животного использовалась для измерения механических параметров ex vivo. Мышца из другой лапы замораживалась сразу после забоя животного и использовалась для выделения РНК и тотальной белковой фракции. Содержание воды в m.soleus группы НС было существенно выше, чем во всех остальных группах, а содержание сухой массы мышцы – существенно ниже (на 50%, p<0,05), что свидетельствует о предотвращении атрофии m.soleus при введении тетанотоксина на фоне функциональной разгрузки. Абсолютная и удельная (отнесенная к площади поперечного сечения) сила тетанического сокращения в группе НС снизилась на 65% (p<0,05) относительно группы С, введение тетанотоксина предотвратило это снижение (p<0,05). Схожие изменения наблюдались и для пассивных механических характеристик m.soleus. Содержание десмина было снижено на 31,4% (p<0,05) в группе НС относительно группы НСТ. Во всех остальных группах отличий от контроля по этому параметру не наблюдалось. Уровень кальпаина-1 был повышен только в группе НС по сравнению с группой С (на 48%, p<0,05), но не в других группах. Содержание p-p70S6K (регулирует работу S6 белка рибосом) снизилось в группе НС (на 41%, p<0,05) относительно С. Введение тетанотоксина предотвращало эти изменения. Увеличение уровня p-eEF2 (элонгационного фактора) наблюдалось только в группе НС (на 77% выше уровня гр. С, p<0,05), но не в группе НСТ. Таким образом, введение тетанотоксина предотвращает изменение механических характеристик камбаловидной мышцы крысы на фоне гравитационной разгрузки. Эффекты тетанотоксина реализуются через сигнальные механизмы, регулирующие синтез белка. *Работа поддержана грантом РФФИ №18-15-00062.*

КАК ГРАВИТАЦИОННАЯ РАЗГРУЗКА ВЛИЯЕТ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ САТЕЛЛИТНЫХ КЛЕТОК МЫШЦ

Н.А. Вильчинская¹, М.Ю. Комарова², С.В. Рожков¹, О.В. Туртикова¹, Р.И. Дмитриева², Б.С. Шенкман¹

¹ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва; ²НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Гравитационная разгрузка оказывает глубокое влияние на структурно-функциональную организацию постральных мышц. Скелетные мышцы обладают уникальной способностью восстанавливаться при повреждении. Регенерация мышц осуществляется с помощью сателлитных клеток. Миосателлиты – это покоящиеся одноядерные клетки, расположенные на пери-

ферии мышечного волокна. При повреждении мышц происходит активация сателлитных клеток, они вступают в пролиферацию и дают начало новым сателлитным клеткам и миообластам. Дифференцированные миообласты могут сливаться с мышечными волокнами при гипертрофии и регенерации мышечной ткани и друг с другом, формируя новые мышечные волокна. Исследования влияния гравитационной разгрузки на состояние мышечных сателлитных клеток малочисленны. После 7 и 14-ти суточного воздействия моделируемой гравитационной разгрузки было показано снижение общего числа сателлитных клеток камбаловидной мышцы и снижение их пролиферативного потенциала. Цель работы состояла в исследовании регенеративного потенциала мышечных сателлитных клеток на разных сроках моделируемой гравитационной разгрузки. Проводилось 1, 3, 7 и 14 суточное антиортостатическое вывешивание крыс по методике Ильина-Новикова в модификации Морей-Холтон. С помощью метода ПЦР в реальном времени оценивали уровень экспрессии маркеров пролиферации и дифференцировки мышечных сателлитных клеток и экспрессию различных изоформ ТЦМ. Уровень пролиферации сателлитных клеток оценивали по включению EDU. После 7 и 14 суток вывешивания наблюдалось увеличение экспрессии мРНК Myf 5, MRF4 и MyoG в сателлитных клетках камбаловидной мышцы по сравнению с группой контроля. Экспрессия этих маркеров не отличалась от уровня контрольной группы после 1 и 3 суток вывешивания. В результате 7 и 14 суточного вывешивания наблюдалось значительное увеличение экспрессии мРНК эмбрионального миозина, ТЦМ Pd/x и ТЦМ Ib. Так же было обнаружено снижение уровня пролиферации сателлитных клеток камбаловидной мышцы крыс после 1,3 и 7 суток вывешивания, а после 14 суток наблюдалось достоверное увеличение пролиферации этих клеток. Таким образом, при длительных сроках гравитационной разгрузки наблюдается повышенная активация мышечных сателлитных клеток на стадии дифференцировки. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 20-75-10080.*

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ СИСТЕМА АНАЛИЗА ДВИГАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ГРЫЗУНОВ ПО ОТПЕЧАТКАМ ЛАП

Д.С. Трактиров, Н.С. Пестерева

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Поведенческий тест «Следы» используется для количественной оценки изменений двигательной функции грызунов в моделях различных нарушений, таких как болезнь Паркинсона (БП), нарушения нервно-мышечной передачи, повреждения спинного мозга и другие. При тестировании в ручном режиме лапы животного окрашиваются, а на пол установки стелется чистый белый лист. После преодоления грызуном коридора на листе остаются отпечатки лап, по которым и анализируют походку – в частности, рассчитывают длину и ширину шага. Несмотря на важность оценки походки во многих областях исследований, ручной метод обладает недостатками: стресс животного при окрашивании лап, невозможность оценки временных параметров походки, таких как скорость или продолжительность шага. Доступные коммерческие варианты более надёжны, однако предполагают трудоёмкую кадровую оценку видеозаписей или использование дорогостоящих систем анализа с закрытым исходным кодом. Для решения обозначенных проблем нами была разработана программа StepAn анализа отпечатков лап, позволяющая работать с видеозаписями и производить автоматическую количественную оценку походки. В ходе эксперимента крыса помещается в коридор, дно которого сделано из полиметилметакрилата (оргстекло). Перемещение записывается на видео (вид снизу) и затем анализируется программой StepAn. Для каждой видеозаписи программа автоматически определяет координаты постановки лап животного (с использованием нейронной сети GoogLeNET [arXiv:1409.4842]), а также позволяет устанавливать координаты вручную. После, программа производит расчёт параметров, таких как длина, ширина и продолжительность шага, попарные расстояния между лапами. Для демонстрации возможности использования программы StepAn для выявления нарушений походки мы использовали модель крыс с введением резерпина (5 мг/кг, s. c.) – ингибитора везикулярного переносчика моноаминов VMAT2. Действие резерпина вызывает истощение запаса моноаминов в структурах мозга, что приводит к возникновению акинезии и ригидности – клинических особенностей БП. При помощи данной модели было показано, что StepAn действительно позволяет обнаруживать изменения в походке грызунов, при том оказывается более удобной в использовании, чем ручная оценка параметров движения крыс, а полученные результаты оказываются не менее точными.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ, ПРИ ОГРАНИЧЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ТЕЧЕНИЕ 7 СУТОК В ПОСТУРАЛЬНОЙ И ЛОКОМОТОРНОЙ МЫШЦЕ

С.П. Белова, С.А. Тыганов, Е.П. Мочалова, Б.С. Шенкман

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

В связи с урбанизацией, автоматизацией и механизацией труда, тяжелой эпидемиологической обстановкой у современного человека снижается уровень ежедневной физической активности. Хорошо известно, что митохондрии играют ключевую роль в метаболической и физиологической адаптации мышц к уровню сократительной активности. Митохондрии в клетке образуют взаимосвязанную сеть, форма которой динамична, так как митохондрии постоянно делятся и сливаются. Ключевые белки, участвующие в делении митохондрий Drp-1 и Fis1, а в слиянии – Opa1 и митофузины 1 и 2. В литературе имеется большое количество данных по атрофии, вызванной денервацией, указывающих на изменения количества и морфологии митохондрий. В работе Max S.R. сообщается, что митохондриальные нарушения в мышцах при атрофии неиспользования начинаются уже после 24 часов. В атрофированной мышце на снижение количества и качества митохондрий также влияет их дегградация, контролируемая митофагией. Целью данной работы было исследование экспрессии генов ключевых белков, отвечающих за функциональное состояние митохондрий, при ограничении двигательной активности в течение 7 суток в постуральной и локомоторной мышце. Были исследованы: Экспрессия генов, вовлеченных в регуляцию митохондриальной динамики - митофузин-1, митофузин-2, Drp1, Fis1, OPA1; экспрессия генов, отвечающих за функциональное состояние митохондрий: NRF-1 и NRF2a - генов-мишеней PGC1a, экспрессии мРНК транскрипционного фактора митохондриальных генов TFAM, экспрессии двух субъединиц цитохромоксидазы, закодированных в митохондриальном геноме (COXI и COXII), а также экспрессии мРНК субъединицы цитохромоксидазы COXVI, закодированной в ядерном геноме; Экспрессия маркеров аутофагии: LC-3, Beclin1,

P62, Utk1. Было показано, что при ограничении двигательной активности в постуральной m. soleus снижалась экспрессия PGC1a, увеличивалась экспрессия митофузина-1, митофузина-2, снижалась экспрессия NRF-2 и комплекса IV. В локомоторной m. EDL снижалась экспрессия DRP1 и комплекса IV. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта 21-315-70033.

ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ: РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА С УЧАСТИЕМ BDNF И 2-АГ

Е.С. Правдивцева, Н.А. Хоткина, А.И. Молчанова, К.А. Чернышев, Е.О. Тарасова, П.О. Богачева, О.П. Балезина
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Скелетные мышцы способны выделять ряд соединений, действующих ретроградно на нервные терминалы и оказывающих трофические и регуляторные воздействия на моторные синапсы. К их числу относится нейротрофин мозга – BDNF. Процессинг BDNF может происходить не полностью, в случае чего вместе со зрелым нейротрофином выделяется и его предшественник – proBDNF. Трофические эффекты BDNF и proBDNF обычно имеют противоположный характер, при этом мало известно об участии этой системы в острой регуляции секреции медиатора в моторных синапсах. Другими ретроградными регуляторами являются эндоканнабиноиды, в том числе 2-арахидоноил-глицерин (2-АГ). 2-АГ способен ингибировать выделение медиатора в ЦНС, однако его влияние на работу моторных синапсов изучено слабо. В связи с этим, целью данной работы было изучить участие системы BDNF/proBDNF и 2-АГ в регуляции спонтанной секреции медиатора в нервно-мышечных синапсах двух функционально различных типов мышц. С помощью стандартной микроэлектродной методики регистрировали миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) в изолированных препаратах диафрагмы (m. diaphragma) и длинного разгибателя пальцев (m. EDL) мыши. BDNF (1нМ) вызывал прирост амплитуды МПКП как в моторных синапсах диафрагмы (на 30%), так и m. EDL (на 40%). Он также приводил к повышению частоты МПКП на 40% в синапсах диафрагмы, и на 60% в синапсах m. EDL. Блокада рецепторов TrkB циклотраксином В (100нМ) предотвращала прирост амплитуды, но не частоты МПКП. При этом proBDNF (1нМ) не вызывал изменений параметров МПКП ни в синапсах диафрагмы, ни m. EDL. 2-АГ (1мкМ) вызывал прирост амплитуды МПКП в моторных синапсах диафрагмы (на 50%) и m. EDL (на 32%), не затрагивая другие параметры МПКП. Обратный агонист каннабиноидных рецепторов CB1-типа, AM 251 (1мкМ) и блокатор везикулярного транспорта ацетилхолина везамикол (1мкМ) полностью предотвращали этот прирост. Следовательно, эффект 2-АГ был опосредован активацией пресинаптических CB1-рецепторов и усилением накачки медиатора в везикулы. Таким образом, BDNF и 2-АГ, действуя как ретроградные регуляторы, способны влиять на работу моторных синапсов, изменяя размер кванта медиатора и частоту секреции везикул. Эти эффекты опосредуются активацией пресинаптических рецепторов TrkB и CB1. *Поддержано грантом РФФИ 19-04-00616а.*

ВВЕДЕНИЕ ИНГИБИТОРА mTOR РАПАМИЦИНА ЧАСТИЧНО ПРЕДОТВРАЩАЕТ ПАДЕНИЕ УРОВНЯ РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ И СНИЖЕНИЕ СИНТЕЗА БЕЛКА В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ ПОСЛЕ 24 ЧАСОВ ВЫВЕШИВАНИЯ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС

К.А. Шарло, С.В. Рожков, Т.М. Мирзоев, Б.С. Шенкман
ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

В условиях реальной или моделируемой микрогравитации происходит снижение массы и площади поперечного сечения мышечных волокон (атрофия волокон), что ведёт к функциональным нарушениям. В наибольшей степени таким изменениям подвергаются волокна «медленного» типа, принимающие участие в поддержании позы и, у человека, вертикального положения тела в пространстве. Механизмы развития атрофии в условиях микрогравитации в значительной степени остаются неизученными. Одним из ключевых регуляторов синтеза белка в скелетных мышцах является протеинкиназа mTOR. Целью данной работы было выявление роли mTOR в регуляции биогенеза рибосом и скорости биосинтеза белка в постуральной камбаловидной мышце на начальном этапе моделируемой микрогравитации (модель антиортостатического вывешивания). В соответствии с целью работы был проведен эксперимент с 24-часовым вывешиванием крыс по Ильину-Новикову: самцы крыс Вистар были разделены на 4 группы по 8 животных в каждой: виварный контроль (С), контроль с введением ингибитора mTOR рапамицина в дозировке (1,5 мг/кг массы животных в сутки) (С+R), 24-ч антиортостатического вывешивания (1HS) и 24-ч вывешивания с введением рапамицина (1HS+R). После завершения эксперимента у животных под наркозом извлекались обе камбаловидные мышцы. Эвтаназия животных осуществлялась посредством введения сверхдозы трибромэтанола. В группе 1HS, как и в обеих группах с введением рапамицина, уровни фосфорилирования Thr36/46 4E-BP и Ser 235/236 S6 белка, являющихся мишенями mTOR, были достоверно снижены в сравнении со значениями группы С. При этом экспрессия 45S пре-рРНК, а также содержание 18S и 28S рибосомальных РНК были снижены в сравнении с контролем в группах С+R и 1HS, при этом в группе 1HS+R эти параметры были достоверно выше, чем в группе 1HS. Уровень синтеза белка был снижен в группах С+R, 1HS в сравнении с группой контроля, при этом в группе 1HS+R имелась лишь тенденция к отличию от группы контроля (p=0,07). На основе полученных данных можно прийти к заключению, что активность mTOR играет противоречивую роль в регуляции синтеза белка на начальном этапе моделируемой гравитационной разгрузки, внося вклад в инактивацию синтеза белка, по-видимому, за счет негативной регуляции экспрессии генов рибосомальной РНК. *Работа поддержана грантом РФФИ № 17-75-20152.*

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕВИРУСНЫХ МЕТОДОВ МОДИФИКАЦИИ КУЛЬТУРЫ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВНУТРИ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПРИ ЗАМЕЩЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА

М.С. Божокин^{1,2}, С.А. Божкова¹, М.Г.Хотин², Ю.А. Нащекина²

¹РНИИ травматологии и ортопедии им Р.Р. Вредена; ²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Введение Повреждения гиалинового слоя коленного сустава являются актуальной проблемой многих людей в современном мире. Доступные в настоящий момент методы восстановления суставного хряща не могут в полном объеме решить данную проблему, поэтому актуальной задачей является разработка перспективных и малоинвазивных методик восстановления поврежденной поверхности гиалинового слоя коленного сустава. Одной из перспективных методик является использование клеточно-инженерные конструкции (КИК) из биodeградируемого полимерного скаффолда, с модифицированной клеточной культурой для синтезирования увеличенного количества белков внеклеточного матрикса. Цель данной работы – анализ эффективности различных невирусных методов модификации культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для использования внутри клеточно-инженерной конструкции при замещения поверхностных дефектов гиалинового хряща. Материалы и методы: Биodeградируемый скаффолд на основе PLA был создан методом лиофильной сушки. Культуру МСК выделяли из костного мозга половозрелых крыс. Модификацию клеток внутри полимера проводили с помощью рекомбинантного белка Tgfb3, плазмидой, несущей данный ген, а также лазерным излучением длиной волны 632,8 нм. Имплантация КИК проводилась в область созданного модельного дефекта коленного сустава крысы. Результаты: Обработка клеток цитокином Tgfb3 приводила к образованию хондросфер (клеточных агрегатов) и одновременно приводила к увеличению экспрессии основных генов хондрогенеза *tgfb3*, *sox9*, *acp* более чем в 80 раз. Модификация лазерным излучением приводила к аналогичному изменению экспрессии генов, однако, в меньших размерах. Трансфекция созданной плазмидой приводило к значительной гибели клеток. После имплантации КИК с белковой модификацией клеток и оценки результатов наблюдения через 90 суток отмечалось уменьшение размера созданного контрольного повреждения гиалинового хряща. Заключение: Модификация цитокином Tgfb3 является наиболее эффективным и безопасным методом изменения пролиферации клеточной культуры МСК. Полученная КИК с увеличенной экспрессией основных генов хондрогенеза является перспективной для замещения дефектов гиалинового хряща, однако работа требует дальнейших исследований на крупных экспериментальных животных.

ФИЗИОЛОГИЯ ДЫХАНИЯ

МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ФИБРОЗА ЛЁГКИХ С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ФИБРИНОЛИЗА

Е.В. Семина^{1,2}, З.И. Цоколаева, В.С. Попов², К.А. Рубина²

¹Институт экспериментальной кардиологии, НМИЦ кардиологии МЗ РФ; ²Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Одними из наиболее тяжелых осложнений при COVID-19 являются фиброз лёгких и тромбоз сосудов, сопровождаемый нарушением фибринолиза и лечение пациентов в критическом состоянии остается одной из сложнейших и актуальных задач в клинической практике, поэтому исследования общих механизмов развития патологических состояний при коронавирусной инфекции являются актуальными и перспективными для поиска новых диагностических и терапевтических мишеней. Урокиназа uPA и её рецептор uPAR как участники процесса фибринолиза активируют плазмин, который разрушает фибрин до димеров и растворяет тромб. Изучая функции uPA в сосудах ранее, нами было обнаружено её свойство вызывать отрицательное ремоделирование и сужать просвет кровеносных сосудов. В 2020 году мы получили принципиально новые результаты о роли uPA и uPAR в активации эпителиально-мезенхимального перехода как процесса, запускающего и поддерживающего фиброз лёгких (Semina et al., EJCB, 2020). Обнаружено, что uPAR является ловушкой для урокиназы и препятствует её проникновению в ядро. В отсутствие рецептора урокиназы на мембране клеток, не связанная с ним урокиназа транспортируется в ядро и меняет транскрипционную программу, активируя эпителиально-мезенхимальный переход с участием факторов транскрипции Snail/Slug, TWIST1/2 и ZEB. В данном исследовании мы использовали модель блеомицин-индуцированного фиброза легких у мышей, нокаутных по урокиназе (PLAU), рецептору урокиназы (PLAUR) и мышей дикого типа WT. Обнаружено, что у мышей PLAUR происходит массивная потеря веса уже на ранних сроках (через 7-14 д) после начала эксперимента по сравнению с мышами PLAU и WT. Помимо этого, МРТ анализ выявил большую степень поражения лёгких у мышей PLAUR, но не PLAU и WT. По данным гистологического анализа (пикросириус красный, маллори) у мышей PLAUR фиброзное поражение легких значительно больше по сравнению с PLAU и WT, что приводило к гибели животных в ранние сроки после индукции фиброза. В сумме эти данные меняют представление о роли урокиназной системы в патогенезе фиброза: возможно, наиболее важным в этих процессах является не урокиназа, а рецептор урокиназы, экспрессия которого в мембране клеток препятствует проникновению урокиназы в ядро и развитию фиброза легких. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-60029.*

ВЛИЯНИЕ ДВУХ СТРЕССОРОВ – ГИПОДИНАМИИ И ГИПОТЕРМИИ НА ЛЕГОЧНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ И ГИСТОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ЛЕГКИХ

К.М. Хамчиев, Ф.А. Шукуров

Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Казахстан; Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Условия окружающей среды оказывают значительное влияние на здоровье человека и животных. Очень часто они могут воздействовать на организм комбинированно и вызывать существенные сдвиги гомеостаза и нарушения процессов жизнедеятельности организма. На 22 белых крысах обоего пола нами было изучено комбинированное влияние 6-часовой иммобилизации и гипотермии на показатели скорости кровотока, тонуса сосудов, венозного оттока крови в малом круге кровообращения. Изменения легочного кровообращения по данным реографического исследования при комбинированном стрессе, обусловленном гипотермией и иммобилизацией показал однонаправленные изменения в период от 1 до 3 часа опыта и свидетельствовал о снижении объема кровенаполнения, скорости кровотока, повышении тонуса прекапиллярных сосудов легких и венозном застое крови в системе малого круга кровообращения. После 3 часа и до окончания воздействия (через 6 час), реографические характеристики приближались к уровню показателей контрольных животных, по-видимому, вследствие включения в это время компенсаторных реакций перераспределения крови. У одного животного было выявлено понижение тонуса сосудов легких на фоне повышения регионарного кровенаполнения легочной ткани. Морфологическая картина, которая наблюдается при этом свидетельствует о значительной гипоксии тканей: выраженные признаки артериолоспазма, увеличение кровенаполнения на уровне пре- и посткапилляров, увеличение проницаемости стенок мелких сосудов. Как следствие всего перечисленного, возникает реактивный бронхоспазм, очаговая эмфизема и дистелектазы паренхимы легких.

Таким образом, одновременное сочетанное шестичасовое воздействие двух мощных стрессорных факторов – гипотермии и иммобилизации, способствуют возникновению у животных однонаправленных геодинимических сдвигов в малом круге кровообращения: увеличению сосудистого давления на уровне микроциркуляторного русла легких, понижению их кровенаполнения, и, как следствие – затруднению венозного оттока крови к сердцу.

УЧАСТИЕ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В ЭФФЕКТЕ ОЗОНА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ

В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая, Т.Л. Степура, С.В. Глуткин, О.А. Балбатун, И.Э. Гуляй, М.Э. Фираго, М.Л. Гладкий, В.О. Лепеев

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В клинической практике широко используют методы терапии, основанные на использовании озона (O₃). Нами было проведено исследование влияния O₃ на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови в различных условиях кислородного обеспечения и коррекции системы газотрансмиттеров (NO, H₂S). Предварительная оксигенация усиливает влияние озона на КТФ крови, проявляющееся в увеличении таких показателей, как pO₂, SO₂, p50реал и p50станд. Добавление гидросульфида натрия и нитроглицерина усиливает данный эффект, особенно последнего. В гипероксических условиях действие озона приводит к росту содержания NO₃⁻/NO₂⁻ и H₂S, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивают эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. Обработка крови дезоксигенирующей

газовой смесью уменьшает влияние озона на КТФ крови, что проявляется в снижении pO_2 , SO_2 , $p50$ в сравнении с группой, в которой вводили только озон. Введение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает. Действие озона в данных условиях приводит к росту содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивают эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. Результаты выполненного исследования раскрывают определённые аспекты действия озона в условиях насыщения дез/оксигенированной газовыми смесями, которые реализуются через влияние на КТФ крови, а также за счёт воздействия на систему газотрансмиттеров (монооксида азота, сероводорода). *Исследование выполнено при финансовой поддержке «БРФФИ–РФФИ-2020» в рамках научного проекта № М20Р-428.*

ФИЗИОЛОГИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ

ГЛУТАМИНОВЫЙ ЦИКЛ ИНТАКТНОЙ И РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ ПРИ АДАПТАЦИИ К ГИПЕРОКСИИ

П.Н. Савилов

Тамбовская центральная районная больницы, Тамбов; Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж

В эксперименте на половозрелых крысах «самках» исследовали реакцию глутаминового цикла интактной и регенерирующей печени на гипербарическую оксигенацию (ГБО). Регенерацию вызывали части левой доли органа (РП, 15-20 % от массы органа). ГБО применяли трёхкратно в режиме 3 ата (303,9 kPa), 50 мин. ГБО у крыс с РП проводили соответственно через 4-8, 24 и 48 часов после РП. Выведение животных из опыта проводили сразу после третьего сеанса на фоне этилового наркоза. Объектом исследования служили средняя (СДП, неоперируемая доля печени), где исследовали активность глутаминсинтетазы (ГС), фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ), содержание аммиака (Ам), глутамин (Гн) и глутамата (Гт). Установлено, что применение ГБО у интактных крыс вызывало угнетение активности ГС и ФЗГ соответственно на 49% и 41%, снижение концентрации Гн и Гт соответственно на 14% и 30%, при увеличении на 45% содержания Ам. На 3-и сутки после РП отмечено снижение концентрации Гн на 24%, увеличение активности ГС на 32% и концентрации Ам на 55%. Активность ФЗГ, содержание глутамата не изменялись. Применение ГБО после РП повышало в СДП содержание Гн и Гт соответственно на 34% и 40%. Активность ГС не изменялась, оставаясь выше нормы на 32%, а ФЗГ увеличивалась на 68%. Содержание Ам, в отличие от крыс с РП без ГБО, оставалось в пределах нормы. Таким образом, интактная печень реагирует на гипероксию торможением дезамидирования Гн в перипортальной и синтеза Гн в перивенулярной зонах долики печени. Это сопровождается развитием в СДП дефицита Гн и Гн на фоне накопления Ам. В регенерирующей печени ГБО, стимулируя ФЗГ активирует дезамидирование Гн, но при этом сохраняется стимулирующее влияние РП на активность ГС. В отличие от неоксигенированных крыс с РП это сопровождается накоплением Гн и Гт, при нормальном содержании Ам. Полученные результаты показывают, что реакция глутаминового цикла на ГБО зависит от его функционального состояния на момент оксигенации.

МЕТАБОЛИТЫ МИКРОФЛОРЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ МОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ТОНКОЙ КИШКИ

Н.С. Тропская, Е.А. Кислякова, Т.С. Попова

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

В последнее время многие исследователи пристальное внимание уделяют низкомолекулярным метаболитам, продуцируемым индигенной микрофлорой толстой кишки, в частности короткоцепочечным жирным кислотам (КЦЖК). Важнейшая из КЦЖК – масляная кислота (бутират) влияет на широкий спектр клеточных функций, поддерживая кишечный гомеостаз. Бутираты могут не только синтезироваться в кишечнике, но и поступать в него как в составе пищевых продуктов, так и биологически активных добавок и смесей для энтерального питания (в виде трибутирина). В докладе приводятся данные собственных экспериментальных исследований; рассматриваются возможные механизмы влияния бутирата на моторную функцию тонкой кишки в норме и на фоне эндотоксемии, вызванной ЛПС *E.coli*. Выдвигается идея, касающаяся использования трибутирина как прокинетики. Предлагается объяснение механизма стимулирующего действия трибутирина на электрическую активность тонкой кишки, реализуемого через холинорецепторы, а также блокаду нитринергических путей.

ФИЗИОЛОГИЯ ПОЧЕК И ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА NO В УСЛОВИЯХ ГИПОТИРЕОЗА НА СОСТОЯНИЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА ПОЧЕК У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВАЗОПРЕССИНА

П.Д. Правикова, Т.С. Курляндчик, Л.Н. Иванова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

В последние годы активно обсуждается вопрос о роли внеклеточного матрикса почечной медуллы в регуляции транспорта воды и солей между структурами концентрирующего механизма. Одним из главных компонентов межклеточного матрикса почки является гиалуронан (НА), который может менять сопротивление для диффузии жидкости в зависимости от состояния

полимерности молекулы. Тиреоидные гормоны — гормональная система, патологические изменения которой приводят в том числе к значимым нарушениям концентрирующей функции почек, нередко сопровождающимися развитием тканевых отёков вследствие белковых нарушений межклеточного пространства. Учитывая данные об увеличении уровня NO во многих тканях при гипотиреозе, целью исследования явилось выявление роли почечного аутокоида NO в реализации эффекта гипотиреоза на состояние интерстиция почечной медуллы у крыс WAG и у ВП-дефицитных крыс Brattleboro. У крыс WAG в течение 6 недель подавлялся синтез тиреоидных гормонов путём потребления 0,05% раствора тирозола (Германия, merk), в то время как крысы Brattleboro имели свободный доступ к 0,01% раствору тирозола. Устранение влияния NO осуществлялось в условиях введения крысам неселективного ингибитора синтаз оксида азота, L-NAME (5мг/100г). Установлено, что хроническое потребление тирозола устраняет подавляющее действие тиреоидных гормонов на экспрессию гена гиалуронан-синтазы (HAS2), кодирующего фермент синтеза гиалуронана, поскольку вне зависимости от уровня ВП в крови было зафиксировано повышение уровня содержания мРНК HAS2 и увеличение гистохимически выявляемых гликозаминогликанов интерстиция сосочка почки. Вместе с тем, в условиях применения тирозола на фоне устранения действия NO как у крыс WAG, так и у особей Brattleboro изменений состояния интерстиция почечной медуллы не было обнаружено, что является следствием снижения уровня экспрессии HAS2 до базальных значений. Результаты исследований позволяют заключить, что гипотиреоз приводит к существенным изменениям состояния интерстиция почечной медуллы, ключевую роль в механизме которых играет активность NO-сигнального пути. *Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 20-04-00298 А).*

АПРОБАЦИЯ CRD-ТЕСТА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СИСТЕМНОГО АМИЛОИДОЗА У КРЫС А.О. Анпилова^{1,2}, М.Н. Карпенко², О.В. Галкина¹

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ;

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Амилоидоз – это группа заболеваний, отличительным признаком которой является отложение в тканях фибриллярных структур, состоящих из агрегированных белков с кросс-β-складчатой конформацией. При системном амилоидозе поражаются все органы и ткани, но преимущественно – почки. На сегодня постановка диагноза требует инвазивного вмешательства, что сопряжено с повышенными рисками для пациента. Целью данного исследования являлась апробация метода детектирования амилоидоподобных структур в моче с использованием красителя Congo-Red на экспериментальной модели системного амилоидоза у крыс. Моделирование системного амилоидоза осуществлялось путем однократного введения равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда по 0,2 мл в 5 точек: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа. В качестве экспериментальных животных были выбраны крысы-самцы линии Wistar массой 500–600 г (n=9) в возрасте 18–24 мес. Контрольная группа состояла из крыс Wistar сопоставимой массы и возраста (n=3). Содержание амилоидоподобных структур анализировалось в образцах мочи (6-ти часовой спонтанный диурез) за день до введения амилоидогена и через 3 месяца после. По результату проведенного Congo Red Dot (CRD) теста значение коэффициента удержания комплекса краситель-амилоидоподобная структура Congo Red Retention (CRR, %) у крыс до введения амилоидогена составило (3,7±3,9) %, а после – (98,9±0,7) %, p <0,0001, тест Манна–Уитни. Согласно полученным данным CRD-тест может стать перспективной методикой для неинвазивного выявления амилоидоподобных структур в моче.

УСКОРЕННОЕ СТАРЕНИЕ У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

Е.В. Кондакова, Н.А. Лобанова, И.И. Юсипов, М.В. Иванченко, М.В. Ведунова

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

Несмотря на достижения в лечении хронической болезни почек (ХБП), показатели смертности среди данной группы людей остаются постоянно высокими. Выявление маркеров ускоренного старения и детальное понимание механизмов, лежащих в основе патогенеза ХБП, позволит определить возможные вмешательства для улучшения качества жизни пациентов. Целью данной работы явилось выявление маркеров ускоренного старения у больных с терминальной стадией ХБП. В исследовании приняли участие 163 человека, проживающие на территории Нижегородской области, включая пациентов с терминальной стадией ХБП с различным стажем гемодиализа и контрольную группу. Определение фенотипического возраста проводили с использованием модели Levine et al., 2018. Определение эпигенетического возраста проводили путем полногеномного анализа метилирования с использованием калькулятора Horvath. Для выявления факторов, связанных с ускоренным старением, определяли уровень GDF15, FGF21, FGF23 и Klotho в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа. Для характеристики иммунологического профиля проводили мультиплексный анализ 47 цитокинов. Результаты исследования фенотипического и эпигенетического возраста показали достоверно значимые различия (p<0,05) между двумя группами испытуемых. У пациентов, находящихся на гемодиализе, наблюдается возрастная акселерация по сравнению с контрольной группой. По результатам мультиплексного анализа цитокинов было выявлено 18 показателей, значительно различающихся в исследуемых группах, включая нетипичные биомаркеры, которые, предположительно, вовлечены в патогенез ускоренного старения. Также выявлены достоверно значимые различия (p<0,05) в содержании FGF21, FGF23 и GDF15 в плазме крови больных по сравнению с контрольной группой. Таким образом, показана возрастная акселерация на фоне хронического воспаления и смещения биохимических маркеров нарушения гомеостаза. Перечисленные выше факторы вовлечены в формирование фенотипа ускоренного старения, характерного для пациентов с терминальной стадией ХБП. *Работа проведена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 074-02-2018-330 «Цифровая персонализированная медицина здорового старения (ЦПМ-старения): сетевой анализ больших мультиомных данных для поиска новых диагностических, предсказательных и терапевтических целей».*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПОЧЕК СОБАК В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ И В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ Р.С. Мираков, Б. Набиев

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Рассматриваются вопросы устойчивости функциональных перестроек почек в динамике компенсаторно-приспособительных реакций в процессе адаптации к условиям высокогорья и реадaptации. Исследования проводились на 22 половозрелых собаках-самцах массой 10-14 кг. Эксперименты проведены в условиях долины (Душанбе, высота 820 м над уровнем моря), в условиях высокогорья (перевал Анзоб, высота 3375 м над уровнем моря) и после возвращения к условиям долины. После установления нормы основных функций почек в условиях долины, животные были перемещены в высокогорье, затем через месяц были перемещены в долину (Душанбе, 820 м над уровнем моря). На 3 сутки реадaptации отмечается резкое угнетение (в 1,3 раза) почечного плазмотока по сравнению с 30-ми сутками исследования в высокогорье и исходным показателем. Начиная с 10 суток реадaptации выявлялась тенденция к нормализации почечного плазмотока. Однако на 30 сутки этот показатель оставался достоверно сниженным и составил 86,6% от исходного уровня. Клубочковая фильтрация на 3 сутки реадaptации свидетельствовала о нестабильности почечного плазмотока и функции клубочков. Отмечалось почти двукратное ($p < 0,05$) снижение данного показателя ($37,9 \pm 4,4$ мл/мин) относительно исходного ($70,6 \pm 4,9$ мл/мин) и в 1,3 раза по сравнению с таковым на 30 сутки в высокогорье. В последующие сроки исследования, вплоть до завершения опыта, показатели клубочковой фильтрации постепенно возрастали. Так, на 30 сутки клубочковая фильтрация увеличивалась до $52,1 \pm 5,13$ мл/мин и составляла 74,1% ($p < 0,05$) от исходной. Канальцевая реабсорбция на 3 сутки после спуска с гор ($97,4 \pm 0,6$ мл/мин.) был выше характерного для последнего дня пребывания в горах и исходного значения (соответственно: $96,1 \pm 1,9\%$ и $94,0 \pm 1,1\%$). Начиная с 10 суток реадaptации уровень данной функции понижался. В результате этого на 30 сутки канальцевая реабсорбция практически не отличалась от таковой в долине. Фильтрационная фракция на 3 сутки после спуска с гор ($11,6 \pm 1,8\%$) было меньше такового на 30 сутки адаптации ($13,0 \pm 0,8\%$) и почти в 1,5 раза ($p < 0,05$) меньше по сравнению с исходным ($17,3 \pm 2,1\%$). Проведенные исследования показывают, что реакция на реадaptацию почти соответствует процессу адаптации.

ФИЗИОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ДЕИННЕРВАЦИИ ТОЛСТОЙ КИШКИ НА ЕЕ ИНТРАМУРАЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

М.С. Балеев¹, М.Г. Рябков², Е.Б. Киселева², М.А. Сизов¹, М.А. Сироткина², Г.Е. Шейко³, О.А. Перльмуттер³

¹Городская клиническая больница № 30; ²Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ;

³Городская клиническая больница № 39, Нижегородский городской нейрохирургический центр им. А.П. Фраермана, Нижний Новгород

Нарушение симпатической иннервации кишечника – тяжелое осложнение спинальной травмы (White A, 2020), травмы живота, хирургического повреждения нервных сплетений (Румянцев Е.Е., 2019). Клиническая картина сложна и отчасти парадоксальна: на фоне преобладающего влияния парасимпатической системы происходит подавление моторной, эвакуаторной функций толстой кишки (Middleton Z, 2018; Stoffel J, 2018). Необходимы новые знания о влиянии деиннервации на ткани кишки в остром периоде.

В эксперименте в трех группах животных (кролики, $n=6$) выполнена деиннервация толстой кишки на трех уровнях. 1 группа: модель поперечного пересечения спинного мозга на уровне T₁₂-L₁ (Новосельская Н.А., 2020); 2 группа: резекция симпатических ганглиев спинного мозга слева на уровне Th₁₀-L₂ (Xie W, 2016); 3 группа: перисосудистая адвентициальная симпатэктомия нижнебрюшечных сосудов (Байтингер В. Ф., 2020). По данным оптической когерентной ангиографии в течение 4 часов оценивали кровообращение в кишке до и после травмы. Вычисляли долю площади перфузируемых сосудов («А»,%), их суммарную длину («L», мкм). Для сравнения параметров использовали критерий Краскала-Уоллеса.

В интактной кишке «L» составил 4419 [3920; 4872] мкм. В результате травмы симпатической нервной системы на всех трех уровнях значимого уменьшения «L» в сравнении с интактной кишкой не произошло ($p=0,064$). В 1 группе «L» составил 3816 [3586; 3884] мкм, во 2 – 3463 [2682; 4474] мкм, в 3 – 3973 [3325; 4437]. Статистически значимое снижение площади сосудистой сети относительно нормы 37,3 [34,9; 39,5]% произошло при травме спинного мозга: «А» сократился до 31,5%; после спинальной симпатэктомии проявлялось снижение «А» до 28,3%; перисосудистая симпатэктомия сопровождалась снижением «А» до 34,8%.

Симпатическая деиннервация толстой кишки, независимо от уровня повреждения, в остром периоде сопровождается сокращением площади интрамуральных перфузируемых сосудов ($p=0,001$) при сохранении их общей протяженности ($p=0,064$). Максимальный эффект наблюдается при повреждении спинальных симпатических ганглиев, минимальный – при перисосудистой адвентициальной симпатэктомии. Выявленная закономерность является, возможно, триггерным механизмом энтеральной недостаточности у пациентов с повреждением иннервации кишки.

ФИТОКОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ПРИ СТАРЕНИИ

Г.А. Демченко¹, Б.А. Нурмаханова¹, С.К. Иманкулова², С.Н. Абдрешов¹, Л.Э. Булекбаева¹

¹Институт физиологии человека и животных КН МОН РК; ²Казахский национальный педагогический университет им. Абая, Алматы, Казахстан

Предыдущие исследования выявили возрастные изменения в лимфатической системе: снижение лимфотока, интерстициальной жидкости, повышение в крови и лимфе холестерина, триглицеридов, общих липидов и снижение глюкозы. Снижение лейкоцитов, нейтрофилов, CD-20В лимфоцитов в крови и лимфе и лимфоцитов в лимфе. При старении в лимфатических узлах и сосудах нервных волокон снижается синтез катехоламинов, поэтому яркость свечения этих волокон снижается, сплетения становятся прерывистыми, и исчезают варикозные утолщения. В лимфоузлах выявляются общие признаки старения, указывающие на снижение иммунореактивности его структур. Сократительная активность лимфатических сосудов и узлов угнетается. Длительное применение фитосбора из лекарственных трав флоры РК, показало усиление дренажной и иммунной функций лимфатической системы, снижение атерогенных свойств и улучшало текучесть биологических жидкостей в сосудах. Выявила стимулирующий эффект флавоноидов на выработку катехоламинов в нервных волокнах лимфатических сосудах и узлах, стимулировало транспортную составляющую лимфатических сосудов и узлов. Фитокоррекция определяла стабилизирующий эффект структурных компонентов лимфатических узлов и водного гомеостаза в лимфатическом регионе и повышала дренажно-детоксикационную функцию лимфатических узлов геронтов и как следствие сохраняла у них сократительную функцию. Повышала иммунную функцию лимфатических узлов, восстанавливала их микроструктуру. Фитокомпозиция показала увеличение лимфостимулирующих, лимфокорректирующих и лимфопротекторных свойств лимфатической системы.

СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ СОБАК

С.С. Ибраева, К.М. Хамчиев, Ж.А. Рахимжанова, Г.К. Сагимова, Н.Б. Аскарлова

Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Казахстан

Функции как целостного организма, так и составляющих его систем, органов, тканей и других структурных образований тесно связаны с функциями лимфатических узлов. Амплитуда и частота сокращений лимфатических узлов зависит от состояния транскапиллярного обмена. Система лимфообращения, как известно состоит из лимфатических сосудов и узлов, в связи с этим, ритмические сократительные движения лимфатических узлов обеспечивают гомеостаз и адаптацию организма (Булекбаева Л.Э., Демченко Г.А.). Целью настоящего исследования является изучить суточные изменения морфометрических показателей висцеральных лимфатических узлов (ЛУ) собак. Морфометрическим методом точечного счета с помощью стоточечной сетки Автандилова Г.Г. определяли ИК/М – индекс соотношения объемной доли корковой зоны к объемной доле мозговой зоны лимфатических узлов. Полученные результаты показывают, что объемные отношения коркового вещества печеночных ЛУ животных в утреннее время суток возрастают до 100%, ночью снижаются до 53%. В мозговом веществе объемные отношения почечных ЛУ в утреннее время повышаются до 100%, ночью этот показатель снижается до 67%. Показатель К/М индекса ЛУ печени ночью составляет 113%, затем постепенно снижается и днем составляет 76%. В мозговом и корковом веществе ЛУ печени собак объемные отношения в утреннее время повышаются, ночью этот показатель снижается. Объемные отношения коркового вещества почечных ЛУ животных в утреннее время суток возрастают до 100%, ночью снижаются до 51%. В мозговом веществе объемные отношения почечных ЛУ в утреннее время повышаются до 100%, вечером этот показатель снижается до 76%. Показатель К/М индекса к вечеру составляет 115%, затем постепенно снижается и к ночи его величина соответствует 54%. Показатель К/М индекса ЛУ брыжейки, печени и почек в дневное время суток увеличивается, в утренние часы имеет тенденцию к снижению. По результатам микроскопических исследований выявлено сужение просвета артериол корковой зоны лимфатических узлов собак в вечернее время суток. Контрактурное сокращение волокон капсулы брыжеечных лимфатических узлов явно выявляется в дневное время. Расширение перифолликулярных синусов лимфатических узлов печени явно выявляется в утреннее время. Приближенная часть лимфоидных фолликулов корковой зоны лимфатических узлов брыжейки наиболее выражена в дневное время. По результатам микроскопических изменений собак все исследованные ЛУ на протяжении суток при разной степени сокращения выявили однотипный характер структурных изменений: расширение периферических синусов, расширение промежуточных и медуллярных синусов, расширение сосудов корковых и мозговых зон и их кровенаполнение, также сужение просвета артериол. В соответствии с поставленными задачами научных исследований, установлено увеличение К/М индекса в утреннее и вечернее время суток и резкое его снижение в ночное время суток. В дневные часы К/М индекс приближается к 1,0. В ночное время суток показатели ритма ЛУ почек имели тенденцию к снижению. Таким образом, можно предположить, что суточные изменения К/М индекса тесно связаны с нервной регуляцией лимфы, а также снижением функциональной активности отдельных органов в ночное время суток. Суточные морфологические изменения лимфатических узлов собак находятся в прямой зависимости от различных изменений, происходящих в сосудах, синусах, корковом и мозговом веществе лимфатических узлов. Особенности суточных показателей сокращения лимфатических узлов животных способствуют объединению морфологической характеристики с физиологическими воздействиями изолированных лимфатических узлов.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОБИОСТИМУЛЯЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

В.И. Козлов, В.В. Асташов

Российский университет дружбы народов, ГНЦ лазерной медицины им. О.К. Скобелкина, Москва

Современное развитие лазерной медицины показывает, что в основе взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями лежат фотобиологические механизмы, обусловленные прежде всего волновыми свойствами светового потока и дозой его воздействия. Доказана чувствительность биообъектов к определенной длине волны низкоинтенсивного лазерного

излучения (НИЛИ), что служит основанием для его широкого использования в терапевтической практике. Среди ведущих механизмов активации фотохимических реакций рассматривается фотодинамический эффект, основанный на образовании в клетках синглетного кислорода под влиянием поглощенного лазерного излучения, а также возможность акцепции железо- и медь-содержащими ферментами квантов в красной области спектра. Рассмотрены уровни фотоактивации в организме; молекулярные механизмы усиления фотосигнала в клетке и повышения их функциональной активности. Установлено, что фотоактивация микроциркуляции, включая гемоциркуляторную и лимфотропную компоненты, является одним из ключевых моментов в патофизиологическом механизме реакции организма на лазерное воздействие. Данный ответ системы микроциркуляции на лазерное воздействие развивается по механизмам срочной адаптации и сопряжен с фотоактивированным подавлением тонуса гладких миоцитов в артериолах и повышением локальной вазомоции прекапиллярных артериол. Проанализированы факты зависимости реакции микрососудов от дозы лазерного воздействия и установлено, что при превышении допустимых доз лазерного воздействия возникают дисфункциональные изменения в системе микроциркуляции. Терапевтический «коридор» воздействия на микроциркуляцию крови в ИК-диапазоне шире, чем в красной области спектра. Приведены данные позитивного влияния лазерного воздействия на коррекцию расстройств микроциркуляции у больных с хроническими поражениями сосудов нижних конечностей, а также при различных заболеваниях слизистой оболочки рта. Показано протекторное действие лазерного излучения на организм, в основе которого лежит механизм предстимуляции, а также лимфотропное действие НИЛИ приводит к изменениям объема рециркуляции лимфоцитов и цитоархитектоническим преобразованиям тимуса и других лимфоидных органов, степень выраженности которых зависит от длины волны лазерного излучения. *Работа выполнена по Программе РУДН «Проект 2030»; тема 030211-0 -000.*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АРГИНИНА НАТРИЯ СУКЦИНАТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.Л. Коваленко¹, Н.А. Лычева^{1,2}

¹ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Исследование выполнили на 164 крысах самцах линии Вистар, хроническое нарушение мозгового кровообращения (ХНМК) моделировали путем стенозирования общих сонных артерий с уменьшением кровотока на 60%. Патология формировалась в течение 40 дней, после чего в течение 10 дней вводили аргинина натрия сукцината в дозах 588 или 1176 мг/кг или физиологический раствор в объеме, эквивалентном максимальной дозе для введения. В ходе исследования оценивали неврологический дефицит, уровень локального мозгового кровотока методом лазерной доплерографии, выраженность эндотелиальной дисфункции мозговых сосудов по анализу относительных изменений уровня мозгового кровотока по сравнению с исходным уровнем в ответ на внутривенное введение модификаторов синтеза эндогенного оксида азота: ацетилхолина (0,01 мг/кг) и нитро-L-аргинина метиловый эфир (10 мг/кг), количество десквамированных (циркулирующих) эндотелиальных клеток в крови определяли по методу Hladovec J., проводили гистологическую оценку повреждений пирамидального слоя коры головного мозга при окрашивании срезов по Нисслю. Хроническая гипоперфузия головного мозга, вызванная 60% стенозом общих сонных артерий, приводила к ухудшению функционального состояния эндотелия мозговых сосудов, формированию умеренного психоневрологического дефицита, который проявлялся снижением двигательной, исследовательской активности, сенсорно-моторными и координационными нарушениями экспериментальных животных. Аргинина натрия сукцинат при ежедневном введении в течение 10 дней в условиях ХНМК уменьшал число десквамированных эндотелиоцитов, улучшал вазодилатирующую функцию эндотелия и повышал уровень мозгового кровотока, что способствовало снижению выраженности психоневрологического дефицита у животных с ХНМК: уменьшению двигательных, координационных сенсорно-моторных нарушений. При оценке гистологического строения пирамидального слоя коры головного мозга установили, что коррекция нарушений мозгового кровообращения аргинина натрия сукцинатом в дозе 588 мг/кг приводила к значимому снижению численной плотности поврежденных нейронов не только в моторной, но и соматосенсорной области коры. Еще большее увеличение дозировки до 1176 мг/кг не приводило к дальнейшему снижению численной плотности слабо и умеренно поврежденных нейронов церебральной коры.

РОЛЬ Na⁺,K⁺,2Cl⁻-КОТРАНСПОРТА И ИОНОВ Ca²⁺ В РЕГУЛЯЦИИ ОБЪЕМ-ЗАВИСИМОЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ СЕГМЕНТОВ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ

В.С. Гусакова, Л.В. Смаглий, Е.А. Голованов, Т.Н. Зайцева, Ю.Г. Бирулина, С.В. Гусакова

Сибирский государственный медицинский университет М РФ, Томск

Ионные каналы, обменники и переносчики участвуют в регуляции объема клеток [Hoffmann E. K. et al, 2009; Orlov S.N. et al, 2017]. Роль Na⁺,K⁺,2Cl⁻ котранспорта была показана в механизмах сократительной активности гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов большого круга кровообращения [Anfinogenova Y. J. et al, 2004]. На клетках эпителиального происхождения показано увеличение концентрации внутриклеточного Ca²⁺ в процессе набухания клетки, которое опосредовано активацией нескольких типов каналов [Toft-Bertelsen T. L. et al, 2017; Wehner F. et al., 2013]. Цель работы: исследовать роль Na⁺,K⁺,2Cl⁻ котранспорта и Ca²⁺ в сократительной активности при изменении объема ГМК сосудов малого круга кровообращения. Сократительную активность изолированных гладкомышечных сегментов легочной артерии крыс исследовали методом механографии. Предобработка сегментов блокатором Na⁺,K⁺,2Cl⁻ котранспорта буметанидом (50 и 100 мкМ) приводила к повышению амплитуды гиперосмотического и изоосмотического сокращений, тогда как величина гипоосмотически-индуцированного сократительного ответа снижалась. Нифедипин не изменял величину механического напряжения, индуцированного гиперосмотическим раствором, снижал амплитуду гипоосмотически-индуцированного сократительного ответа и увеличивал амплитуду изоосмотического сокращения. Бескальциевый ЭГТА-содержащий гиперосмотический раствор приводил к увеличению амплитуды сократительного ответа. Наблюдалось снижение амплитуды сократительной реакции на изоосмотическую стрижку

в бескальциевом ЭГТА-содержащем растворе. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гипоосмотическое сокращение и изоосмотическая стрижка ГМК в значительной степени реализуются за счет поступления Ca^{2+} из внеклеточной среды по нифедипин – нечувствительным Ca^{2+} -каналам. Сохранение сократительных реакций ГМК в бескальциевом растворе, может указывать на участие в изоосмотической стрижке Ca^{2+} , депонированных в саркоплазматическом ретикулуме и/или о вовлечении механизмов, изменяющих чувствительность сократительного аппарата ГМК к Ca^{2+} . Na^+ , K^+ , 2Cl^- котранспорт вовлечен в регуляцию объем-зависимой сократительной активности ГМК легочной артерии крысы. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-44-70009.

ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СОСУДОВ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА ВО ВРЕМЯ ОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ПРОБЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Е.М. Лесова, В.Н. Голубев, Ю.Н. Королев, К.Г. Стрельцова

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Показаны различные гемодинамические реакции в условиях гипоксии (10% кислорода в газовой смеси) на ортостатическую пробу (проводимой согласно Вестминстерскому протоколу) в зависимости от исходного преобладающего влияния симпатического (первая группа испытуемых) или парасимпатического (вторая группа) отделов вегетативной нервной системы. В ответ на гипоксическую нагрузку в первой группе общее периферическое сопротивление (ОПСС) увеличивалось или не изменялось, а минутный (МОК) и ударный (УОК) объемы крови уменьшались; во второй группе – ОПСС понижалось, а МОК и УОК увеличивались. В обеих группах были проведены исследования реовазографии нижних конечностей. Кровенаполнение сосудов нижних конечностей у испытуемых первой группы значительно уменьшается под воздействием ортостатической нагрузки (реографический индекс (РИ) снижается на 58,4% в области голени, и на 42,9% – в области стопы), и гипоксия (дальнейшее снижение на 36,5% в сосудах голени). Во второй группе наблюдается меньшее снижение РИ (в области голени – на 32,9% и на 22,5% в области стопы) во время ортостатической пробы, а гипоксия способствует увеличению кровенаполнению в области голени. Тонус артерий среднего и мелкого калибра во второй группе был ниже, чем в первой группе (по показателю периферического сопротивления сосудов (ППСС), а гипоксия оказывает существенное влияние на данный показатель. Тонус артерий распределения в первой группе в ответ на оба воздействия повышается сильнее, чем во второй группе (максимальная скорость быстрого кровенаполнения – МСБКН снижается при ортостазе на 46,4%, в условиях гипоксии – на 31%). Во второй группе МСБКН снижается только в области стопы. Снижение МСБКН во время гипоксии объясняет резкое уменьшение УОК в ответ на это воздействие в первой группе. Отток крови был затруднен при ортостатической нагрузке в обеих бассейнах и обеих группах, поскольку повышался диастолический индекс (ДСИ). Гипоксия затрудняла кровоотток только в области стопы у испытуемых второй группы (ДСИ повышался до 43%). Таким образом, адаптация у испытуемых второй группы к ортостазу в условиях гипоксии происходит за счет дополнительной активации констрикторных реакций мелких резистивных сосудов.

ФИЗИОЛОГИЯ СЕРДЦА

РОЛЬ ПОЛЯ КЛАСТЕРНОГО ПОТЕНЦИАЛА В СИНХРОНИЗАЦИИ АКТИВНОСТИ ПЕЙСМЕКЕРНЫХ КЛЕТОК СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА

И.Н. Полуниин, Л.И. Наумова, А.И. Полуниин, В.Р. Горст, Н.И. Иванова

Астраханский государственный медицинский университет МЗ РФ, Астрахань

В 120 опытах на изолированных сердцах кроликов и куриных эмбрионов проводилась регистрация авторитмической активности пейсмерных клеток синоатриального узла. Использовались плавающие спаренные стеклянные микроэлектроды с расстоянием между остриями от нескольких микрометров до несколько десятков микрометров. Применяемый метод позволил провести запись трансмембранных потенциалов от различных пар пейсмерных клеток, локализованных в пределах одного и разных кластеров, от однотипных по характеру авторитмической активности клеток: только истинных, только латентных водителей ритма, только пуркинеподобных клеток, а также одной, относящейся к истинным водителям, второй – пуркинеподобной клетке; одной, относящейся к латентным, другой – к пуркинеподобным или предсердным; одной, генерирующей обычные потенциалы, другой – потенциалы с «ступом». Следует отметить, что по началу систолической деполяризации истинные водители ритма опережают внутриклеточные потенциалы латентных водителей ритма на $24,0 \pm 2,4$ мс; опережение истинными водителями ритма пуркинеподобных клеток – $32,5 \pm 2,5$ мс. Однако, опережение истинными водителями ритма компенсировалось далее быстрой систолической деполяризацией латентных и пуркинеподобных клеток. Поэтому завершение фазы систолической деполяризации у этих клеток происходило одновременно у всех клеток синоатриального узла. Статистическая обработка результатов всех записей авторитмической активности показала, что по электрическим параметрам авторитмическая активность всех видов сино-атриальных клеток осуществляется строго синхронно и это определяет возникновение магнитного поля – тонкоэнергетического поля кластерного потенциала, пронизывающего всю клеточную массу сино-атриального узла, обеспечивая его функциональную добротность.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРИАбельНОСТИ ВОЛНОВОЙ СТРУКТУРЫ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Ж.А. Рахимжанова, К.М. Хамчиев, С.С. Ибраева, Ф.М. Сулейменова, А.К. Жиенгалиева

Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Казахстан

Изучение вариабельности сердечного ритма (ВСР) получило широкое распространение в научно-исследовательской, но ограниченное применение в практической деятельности. Что связано в первую очередь с достаточно большой вариабельностью абсолютных величин, получаемых при таком анализе, как для совокупной выборки, так и для одного и того же человека. Целью исследования проведенного явилось изучение вероятных причин высокой вариабельности показателей рассчитываемых при анализе ВСР.

В исследовании принимали участие студенты с различным уровнем физической подготовки. Исследования включали кардиограмму, с проведением функциональных проб – активной ортоклиностагической, дыхательной с фиксированным дыханием (5-6 раз в минуту), с задержкой дыхания с использованием аппаратно-диагностического комплекса «Валента».

При проведении длительных исследований (несколько функциональных проб, КРГ в покое в нескольких повторениях) все показатели стабилизировались и индивидуальные различия не превышали 15-20 %. Также была выявлена особенность, что при малой частоте дыхательных движений 9 и менее в минуту часть волн, обусловленная парасимпатическим влиянием (дыхательные волны) фиксируются в спектре медленных волн 2 порядка, так как имеют частоту менее 0,1 Гц. Это связано с тем, что дыхание, так же как и сердечный ритм не является абсолютно стабильным и при частоте дыхания менее 9 раз в минуту некоторые дыхательные акты могут иметь продолжительность более 10 с.

Таким образом, нами выявлены две вероятные причины высокой вариабельности показателей спектрального анализа ВСР, приводимых в различных литературных источниках – влияние волнения при обследовании и дефектов записи, связанных с осуществлением некоторых физиологических процессов. При этом выявленные факторы, искажающие волновую характеристику КРГ, отражаются не только на абсолютных, но и на относительных величинах.

МЕНЕДЖМЕНТ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЦА В ТРУДАХ АБУ АЛИ ИБН СИНО «СЕРДЕЧНЫЕ ЛЕКАРСТВА», «КАНОН ВРАЧЕБНОЙ НАУКИ»

И.Д. Кароматов, Х.Н. Каюмов

Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан

В произведениях Абу Али ибн Сино – Авиценны «Канон врачебной науки» и «Сердечные лекарства» сердце представлено не только как орган, движущий кровь, но и как орган, в котором образуется субстанция духа. У Авиценны нет описания малого круга кровообращения.

Диагностика заболеваний сердца у Абу Али ибн Сино основана на учении о 4 первоэлементах, жидкостях, темпераменте греческой медицины. Соответственно этому учению различают холодные, горячие, сухие и влажные заболевания сердца. Также определяются заболевания сердца с преобладанием одной из жидкостей крови, флегмы, желтой и черной желчи. К заболеваниям сердца отнесены не только сердечно-сосудистые заболевания, но и заболеваниями, которые современная медицина относит к невротическим нарушениям, психическим расстройствам.

В произведениях Абу Али ибн Сино есть описания заболевания, возникающие из-за «закупорок» в сосудах сердца, которые современным языком определили бы как атеросклероз. Горячие заболевания сердца можно идентифицировать современной медициной как артериальная гипертензия.

Лечение заболеваний сердца производит на основании учении о 4 первоэлементах. Для лечения этих заболеваний Авиценна использовал такие методы как кровопускание, массаж. Лекарственные средства представлена препаратами натурального происхождения – лекарственных трав, продуктов минерального и животного происхождения.

Анализ менеджмента заболеваний сердца в трудах Абу Али ибн Сино дает возможность к открытию новых лекарственных средств сердечно-сосудистых и психических заболеваний.

ФИЗИОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА НА ПОВЕРХНОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНО ОКРАШЕННОГО АПТАМЕРА

П.П. Авдонин¹, С.К. Труфанов¹, А.А. Цитрина¹, Е.Ю. Рыбакова¹, Н.В. Гончаров^{2,3}, П.В. Авдонин¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Колюцова РАН, Москва; ²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; ³НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Ленинградская обл., г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово

Фактор Виллебранда (ФВ) обеспечивает поддержание гемостаза в микрососудистом русле. В эндотелиальных клетках ФВ находятся в органеллах сигарообразной формы – тельцах Вейбеля-Паладе. Мультимерные молекулы ФВ массой 20 и более миллионов дальтон свёрнуты в компактные спирали. При экзцитозе происходит раскручивание и экспонирование молекул ФВ на поверхности ЭК в виде одиночных или переплетенных нитей длиной до десятков и сотен микрон. Металлопротеаза ADAMTS-13 расщепляет гигантские мультимерные молекулы ФВ до менее крупных мультимеров и олигомеров, которые уходят в кровоток. Нарушение этого процесса в результате повышенного экзцитоза ФВ и/или снижения активности ADAMTS-13 может приводить к накоплению на поверхности эндотелия нитей из гигантских мультимеров ФВ, адгезии на них тромбоцитов и инициации образования тромбов в микрососудах. Вызванное избытком ФВ образование тромбов наблюдается

при ряде заболеваний, в том числе при коронавирусной инфекции. В связи с этим актуальным является исследование вопроса о том, каким образом регулируется экспрессия ФВ на мембране ЭК. Определение экспрессии ФВ на мембране ЭК проводится после фиксации клеток методом иммунофлуоресцентного анализа. Нами предложен подход для количественного определения ФВ непосредственно в живых ЭК с использованием конъюгата аптамера ARC1779 с флуоресцентной меткой Cy5. В контрольных клетках секретируемые мультимерные комплексы ФВ при окраске их конъюгатом ARC1779-Cy5 видны как яркие точечные структуры округлой и неправильной формы. Число этих структур многократно увеличивается при воздействии на ЭК активаторов секреции ФВ гистамина и тромбина, а также пероксида водорода в концентрации, ниже цитотоксической. Кроме того, ARC1779-Cy5 выявляет на поверхности активированных ЭК гигантские мультимеры ФВ, развёрнутые в виде длинных нитей. Полученные данные подтверждают ранее высказанную нами гипотезу о роли H_2O_2 в качестве посредника, активирующего экзоцитоз телец Вейбеля-Паладе и секрецию ФВ в эндотелии сосудов при воспалении и индукции образования эндогенных активных форм кислорода в ЭК. *Работа поддержана РФФ (грант №21-15-00441).*

ГЕМОГЛОБИНЫ КОСТНОГО МОЗГА И ВОСПАЛЕНИЕ

С.А. Бриллиант^{1,2}, Б.Г. Юшков^{1,2}

¹Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; ²Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург

В последние годы формируется представление о гемоглобине как сложной гетерогенной системе различных его изоформ, имеющих уникальные структурные, физико-химические и функциональные особенности, которая функционирует как единое целое и её отдельные компоненты взаимосвязаны. Эта система, наряду с транспортом газов и обеспечения буферной функции, участвует также в регуляции функций путем выделения физиологических пептидов и занимает заметное место в реакциях защиты и адаптации. В настоящее время изучены и описаны первичные структуры более 600 гемоглобинов. В крови одного организма присутствует несколько гемоглобинов, иногда близких по свойствам, а иногда сильно различающихся по структуре и функциям, которых принято называть изоформами. Следует отметить и тот факт, что изменение соотношения между изоформами гемоглобина выступает в качестве механизма адаптации организма к воздействию экстремального фактора. Известно, что в эритроцитах периферической крови гемоглобин подвергается полимеризации и протеолизу. Однако не ясно как изменяется соотношение между изоформами в костном мозге. На модели острого асептического воспаления (ОАВ) показано, что в костном мозге крыс на 6 ч после начала процесса снижаются доли гемоглобинов 1, 2 белковых фракций и возрастает содержание гемоглобинов 3 и 6. На 2 сут уровень 4, 5, 6 белковых фракций увеличивается, а 1, 2, 3 снижается. На 4 сут отмечается падение 2, 3 изоформ и рост 4, 5. В гемоглобиновом профиле периферической крови при ОАВ на 6 ч отмечается снижение содержания 1, 2 изоформы и увеличение количества гемоглобинов 5, 6. На 2 сут после ОАВ наблюдается повышение содержания гемоглобина 4 белковой фракции и уменьшение гемоглобина 1, 2, 6. На 4 сут снижено содержание 3 изоформы. Увеличение 5,6 изоформ гемоглобина при уменьшении доли 3 фракции в крови можно объяснить полимеризацией. Таким образом, в ходе проведенного исследования было показано, что изменения изоформ гемоглобина костного мозга при моделировании воспаления характеризуются возрастанием фракций с кислотоустойчивыми свойствами. Сдвиги в изоформах гемоглобина костного мозга при данном экстремальном воздействии обусловлены изменениями физико-химических свойств пигмента в циркулирующих клетках и восстановлением популяции эритроидных клеток, отличающихся по своему происхождению.

СИСТЕМНАЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФИБРИН-МОНОМЕРА ПРИ ТРАВМЕ ПЕЧЕНИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИКОАГУЛЯНТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.М. Вдовин¹, А.П. Момот², И.И. Шахматов¹, Д.А. Орехов, Н.А. Лычёва¹, В.О. Красюкова¹

¹Алтайский государственный медицинский университет МЗ РФ; ²Алтайский филиал НМИЦ гематологии МЗ РФ, Барнаул

Цель работы – оценить гемостатические, гемостазиологические и морфологические проявления применения экзогенного фибрин-мономера у гепаринизированных животных при дозированной травме печени. На кроликах-самцах «Шиншилла» моделировали гипокоагуляцию нефракционированным гепарином (НГ) (в/в, доза 150 ед/кг). Профилактику посттравматического кровотечения осуществляли введением экзогенного фибрин-мономера (ФМ) (в/в, доза 0,25 мг/кг) за 1 час до травмы или протамина сульфатом (ПС) (в/в, доза 1,5 мг/кг) за 10 минут до травмы. Оценивали влияния плацебо, ПС и ФМ на показатели системы гемостаза. После нанесения дозированной травмы печени измеряли объем кровопотери в % от ОЦК. Ткани печени в области раневой поверхности для гистологических исследований получали после спонтанной остановки кровотечения. У гепаринизированных животных группы плацебо наблюдалась повышенная кровопотеря, с гибелью 35 % животных, на фоне выраженной гипокоагуляции и снижении генерации тромбина. Предварительное введение антидота НГ – ПС минимизировало посттравматическую потерю крови (в 4,0 раза по сравнению с плацебо), повышало выживаемость животных (до 93 %) и привело к восстановлению гемостатического потенциала. Гистологические исследования показали, что это достигалось увеличением толщины тромботических масс в области раневой поверхности (в 15,1 раза по сравнению с плацебо). Сопоставимый гемостатический эффект наблюдался при введении ФМ: уменьшение кровопотери в 5,1 раза по сравнению с плацебо и сохранение жизнеспособности животных (96 %). При этом применение ФМ не сопровождалось коррекцией гипокоагуляционного сдвига и восстановлением генерации тромбина. В зоне травмы обнаружено менее выраженное фибринообразование по сравнению с ПС: толщина тромботических масс 55,2 мкм против 201,8 мкм при применении ПС ($p < 0,0001$) и наличие в тромботических массах многочисленных агрегатов тромбоцитов, при минимальном их числе в просветах сосудов рядом с раневой поверхностью. Полученные результаты позволяют обозначить возможный механизм системного гемостатического эффекта ФМ и расширяют представления о новых терапевтических возможностях снижения посттравматической кровопотери при использовании гепарина. *Исследование поддержано грантом РФФИ (проект № 18-415-220001).*

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

С.И. Мамедова

Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан

Кровь, с её составными частями, являясь внутренней средой организма, отражает в своём составе его обменные реакции, происходящие в тесном взаимодействии с внешней средой. Взаимоотношения организма и внешней среды у всех позвоночных животных осуществляется с помощью нервной системы. Сдвиги в составе крови, которые постоянно происходят под влиянием самых различных внешних воздействий, осуществляются, в основном благодаря рефлекторным воздействиям через нервную систему. Это в одинаковой степени относится и к химическим, и к клеточным составным частям крови. Целью наших исследований было изучение влияния различных препаратов на форменные элементы крови сазана, в частности гемоглобина и эритроцита. Максимальная длина сазана может достигать 100-105 см. Половая зрелость наступает в возрасте 3-4 лет. В наших исследованиях использовался 6-ти месячный сазан. Вес сазана составлял 40-45 г, длина 20-25 см. С целью недопустимости стресса, исследуемые экземпляры рыб были помещены в аэрируемые ёмкости. Среднесуточная температура воды в ваннах, где содержались подопытные рыбы, составляла 18-20°C, рН воды 7,1, содержание в воде кислорода составляло 7 мг/л. Проводилась непрерывная аэрация. Перед началом исследований мы определили летальные концентрации для препаратов Ammorphos, Kistalon, которые мы используем в наших исследованиях по методу Dj. Finney. Отслеживание поведенческих реакций и взятие материала для проведения гематологического анализа осуществлялось для каждой концентрации, которое для Ammorphos составило 97,21 мг/л, Kistalon 265,18 мг/л. В результате проведённых исследований мы выяснили, что денные препараты вызывают нехватку кислорода, которая выражается в частом открытии и закрытии жаберных крышек. Также под воздействием этих препаратов происходит снижение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, которые связаны с чувствительностью клеток эритроцитов к цитотоксическому эффекту, которые вызывают эти препараты. При этом происходит подавление процесса эритропоэза. Показатель концентрации гемоглобина в крови отражает возможности снабжения организма кислородом. Однако, при воздействии различных веществ в результате повреждения жабр содержание кислорода в крови падает и возникает анемия.

МИКРОЧАСТИЦЫ КЛЕТОК КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С КОАГУЛОПАТИЯМИ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

О.В. Сироткина^{1,2,3}, А.И. Ермаков⁴, Ю.И. Жиленкова², Е.А. Золотова², А.С. Улитина³, М.А. Симакова², Л.Б. Гайковская⁴, Т.В. Вавилова²

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»;

²НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ; ³Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

им. И.П. Павлова МЗ РФ; ⁴Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Воспалительные процессы и тяжелые инфекции активируют систему гемостаза и оказывают повреждающее действие на эндотелий сосудов. Активация гемостаза сопровождается образованием внеклеточных микровезикул. Цель работы: проанализировать количество микровезикул, отделившихся от клеток крови и эндотелия сосудов, у пациентов с коагулопатией различного генеза и у здоровых добровольцев. Материалы и методы: в исследование включены мужчины и женщины от 21 года до 79 лет: пациенты с тромбозом легочной артерии в анамнезе (ТЭЛА, 11 человек), больные COVID-19 (18 человек) и добровольцы без признаков ОРВИ, сердечно-сосудистых и тромбозных эпизодов в анамнезе (12 человек). Всем был выполнен клинический анализ крови, измерено количество микровезикул с использованием Echo-FACS (HansaBioMed Life Sciences, Эстония) и флуоресцентно меченых антител к поверхностным маркерам клеток CD41(тромбоциты), CD45(лейкоциты), CD235a(эритроциты) и CD105(эндотелиоциты) на проточном цитометре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США). Результаты: количество микровезикул и экзосом (CD9+) увеличено у пациентов по сравнению с контролем: 82.9[69.9;93.7], 89.2[82.3;96.4] и 56.2[50.5;73.5] в группе ТЭЛА, COVID-19 и контрольной группе, соответственно (p=0.02 ТЭЛА vs контроль и p=0.00001 COVID-19 vs контроль). У ТЭЛА и COVID-19 преобладали микровезикулы тромбоцитарного происхождения: 44.8[28.9;64.1] и 45.4[40.6;58.4], соответственно, что в 4 раза отличалось от контроля – 10.1[7.85;22.7] (p<0.01). Кроме того, у COVID-19 выявлено большее число микровезикул лейкоцитарного происхождения 14.2[12.7;15.7] vs 1.4[1.15;2.95] в контроле (p=0.00008) и 0.4[0.3;0.5] у ТЭЛА (p=0.0005). Также у COVID-19 число CD45+ микрочастиц коррелировало с числом лейкоцитов. Количество микрочастиц эритроцитарного и эндотелиального происхождения существенно не отличалось: 1.3[0.6;1.5], 0.7[0.5;1.1], 0.35[0.3;0.6] для CD235a+ и 0.2[0.1;0.2], 0.25[0.2;0.3], 0.4[0.3;1.2] для CD105+ микровезикул у ТЭЛА, COVID-19 и контроля, соответственно. Увеличение числа микрочастиц клеток крови как у пациентов с тромбозными осложнениями, так и у больных с тяжелой вирусной инфекцией может объяснять патофизиологический механизм активации системы гемостаза и служить маркером развития коагулопатии. *Поддержано РФФИ № 20-04-00257.*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Ю.Г. Бирулина¹, И.В. Петрова¹, Е.Е. Буйко¹, В.В. Иванов¹, О.А. Трубачева², Р.Р. Шайбекова¹, А.В. Григорьева¹, С.В. Гусакова¹

¹Сибирский государственный медицинский университет; ²НИИ кардиологии ТНМИЦ РАН, Томск

Комплекс изменений, выявляющихся при метаболическом синдроме (МС), зачастую приводит к гемореологическим нарушениям. Развитие последних обусловлено структурно-функциональными перестройками эритроцитов и тромбоцитов. Целью исследования явилось изучение проводимости Gardos-каналов мембраны эритроцитов и агрегационной способности тромбоцитов при МС. Экспериментальная модель МС выполнена на крысах-самцах Wistar (23 крысы, возраст 6 недель), которые были рандомизированы на контрольную и экспериментальную группы. Крысы контрольной группы содержались на стандартной диете. Животные экспериментальной группы получали высокожировую и высокоуглеводную диету в течение 12 недель.

Материалом исследования являлись упакованные эритроциты и обогащенная тромбоцитами плазма крови. Потенциометрическим методом изучали изменение активности Gardos-каналов мембраны эритроцитов, турбидиметрическим методом – агрегацию тромбоцитов. Оценивали амплитуду гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов в ответ на действие системы аскорбат–феназаметосульфат (ФМС); скорость и степень агрегации тромбоцитов в условиях ее индукции коллагеном (2 мкг/мл). Спектрофотометрически ($\lambda=412$ нм) в лизате эритроцитов определяли уровень общего, окисленного и восстановленного глутатиона. Установлено, что у крыс, получавших высокожировую и высокоуглеводный рацион, амплитуда ГО эритроцитов, стимулированного системой аскорбат–ФМС, повышалась по сравнению с данными контрольной группы. Уровень общего глутатиона в эритроцитах, полученных от животных с МС, был достоверно снижен в 1,5 раза по сравнению с контрольными значениями за счет снижения содержания восстановленного глутатиона (GSH). Уровень GSH в контрольной группе животных превышал уровень в экспериментальной группе в 2 раза. У животных экспериментальной группы также отмечалось статистически значимое увеличение степени и скорости агрегации тромбоцитов, вызванной коллагеном. Полученные результаты свидетельствуют, что при МС наблюдается повышение проницаемости мембраны эритроцитов для ионов калия и коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов. *Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (МК-143.2020.4).*

ПЛАЗМЕННЫЙ УРОВЕНЬ ТРОМБОМОДУЛИНА У КОСМОНАВТОВ ДО И ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ

Д.С. Кузичкин, И.А. Ничипорук, А.А. Маркин, О.А. Журавлева, Т.В. Журавлева, Л.В. Вострикова, А.Ю. Кочергин, И.В. Заболотская

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Введение. Известно, что действие факторов космического полета (КП) на организм человека может приводить к развитию дисфункции эндотелия [Navasiolava M., et al., 2020]. Как изменяются при этом антикоагулянтные свойства эндотелиальных клеток (ЭК) практически не изучено. Целью данной работы являлось исследование плазменного уровня тромбомодулина (ТМ) при воздействии факторов КП. ТМ является регулятором конечного этапа фибринообразования и активации физиологического антикоагулянта – протенина С [То Т., 2019]. Присутствие растворимого фрагмента ТМ в плазме иногда рассматривают как признак повреждения эндотелия, хотя он также обладает кофакторной активностью для связывания тромбина и активации протенина С [Ohlin A.K., 2005] и опосредованной антифибринолитической активностью [Hosaka Y., et al., 1998]. Материалы и методы. В исследовании принимали участие 15 космонавтов мужского пола в возрасте от 37 до 60 лет. Взятие венозной крови осуществлялось в фоновом периоде за 30–45 суток до старта, а также на 1-е и 7-е сутки периода восстановления (ПВ). Концентрацию ТМ в цитратной плазме космонавтов определяли стандартным иммуноферментным методом. Оценка динамики изменений в ходе до- и послеполетных обследований выполнялась с использованием критерия Уилкоксона. Результаты и обсуждение. Во все сроки обследования значения ТМ находились на нижней границе референтного интервала (3,5–8,3 нгмл [Ohlin A.K., 2005]) или незначительно выходили за ее пределы. Концентрация ТМ была статистически значимо ($p=0,031$) снижена (на 8,33%) на 1-е сутки ПВ. На 7-е сутки ПВ плазменный уровень ТМ статистически значимо не отличался от фона. Вероятно, имеет место снижение экспрессии ТМ при действии факторов КП. Известно, что интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) подавляет иРНК ТМ [Anastasiou G., et al., 2012], а во время КП наблюдается повышение уровня ИЛ-1 β [Buchneim J-I., et al., 2019]. Заключение. Таким образом, повышения уровня ТМ в плазме после действия перегрузок выведения с орбиты и связанного с этим повреждения эндотелия не отмечается, а наблюдаемое снижение плазменного уровня ТМ после КП может указывать на подавление его синтеза, приводящее к ослаблению антикоагулянтного потенциала эндотелия. Не исключено, что при действии факторов КП ослаблялись не связанные с повреждением ЭК механизмы высвобождения ТМ.

УЧАСТИЕ ЛИЗИН-СОДЕРЖАЩИХ ОЛИГОПЕПТИДОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФИБРИНОЛИЗА

Т.А. Шубина¹, М.Е. Григорьева¹, Т.Ю. Оберган¹, Л.А. Ляпина¹, Н.Ф. Мясоедов², Л.А. Андреева²

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет; ²НИЦ «Курчатовский институт» – Институт молекулярной генетики, Москва

Проводилось исследование лизинсодержащих олигопептидов, направленное по выявлению их регуляторного действия на фибринолитическую систему крови. В работе использованы пептиды RKKRPGP и KRRKPGP, синтезированные в институте молекулярной генетики РАН. Эксперименты были проведены на здоровых лабораторных крысах-самцах линии Wistar, а также животных той же линии, но с метаболическим синдромом (МС), который был индуцирован высококалорийной диетой, и верифицирован по изменению показателей липидного профиля и наличию ожирения. Здоровым животным 1-й группы (1a-RKKRPGP; 1b-KRRKPGP) пептиды вводили интраназально, а 2-ой (2a и 2b – аналогично) – перорально в ежедневной дозе 100 мкг/кг в течение 7 дней 1 раз в сут. К каждой группе был свой контроль (вводили 0,85 % раствор NaCl). Отбор крови проводили из v. jugularis через 20 ч после последнего введения пептида. Все эксперименты проводили в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации. В бедной тромбоцитами плазме определяли биохимические показатели: время лизиса эуглобулинового сгустка (ВЛЭС), неферментативную фибринолитическую активность (НФА), ферментативную фибринолитическую активность (ФФА), активность тканевого активатора плазминогена (ТАП), плазминовую активность (ПА), а у МС животных дополнительно определяли уровень глюкозы в крови. Установлено, что в 1-ой и 2-ой группах ВЛЭС укорачивалось в среднем на 30–40 % по сравнению с контролем. При введении KRRKPGP наблюдался рост ФФА: в 1b группе за счет активности ТАП и ПА, во 2b – только за счет увеличения ПА. НФА увеличивалась в среднем в 2 раза по сравнению с введением NaCl в обеих группах. В следующей серии экспериментов крысам с МС пептиды вводили интраназально в той же дозе и по той же схеме. Обнаружили, что введение пептидов снижает уровень глюкозы крови на 20% и повышает фибринолитическую активность плазмы крови крыс с МС, компенсируя гиперкоагуляцию, наблюдающуюся у контрольных животных. Так, ВЛЭС и ПА соответствовали норме, а ФФА и активность ТАП повышались на 40 % и 24 % соответственно по сравнению

с контролем. Таким образом, введение RKKRPGP и KRRKPGP здоровым животным и с MC демонстрирует положительный эффект – повышение фибринолитической активности крови.

МЕТОД ТРОМБОЭЛАСТОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ОДНОКРАТНОМ И МНОГОКРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ СИЛЬНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

С.В. Москаленко, Г.Ю. Шатилло, Т.Г. Моисеева

Алтайский государственный медицинский университет МЗ РФ, Барнаул

Целью работы явилось изучение состояния системы гемостаза в ответ на однократное и ежедневное многократное воздействие гипоксической гипоксии (ГОГ) сильной интенсивности. Исследования выполнены на 40 половозрелых крысах-самцах линии Wistar средней массой $254,0 \pm 36,0$ г. 1-я опытная группа подвергалась однократному воздействию ГОГ в барокамере приточно-вытяжного типа в течение 1 ч на высоту 7000 м; 2-я опытная группа подвергалась 30-кратному ежедневному воздействию ГОГ в течение 1 ч на высоте 7000 м, в то время как 1-я и 2-я контрольная группа находилась ежедневно в течение 1 ч на протяжении однократно и в течение 30-днев соответственно в барокамере в условиях обычного атмосферного давления. В данной работе для оценки системы гемостаза использовался интегральный метод исследования – тромбоэластография. Запись тромбоэластограммы с использованием активатора «Start-tem» проводилась на аппарате RotemGamma (Германия). После однократного воздействия ГОГ в плазме крови регистрировались гиперкоагуляционные сдвиги, что проявлялось в укорочении времени начала образования сгустка (СТ) на 17,2 % ($p < 0,001$) на фоне повышения угла α° на 15,8 % ($p < 0,05$) и максимальной плотности сгустка (МСФ) на 11,9 % ($p < 0,001$). Состояние системы гемостаза, зарегистрированное после 30-кратного воздействия ГОГ было зарегистрировано удлинение времени образования сгустка (CFT) на 12,9 % ($p < 0,05$) и повышение максимального лизиса сгустка в два раза ($< 0,05$). Таким образом, со стороны системы гемостаза в ответ на однократное общее воздействие ГОГ сильной интенсивности отмечалось резкое смещение гемостатического потенциала в сторону тромбинемии, что может быть расценено как дистрессорный ответ. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что к 30-му дню гипоксических воздействий практически исчезали все признаки состояния тромботической готовности, регистрируемой сразу по окончании однократной ГОГ сильной интенсивности. Анализ полученных данных позволяет охарактеризовать состояние системы гемостаза после 30-кратных ежедневных тренировок ГОГ как проявление долговременной адаптации к данному виду стрессора.

ФИЗИОЛОГИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

КОРРЕКЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

**С.Н. Абдрешов¹, У.Н. Кожаниязова¹, В.Н. Горчаков², Г.И. Лобов³, Г.А. Демченко¹, У.Б. Наурызбай¹,
Б.А. Нурмаханова¹**

¹Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Казахстан; ²НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАН, Новосибирск; ³Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург

При экспериментальном гипотериозе наблюдалось угнетение сократительной функции шейных лимфатических узлов, снижаются эластико-тонические свойства стенок артериальных сосудов, снижение кровоснабжения тканей организма. Величины сократительных реакций на вазоактивные вещества снижались. Выявлены морфологические изменения регионарного лимфатического узла. После применения корригирующих средств бальзама «Возрождение плюс» и лапчатки Белой сохраняется пролиферация фолликулярного эпителия с секрецией в просвет фолликула. Это показывает увеличение количества активно функционирующих тиреоцитов и носит компенсаторный характер. Отмечены фолликулы с разной степенью функциональной активностью, судя по морфологии ядер тиреоцитов и толщины стенки, фолликулов. Применения лимфотронные субстанции выявило изменения при гипотериозе и приводило увеличению снижению силы сокращений гладких мышц капсулы узла и тем самым увеличивало лимфоток, как по самому узлу, так и по лимфатическим сосудам. Оценка реакций лимфатических узлов и лимфотока, состава лимфы при гипотериозе позволили нам найти соответствующие для стимулирования защитных сил организма. Отмечено, что после применения корригирующих веществ происходит восстановление объемной плотности гранулярного эндоплазматического ретикула до контрольных значений. После применения корригирующих веществ у животных в региональном лимфоузле стабилизируется число бластов на уровне контроля, число лимфоцитов постепенно увеличивается до контроля в лимфоидных узелках, повышено в паракорткесе и понижено в мозговом синусе, макрофаги на уровне контроля, и могут к концу исследования повышаться в лимфоидном узелке и понижаться в паракорткесе и мягкотных тяжах, число плазмоцитов возрастает в мягкотных тяжах и мозговом синусе. Отмечается быстрое восстановление иммунного потенциала лимфоузла и происходит более быстрое восстановление клеточного состава структурно-функциональных зон лимфатического узла.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТАРЕНИИ

Н.Д. Гончарова

НИИ медицинской приматологии, Сочи

Изучение индивидуальных особенностей возрастных изменений функции эндокринных желез перспективно для прогнозирования, профилактики и эффективного лечения возрастной патологии (сахарный диабет 2 типа, гипотиреоз, психиатрические и нейродегенеративные заболевания и др.) (Goncharova N. BioEssays, 2020, 42, 2000007; Zapater-Fajari V., Front. Aging

Neurosci. 13, 632141). Цель настоящей работы – представить результаты систематических исследований по изучению возрастных особенностей функционирования ключевых нейроэндокринных систем (гипоталамо-гипофизарно-адреналовой, ГГАС; гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной, ГГТС), пинеальной железы и островкового аппарата поджелудочной железы (ОАПЖ) у индивидов с повышенной тревожностью и склонностью к депрессивным состояниям на модели приматов. В экспериментах использовали самок макак резус молодого и старого возраста с тревожным и депрессивно-подобным (DAB), а также контрольным стандартным (SB) поведением. Установлено наличие выраженных возрастных особенностей в функционировании ГГАС у животных с DAB по сравнению с SB в базальных условиях и при стрессе. Так, старые животные с DAB демонстрировали повреждение суточного ритма кортизола (КОРТ); нарушение механизма отрицательной обратной связи на основе минералокортикоидных рецепторов с возрастанием базальных уровней кортикотропина (АКТГ) и КОРТ. Для них характерно также возрастание уязвимости ГГАС к стрессовым воздействиям, сопровождающееся формированием относительной гиперкортизолемии, и ослабление чувствительности коры надпочечников к АКТГ. Наряду с дисрегуляцией ГГАС при старении у приматов с DAB отмечено физиологическое снижение секреции тироксина. Кроме того, у старых животных с DAB выявлялись более низкие базальные концентрации мелатонина в ночное время, а со стороны ОАПЖ у животных с избыточной массой тела – более выраженное повышение резистентности периферических тканей к инсулину, сопровождающееся возрастанием концентрации глюкозы за счет ослабления компенсаторной секреции инсулина. Таким образом, при старении у приматов с DAB формируются более выраженные, чем у индивидов с SB, возрастные нарушения функции ГГАС, ГГТС, пинеальной железы и ОАПЖ, приводящие к гормональному дисбалансу, способствующему развитию возрастных, в том числе стресс ассоциированных заболеваний.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ РАЗВИТИИ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ПЕРМАНЕНТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ

Н.В. Яглова, Д.А. Цомартова, С.С. Обернихин, С.В. Назимова, В.В. Яглов

НИИ морфологии человека, Москва

Среди эндокринных дисрапторов, оказывающих облигатное воздействие на организм человека, наибольшей распространенностью и персистенцией в окружающей среде характеризуется дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ). Нами было проведено исследование развития и функционирования коркового вещества надпочечников при развитии организма в условиях перманентного низкодозового воздействия ДДТ. Самки крыс Вистар с момента ссаживания с самцами вместо воды потребляли раствор о,п-ДДТ 20мг/л в течение всей беременности и периода лактации. Затем потомство потребляло этот раствор ДДТ до достижения половой зрелости, а именно того возраста, в котором завершается рост надпочечников. (70-ые сутки). Исследование выявило изменения продукции всех классов стероидных гормонов надпочечников в пубертатном возрасте. У крыс отмечалось снижение продукции минералокортикоидов и половых стероидов, повышение глюкокортикоидов, прогестерона и 17-оксипрогестерона. Гистологическое исследование выявило, что основной причиной нарушения синтеза минералокортикоидов и половых стероидов было значительное отставание в развитии клубочковой и сетчатой зон коркового вещества, заключавшееся не только в меньших размерах этих зон, но и в нарушении формирования типичной для них структуры. После достижения половой зрелости у крыс нормализация продукция гормонов происходила только в пучковой зоне. Несмотря на активный рост клубочковой зоны и ее относительную гиперплазию у половозрелых крыс продукция минералокортикоидов не превышала контрольных значений. Сетчатая зона не достигала адекватного возрасту развития. У крыс было выражено антиандрогенное действие ДДТ, заключавшееся в увеличении превращения тестостерона в эстрадиол. Полученные результаты показывают, что воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм значительно изменяет развитие и функционирование коркового вещества надпочечников. Наибольшую чувствительность к дисморфогенетическому действию ДДТ проявляют клубочковая и сетчатая зоны. Это обуславливает пониженный уровень продукции корковым веществом минералокортикоидов и половых стероидов, что в свою очередь изменяет темпы развития организма в целом и может оказывать негативное воздействие на функционирование других органов, в первую очередь сердечно-сосудистой системы. *Работа выполнена по государственному заданию рег. номер АААА-А17-117013050048-6.*

ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИОЛОГИИ ТИРЕОИДНОЙ ОСИ ПРИ СНИЖЕНИИ ПОСТУПЛЕНИЯ ДЕЙТЕРИЯ В ОРГАНИЗМ

С.С. Обернихин, Н.В. Яглова, Е.П. Тимохина, Т.В. Безуглова, В.А. Митрофанова

НИИ морфологии человека, Москва

Функционирование оси гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа во многом зависит от поступления в организм йода и селена. Роль других биогенных атомов и их стабильных изотопов в физиологии тиреоидной оси не изучены. Целью нашего исследования было оценить изменения в продукции гормонов щитовидной железы и тиреотропного гормона (ТТГ) гипофиза при краткосрочном снижении поступления дейтерия в организм. Эксперимент выполнен на половозрелых самцах крыс Вистар, которые в течение 2х суток потребляли вместо водопроводной воды воду с пониженным содержанием дейтерия до 10ppm. Крысы контрольной группы потребляли дистиллированную воду с содержанием дейтерия 146ppm, что соответствует его содержанию в водопроводной воде. Методом иммуноферментного анализа определяли концентрации следующих гормонов в сыворотке крови: общий тироксин (Т4), свободный тироксин (сТ4), трийодтиронин (Т3), свободный трийодтиронин (сТ3), и ТТГ. Объем потребленной воды за 1-е и 2-е сутки на единицу массы тела в опытной и контрольной группе не отличался. Через 24 часа потребления воды с пониженным содержанием дейтерия выявлены увеличение концентрации основного гормона щитовидной железы Т4 и снижение его свободной фракции. Увеличения продукции Т3 не наблюдалось. Концентрация ТТГ была статистически значимо выше контрольных значений. Полученные результаты показывают, что резкое снижение содержания дейтерия в системном кровотоке вызывает увеличение функциональной активности щитовидной железы, но не влияет на функционирование гипофиза, поскольку сохраняется обратная связь между продукцией тиреоидных гормонов и

ТТГ. Через 2-е суток отмечены нормализация уровня общих Т4 и Т3. Концентрации свободных форм этих гормонов превышали значения контрольной группы. Уровень ТТГ также повысился. Таким образом, несмотря на продолжающееся снижение поступления дейтерия в организм, функциональная активность щитовидной железы практически вернулась к контрольным значениям за счет действия принципа обратной связи. Эти данные позволяют сделать вывод, что дейтерий играет определенную роль в физиологии щитовидной железы и осуществлении процессов гормоногенеза, что требует дальнейших исследований. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00236 А.*

ИЗУЧЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ И ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ У ПРИМАТОВ

А.М. Радкевич, Т.Э. Оганян, О.А. Чигарова, Н.В. Тимошенко, Н.Д. Гончарова

НИИ медицинской приматологии, Сочи

Изучение индивидуальных и возрастных особенностей функционирования гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы (ГГТС) направлено на возможность раннего прогнозирования развития тяжелых возрастных заболеваний и разработки индивидуальных подходов для их профилактики и лечения. Целью настоящего исследования явилось изучение индивидуальных и возрастных особенностей функционирования ГГТС на модели физически здоровых половозрелых самок макак резус, различающихся по адаптивному поведению, с тревожным и депрессивно-подобным поведением (DAB), с одной стороны, и обычным стандартным поведением (SB), с другой. В экспериментах использовали 10 молодых и 8 старых самок макак резус, половину из которых составляли особи с DAB, а другую половину – особи с SB. Функцию ГГТС оценивали в летнее время в базальных условиях и в условиях ее стимуляции с помощью тиреолиберина (ТРГ) и тиреотропного гормона (ТТГ) с использованием стандартных диагностических наборов для иммуноферментного определения концентраций тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (Т4) и свободного трийодтиронина (Т3) в плазме периферической крови. Выявлено, что у молодых животных с DAB базальные уровни ТТГ и стимулированные введением ТРГ значительно ниже, чем у молодых животных с SB. Концентрация же тиреоидных гормонов у молодых животных с разными типами поведения остаётся без значительных изменений, как в базальных условиях, так и в ответ на введение ТРГ. У старых животных с DAB были выявлены существенно более низкие значения Т4 по сравнению с молодыми животными аналогичного поведения в базальных условиях и на фоне введения ТРГ, в то время как уровни ТТГ увеличивались. У животных со SB аналогичные возрастные изменения в функционировании ГГТС отсутствовали. В тесте с введением ТТГ у старых животных с DAB выявлен существенно меньший подъем концентрации Т4, как по сравнению с молодыми животными аналогичного поведения, так и старыми животными со SB. Таким образом, полученные данные указывают на понижение функции щитовидной железы при старении у индивидов с DAB, обусловленной, в частности, понижением чувствительности щитовидной железы к ТТГ. Проведённые исследования подтверждают важность разработки индивидуального подхода для изучения возрастных изменений ГГТС и профилактики возрастных заболеваний.

ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ УГЛЕВОДОВ И ЖИРОВ НА УРОВЕНЬ ЭЛЕМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ЛИНИИ W1STAR

О.В. Маршинская^{1,2}, Т.В. Казакова^{1,2}

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН; ²Оренбургский государственный университет, Оренбург

Несмотря на повышенную калорийность питания, рацион людей, страдающих избыточным весом и ожирением, часто не соответствует рекомендуемым диетическим требованиям по потреблению микронутриентов. Печень является центральным органом химического гомеостаза организма, который участвует в обмене белков, жиров и углеводов. В связи с этим целью настоящего исследования была оценка уровня макро- и микроэлементов печени крыс под влиянием пищевого рациона с высоким содержанием жиров и углеводов. Исследование проводили на половозрелых крысах-самцах линии Wistar (n=30) с исходной массой тела 200–250 г. Животные были разделены случайным образом и отнесены к одной из следующих групп: I группа (контрольная) получала общий рацион, II группа (опытная) получала диету с высоким содержанием углеводов и жиров. Общий рацион имел калорийность 270 ккал/100 г (гранулированный корм для лабораторных животных). Диета с высоким содержанием углеводов и жиров основана на добавлении к общему рациону свиного сала, кокосового и подсолнечного масел, в воду добавлялась фруктоза. На протяжении 6 недель калорийность ступенчато увеличивалась на 30 %, 60 % и 90 % от калорийности общего рациона. Оценка элементного статуса осуществлялась посредством изучения химического состава печени методами ИСП-АЭС и ИСП-МС в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва. Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с использованием статистического пакета «StatSoft STATISTICA 10». Применялись непараметрические процедуры обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна–Уитни). Крысы, получавшие на протяжении 6 недель диету с высоким содержанием углеводов и жиров, имели более высокую массу тела на 27 % (p<0,05) и уровень триглицеридов крови на 48% (p<0,01), относительно контрольной группы. Результаты показали, что диета с высоким содержанием углеводов и жиров может нарушать метаболизм элементов в печени. Наблюдалось достоверное снижение (p<0,05) уровня Са на 63%, Си на 25%, К на 13%, Mg на 24%, Mn на 70%, Р на 24%, Se на 18% и Zn на 45%. Полученные данные свидетельствуют о том, что метаболические нарушения, возможно, опосредованы изменением уровня микроэлементов.

ФИЗИОЛОГИЯ ТРУДА И СПОРТА

РАЗРАБОТКА СПОСОБА И ОЦЕНКА ФИТНЕС-ЗДОРОВЬЯ СТУДЕНЧЕСКОЙ МОЛОДЕЖИ

С.В. Михайлова

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Арзамасский филиал, Арзамас

С целью определения уровня фитнес-здоровья (ФЗ) было проведено исследование среди 303 студентов 18-24 лет, включающее: анкетирование, антропометрию, функциональное тестирование, биоимпедансметрию, оценку физической подготовленности. Для оценки ФЗ использовали показатели: коэффициент выносливости, силовой индекс, индекс Скибински, средний балл физической подготовленности, индекс компонентного состава тела (ИКСТ). Значения этих показателей унифицировали, переводя в баллы (от 2 до 5). Среднее значение набранных баллов определяет уровень ФЗ: низкий, средний, хороший и высокий. Соотношение значений жировой и активной клеточной массы, общей воды и основного обмена позволило оценить ИКСТ в группе обследованных, где большинство показателей удовлетворительные и хорошие (у юношей – 87,2%, у девушек – 85,5%), и только 6,4% и 7,8% (соответственно пола) – отличных оценок. Метод индексов позволил дать комплексную оценку функционального состояния основных систем жизнеобеспечения организма, участвующих в осуществлении двигательной деятельности и выявил преобладание хороших и удовлетворительных оценок. Тестирование физической подготовленности определило большинство хороших и удовлетворительных оценок (у юношей – 75,3%, у девушек – 77,8%), при этом отличных больше (11,0% и 13,2% соответственно пола), чем неудовлетворительных. Оценка ФЗ выявила, что высокий уровень имеют 6,7% юношей и 14,3% девушек; хороший – 31,0% и 26,6%; средний – 49,5% и 52,4%; низкий – 12,9% и 6,7%. Корреляционный анализ показал большую взаимосвязь ФЗ с ИКСТ ($r=0,83$ и $0,72$ соответственно пола), чем с физической подготовленностью ($r=0,78$ и $0,70$). Характеристика уровня ФЗ позволяет определить систему тренировок, соответствующую уровню двигательной активности. У юношей, занимающихся в спортивных секциях, 67,5% хороших оценок, а у девушек-спортсменок – 50,0% хороших и 35,7% отличных. Наибольшая доля отличных оценок уровня ФЗ среди юношей занимающихся армспортом (55,6%) и девушек из групп фитнеса (64,2%). Мониторинг ФЗ, как показателя качества жизни современного человека, где спортивный стиль стал ведущим компонентом образа жизни, позволяет отслеживать изменения, происходящие в организме в ходе тренировок и корректировать характер, направленность и объем физических нагрузок.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНЫХ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТСПОСОБНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА

Е.Е. Макашев, А.М. Калекешов, А. Ерлан, Е.К. Макашев, Ж.М. Ералиева

Институт физиологии человека и животных, Алматы, Казахстан

Интервальные гипоксические тренировки (ИГТ) являются эффективным немедикаментозным методом для восстановления функционального состояния организма, оздоровления и физической работоспособности человека. Исследования проводили на высоте от 3000 метров до 5000 метров в специальной гипоксической камере с помощью *huroxico* в автоматическом режиме с применением велоэргометрических, спиропневмотахометрических, пульсометрических методов. Гипоксическое воздействие проводилось, курсами продолжительностью 15 сеансов. Тренировка проводилась в циклически-фракционированном режиме гипоксической смесью, содержащая 10-15% кислорода и 85-90% азота в течение 10 мин. Курсовую тренировку начинали с высоты 3000 м первые три сеанса, затем после третьего, шестого, девятого и двенадцатого сеансов «высота» в камере возрастало ступенчато на 500 м. Последние три сеанса выполнялись на «высоте» 5000 м. В исследовании участвовали женщин – 16, мужчин – 23. По ИМТ положительные сдвиги зафиксированы в 4 случаях (10% от общего количества участников), по композиции тела (по содержанию мышечной и жировой ткани) в 17 случаях (44% от общего количества участников). По данным спирометрии положительная динамика отмечается в 16 случаях (41% от общего количества участников), по ЖЕЛ улучшились у 11 участников на величины от 5% до 31%, в среднем на 13%. Показатели ФЖЕЛ улучшились на величину от 5% до 23%, в среднем на 12%. Показатели ПОС улучшились на величину от 12% до 39%, в среднем на 20%. После нагрузочного (велоэргометрического) тестирования повысилась физическая работоспособность и составила 63% от общего количества и величина МПК в диапазоне от 0.8 мл/мин/кг до 18.20 мл/мин/кг, в среднем на 12.80 мл/мин/кг. Таким образом, самым информативным показателем эффективности ИГТ явились данные нагрузочного тестирования. Они выявили положительную динамику по работоспособности каждого из участников. *Работа поддержана грантом Фонда науки РК №0124-17-ГК.*

ОЦЕНКА ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И УРОВЕНЬ БЕЛКА ИРИСИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ДВУХЧАСОВЫХ ТРЕНИРОВОК У МОЛОДЫХ КРЫС

И.Н. Манаева, Ю.А. Бондарчук, И.И. Шахматов

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

В настоящее время актуальным является поиск немедикаментозных методов сохранения здоровья и увеличения продолжительности жизни. Белок ирисин синтезируется во время физической нагрузки и препятствует развитию возрастных заболеваний. В процессе адаптации к физическим тренировкам важная роль принадлежит системе гемостаза, изменение показателей которой может влиять на развитие осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы в ответ на физический стресс. Цель исследования – поиск оптимального режима тренировок, сохраняющего параметры системы гемостаза в пределах нормы и увеличивающих уровень ирисина. Материалы и методы. Исследования выполнены на 54 крысах самцах линии Wistar в возрасте 12-13 недель, разделенных на две контрольные и две опытные группы. Контрольные группы не подвергались физическим тренировкам, но находились в отсеках выключенного тредбана в режимах аналогичных опытным группам. Животные из опытных групп тренировались в тредбане путем принудительной ходьбы со скоростью 6-8 м/мин на протяжении 2-х часов в

течение 30 дней в двух режимах: первая группа подвергалась ежедневным тренировкам, вторая группа – тренировки 3 раза в неделю (понедельник, среда, пятница). Уровень ирисина определяли методом ИФА. Гемостатический потенциал крови оценивался методом пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) и с помощью метода калиброванной автоматизированной тромбографии. Результаты. В первой опытной группе уровень ирисина увеличивался на 130%, наблюдались признаки гиперкоагуляции. По данным НПТЭГ регистрировалось уменьшение времени свертывания на 34%, времени достижения максимальной амплитуды на 35% и снижение интенсивности полимеризации сгустка на 50%. Признаки тромбинемии наблюдались по данным тромбографии, что проявлялось в повышении эндогенного тромбинового потенциала на 24%, пиковой концентрации тромбина на 13% и укорочении времени достижения максимальной концентрации тромбина на 6%. Во второй опытной группе уровень ирисина повышался на 225% при отсутствии признаков гиперкоагуляции. Выводы. Для повышения уровня ирисина наиболее эффективным режимом физических нагрузок является принудительная ходьба в тредбане в течение 2 часов со скоростью 6-8 м/мин 3 раза в неделю на протяжении 30 дней. Данный режим тренировок не вызывает отклонений показателей системы гемостаза от нормы.

АДАПТАЦИОННЫЕ РЕЗЕРВЫ И РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ПЕДАГОГОВ В СЕВЕРНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ В ПРОЦЕССЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДО И В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

В.В. Чистова, М.А. Попова, А.Э. Щербакова

Сургутский государственный педагогический университет, Сургут

Цель: оценить адаптационные резервы (АР) и работоспособность (РС) педагогов в северном регионе России на основе мониторинга показателей функционального состояния (ФС) организма. Материал и методы. Проведено проспективное когортное исследование ФС организма педагогов в условиях офлайн и дистанционного обучения (ДО) до и в период пандемии COVID-19. Обследовано 82 преподавателя Сургутского педуниверситета – 68 женщин (44,1±3,7 лет), 24 мужчины (43,2±2,5 лет). Комплексное исследование включало определение кардиоритмографии с активной ортопробой с оценкой АР организма; простой зрительно-моторной реакции с определением РС; центрального (цСАД) и периферического АД; электроэнцефалографии (ЭЭГ); оценку профессионального выгорания (ПВ) по методике МВИ. Показатели определяли в начале 2019/20 уч. года (09.2019); в конце осеннего семестра (12.2019); в начале 2020/21 уч. года в период ДО (09.2020); в конце осеннего семестра в условиях ДО (12.2020); в конце весеннего семестра 2020/21 учебного года в условиях офлайн обучения (05.2021). Статистический анализ «Statistica 13.0». Результаты и выводы. АР в конце семестра в офлайн режиме у педагогов-женщин и мужчин были высокими в 4 и 17%, удовлетворительными в 45 и 41%, сниженными в 41 и 25%, резко сниженными в 10 и 17%. При ДО в конце семестра АР у женщин и мужчин были удовлетворительными в 63 и 42%, сниженными в 32 и 42%, резко сниженными в 5 и 16%; после выхода с ДО в конце весеннего семестра АР были удовлетворительными в 21 и 41%, сниженными в 63 и 44%, значительно сниженными в 16 и 15%. РС в конце семестра с офлайн обучением у педагогов-женщин и мужчин была нормальной в 17 и 46%, ниже нормы в 65 и 42%, значительно снижена в 18 и 12%. В конце семестра с ДО нормальная РС выявлена у 25% мужчин, ниже нормы у 79% женщин и 67% мужчин, значительно снижена в 21 и 8%. РС педагогов в конце семестра при выходе с ДО на офлайн режим работы была нормальной у 5% женщин и 34% мужчин, незначительно снижена в 68 и 50%, значительно снижена в 27 и 16%. ПВ в офлайн режиме выявлено у 67% женщин и 63% мужчин, после ДО у 74% женщин и 94% мужчин. Снижение РС коррелировало со снижением амплитуды и индекса а-ритма по ЭЭГ/ Изменение условий работы педагогов в большей степени отражается на ФС женщин. ПВ при онлайн работе чаще регистрируется у мужчин.

ФИЗИОЛОГИЯ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

ОТРАЖЕНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ В РЕЧИ РУССКИХ И ИНДИЙСКИХ ДЕТЕЙ

Е.Е. Ляксо¹, О.В. Фролова¹, N. Ruban²

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²School of Electrical Engineering, VIT, Vellore, India

Цель исследования – распознавание базовых эмоций по речи русских и индийских детей носителями русского и тамильского языков. В исследовании приняли участие 30 детей в возрасте 8-12 лет – 12 детей – носителей русского языка; 18 детей – тамильского языка. Экспертами, прослушивающими речевой материал детей, явились взрослые, говорящие на русском и тамильском языках (по 10 взрослых), обладающие профессиональным опытом работы в области речевых технологий. Осуществлены записи речи и поведения детей. До начала, в процессе и после окончания записи регистрировали частоту сердечных сокращений и уровень сатурации крови кислородом. Речевой материал классифицирован по четырем состояниям «радость – нейтральное состояние – печаль – гнев». Спектрографический анализ речи русских детей проведен в звуковом редакторе «Cool Edit Pro 2.0». Для речевых образцов определяли длительность, значение частоты основного тона и значения интенсивностей, считали скорость речи. Для русских детей проводили оценку мимической экспрессии в программе FaceReader v.8. (Noldus). Русские и индийские эксперты сошлись во мнении при распознавании состояния печали по спонтанной речи русских детей и нейтрального состояния по спонтанной речи индийских детей. Русские и индийские эксперты лучше распознавали эмоциональное состояние детей, принадлежащих к одной с ними языковой среде. При прослушивании «актерской» речи русских детей обе группы экспертов одинаково хорошо определили состояние печали (85% и 88% ответов русских и индийских экспертов). Обе группы экспертов одинаково хорошо определили состояние гнева (84% и 85% ответов русских и индийских экспертов) по «актерской» речи индийских детей. Выявлены акустические характеристики речи, правильно отнесенной экспертами к определенным категориям эмоциональных состояний. Результаты исследования показывают, что, несмотря на то, что

эксперты определяют базовые эмоции детей при прослушивании их речи, на распознавание влияет культурная и языковая принадлежность слушателя и тип речевого материала. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ – ИНД-а №19-57-45008.*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКИХ ЭТАПОВ РАЗВИТИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ ГЕСТАЦИИ

Л.А. Ткаченко¹, К.Н. Федосеева², Ж. Бегимова¹, Т.Ю. Смолина³, П.А. Зыкин¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Кафедра цитологии и гистологии;

²Санкт-Петербургский государственный университет, Научный парк, Ресурсный центр «Развития молекулярных и клеточных технологий»; ³Городское патологоанатомическое бюро, Перинатальное отделение № 1, Санкт-Петербург

Работа направлена на определение критических этапов развития популяций нейронов коры и их связей мозга человека в пренатальный период. Изучены citoархитектоника и развитие слой-специфичных популяций нейронов корковой пластинки и аргинальной зоны неокортекса височной области мозга человека во второй половине гестации. Исследование выполнено на архивном материале мозга человека 21 и 25 недель гестации. Иммуногистохимическое окрашивание проводили с использованием ряда слой-специфичных маркеров: SATB2 – маркер каллозальных пирамидных нейронов (слои eII, eIV), STIP2 – маркер кортикоспинальных пирамидных нейронов (слои eV, eVI) и FOXP1 – маркер пирамидных клеток нижнего комплекса слоев. Антитела против рилина применяли для идентификации клеток Кахаля–Ретциуса маргинальной зоны. Для оценки зрелости нейронов и выявления критических периодов их развития использовали маркеры дифференцировки нейронов – N200 и MAP2. Определено, что экспрессия MAP2 ограничена клетками поверхностных слоев MZ. В собственно маргинальной зоне нейроны Кахаля–Ретциуса (КР), демонстрировали позитивность к рилину (в коме) и N200 (в отростках). В глубоком слое MZ показано N200+ сплетение отростков. На 20-21 неделе гестации FOXP1+ и STIP2+ нейроны локализованы в нижнем комплексе слоев неокортекса. FOXP1+ клетки имеют равномерный и широкий паттерн распределения по слоям, STIP2-позитивные клетки разделяются на две субпопуляции: eIV+eV и eVI слой. SATB2+ нейроны выявляются широкой полосой в слоях как в верхнем, так и нижнем комплексах слоев (eII-eV). К 25 неделе гестации распределение FOXP1+, STIP2+ и SATB2+ клеток ограничивается только нижним комплексом слоев (eIV+eV). В результате проведенного исследования выявлено гетерохронное и региональное развитие субпопуляций нейронов слоев неокортекса височной области. *Исследование выполнено с использованием оборудования Научного парка СПбГУ, проект 109-11628, архивный материал предоставлен Санкт-Петербургским государственным педиатрическим медицинским университетом (протокол этического комитета СПбГПМУ от 10.06.2014; №2/5 от 06.02.2019).*

ПСИХОФИЗИОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ИЗОЛЯЦИИ И ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ПСИХИЧЕСКИЙ СТАТУС И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦНС УЧАЩИХСЯ 9-10 КЛАССОВ

Ю.Г. Коньжева¹, Л.И. Губарева¹, В.А. Батурич², Л.В. Литвинова²

¹Северо-Кавказский федеральный университет; ²Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь

Заместитель директора Института медико-биологических проблем РАН по науке Ю. Бубсеев высказал мнение, что «самоизоляция, особенно принудительная, является сильным стрессом, и после снятия карантина и режима самоизоляции по коронавирусной инфекции части населения потребуется помощь психологов и психотерапевтов для возвращения к нормальной жизни» (16 мая 2020 г. ТАСС). Исходя из вышеизложенного, целью исследования было выявить изменения психического статуса и функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) – ведущей системы адаптации после выхода из изоляции и дистанционного обучения в период пандемии COVID-19 у учащихся 9-10 классов. В 2020 году, в начале учебного года, обследовано 76 школьников (32 мальчика и 44 девочки) 10-11 классов СОШ №2 г. Ставрополя, без генетической патологии. Обследование проводили после выхода с дистанционного обучения и режима изоляции в режим of-line (опытная группа). Контрольной группой служили учащиеся, которых обследовали в этот же период в 2017 году (52 школьника). Функциональное состояние ЦНС определяли методом компьютерной хронорефлексометрии на приборе «Психофизиолог УПФТ-1/30» с помощью сложной зрительно-моторной реакции (СЗМР). Психологическое тестирование проводили с помощью опросников «Методика диагностики мотивации учения и эмоционального отношения к учению в средних и старших классах школы», «Определение уровня стресса» (по А.Н. Пахомову)». Результаты подвергались статистической обработке. Анализ результатов психологического тестирования показал, что дистанционное обучение в условиях изоляции в период пандемии COVID-19 привело к увеличению познавательной активности и мотивации достижения успехов, более выраженным у девушек в 10 классе, а у юношей в 11 классе по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При этом отмечали значимое снижение стрессоустойчивости, особенно в 11 классе. Значимо выраженные негативные изменения регистрировали и по показателям СЗМР, особенно у девушек 11 класса. Учитывая тот факт, что все учащиеся опытной группы находились в одинаковых условиях в отношении учебной нагрузки в связи со снятием ОГЭ, есть все основания полагать, что изменения психологического статуса и функционального состояния ЦНС обусловлены негативным влиянием изоляции и дистанционного обучения в период пандемии.

ВЛИЯНИЕ СУТОЧНОГО ГОЛОДАНИЯ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС У СТУДЕНТОК

А.Ю. Золотухина

Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов

В настоящее время подвергается активной дискуссии вопрос об использовании голодания как приема оптимизации функционального состояния организма. Тем не менее, количество научных публикаций, посвященных анализу влияния интервального голодания на психофизиологические характеристики человека, незначительно. Целью нашей работы являлось изучение воздействия 24-часового голодания на высшие функции мозга у студенток. В исследовании принимали участие 15 студенток 19-20 лет. В исходном состоянии у них в результате тестирования определялись: уровень агрессии, вспыльчивости, стрессоустойчивости, скорость сенсомоторной реакции. Далее испытуемым предлагалось воздержаться от потребления пищи в течение 24 часов, разрешалось пить только воду в неограниченном количестве, после чего на следующий день в это же время тестирование повторяли. В ходе исследования были получены следующие результаты. Уровень агрессии у девушек после проведенного голодания достоверно увеличился с $13,8 \pm 2,2$ балла до $20,8 \pm 4,3$ балла, а показатели вспыльчивости – с $24,4 \pm 2,4$ балла до $28,6 \pm 2$ балла. Подобная динамика результатов может свидетельствовать о повышении активности гипоталамуса и миндалины на фоне снижения тормозной функции коры. Процесс голодания воспринимается организмом как стрессовая ситуация, которая и включает подобные механизмы реагирования. При выполнении теста на стрессоустойчивость выявлено ухудшение этой функции, также как и показателей сложной сенсомоторной реакции, что может свидетельствовать о снижении активации ЦНС и ухудшении дифференцировочного торможения в коре мозга. Таким образом, можно заключить, что в ходе нашего исследования однократное суточное голодание негативным образом сказывается на высших функциях мозга студенток. Предположительно, причиной может являться развивающееся состояние стресса на фоне гипогликемии, отрицательно сказывающееся на оптимальном режиме активности нервных центров. Возможно, развитие гипогликемии в этот период влияет на изменение оптимального соотношения процессов возбуждения и торможения нервных центров, вызывая снижение стрессоустойчивости.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВОСПРИЯТИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТРЕВОЖНОСТИ

А.А. Койгерова

Лаборатории медицинских и биологических технологий ФИЦ Кольский научный центр РАН. Анатиты

В настоящее время за рубежом методы садовой терапии находят применение для широкого круга лиц в учреждениях здравоохранения и социальной защиты (психоневрологических клиниках, хосписах, домах престарелых, тюрьмах, детских домах, и т.п.). В широком смысле садовая терапия включает в себя стимуляцию процессов социальной адаптации, реабилитации и коррекции поведения человека путем воздействия на него комплекса специфических факторов общения с растительным миром. Проблема построения лечебных ландшафтов связана, прежде всего, с пониманием особенностей пространственного восприятия пациентов. По мнению Раушенбаха Б.В. оно включает в себя зоны обратной и прямой (линейной, ренессансной) перспектив – на близкой и более удаленной от наблюдателя дистанциях, соответственно, причем существование первой является чисто психологическим эффектом. Проблеме обратной перспективы посвящен ряд серьезных исследований по искусствоведению, и философии, психологии. Исходя из работ различных авторов психоневрологические патологии так же могут быть связаны с отклонением от нормального пространственного восприятия. В связи с этим возникает вопрос в том, что геометрия пространства лиц с нарушениями психики отличается от нормальной протяженностью и взаиморасположением зон линейной и обратной перспектив, в результате чего пропорции и цвет воспринимаемых ими объектов отличаются от таковых у здоровых людей. В этом случае вероятным подходом к решению этой проблемы является такая организация пространства ландшафта, которая компенсировала бы искажения нормального пространственного восприятия, сочетаясь с ними по принципу ключа и замка. Очевидно, что проверка этих предположений требует детального изучения особенностей геометрии перцептивного пространства пациентов с различными расстройствами психики и возможностей их классификации по данному принципу. Целью данного исследования являлось определения возможного типа пространственного восприятия как у психически здоровых, так и у пациентов областной психиатрической больницы. Исследования проводились с помощью стандартного графического теста по изображению трехмерной фигуры – куба и проведению теста МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ ТРЕВОЖНОСТИ (ШКАЛА ДЖ. ТЕЙЛОРА).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ВОСПРИЯТИИ МУЗЫКИ

Ю.П. Игнатова, И.И. Макарова, А.В. Аксенова, Е.Д. Миловидова

Тверской государственный медицинский университет, Тверь

Параметры зрительно-моторных реакций являются интегральными показателями функционального состояния ЦНС, определяющего работоспособность организма. Цель работы: исследовать некоторые параметры зрительно-моторных реакций при восприятии музыки.

В обследовании принимали участие юноши ($n=50$) в возрасте 18-20 лет. Выделены две группы обследуемых по предпочтению: 1 – рок-музыки и 2 – шансона, романсов, авторских песен. Для оценки простой и сложной зрительно-моторных реакций (ПЗМР, СЗМР) использовали портативное устройство УПФТ-1/30 – «Психофизиолог» (Таганрог). Обследование проводили до и во время прослушивания песни «Duhast» (группа «Rammstein»). Статистический анализ осуществляли в «Statistica 6.1».

Полученные параметры ПЗМР отражают средний уровень активации ЦНС, а также средние быстродействие, стабильность реакций и устойчивое состояние регуляторных механизмов у юношей обеих групп до и во время прослушивания песни. Значения среднего времени реакции (СВР) составило 212-257 мс, среднеквадратического отклонения – 45-90 мс. Сравнение па-

раметров ПЗМР у юношей первой группы не выявило значимых различий до и в процессе музыкального воздействия. У обследуемых второй группы при выполнении ПЗМР во время прослушивания рока наблюдалось значимое снижение уровня безошибочности ($p=0,043$). Значимо возросло суммарное число ошибок, в частности число упреждающих реакций.

Данные СЗМР в обеих группах в исходном состоянии указывают на среднее качество выполнения теста при высокой скорости реакций (средний уровень операторской работоспособности). При музыкальном воздействии скорость реакций снижалась, но сохранялась на уровне выше средних значений. При выполнении СЗМР группой №2 во время прослушивания рока выявлено значимое снижение величины интегрального показателя надежности ($p=0,003$), уровня быстродействия ($p=0,043$), а соответственно увеличение СВР ($p=0,003$). Сравнение параметров реагирования на красный и зеленый стимулы группой №1 не выявило значимых различий до и во время прослушивания «Duhast».

Можно полагать, что ожидание группой №2 рок-музыки, как раздражителя, способствует мобилизации усилий для реализации деятельности, оказывающего влияние на параметры зрительно-моторных реакций. В случае усложнения теста – выбора цветового стимула, рок выполняет функции негативного фактора.

ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ СТУДЕНТОВ ПРИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТАТИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ Е.В. Семенова, Е.Н. Мозговая, Е.В. Минакова

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия.

У студентов-добровольцев Воронежского государственного университета в возрасте от 20 до 23 лет с помощью АПК «Нейрон-Спектр-4П» (ООО «Нейрософт») была зарегистрирована электроэнцефалограмма в состоянии относительного физиологического покоя: 5 минут в состоянии «открытые глаза» и 5 минут в состоянии «закрытые глаза». Затем обследуемому на мониторе компьютера предъявляли статичное изображение, представляющее собой фотографию широколиственного леса, который пересекает небольшая дорога. На изображении доминирует зеленый цвет. Это изображение испытуемый должен был внимательно рассмотреть в течение 5 минут, а так же постараться запомнить его. После чего обследуемый по команде исследователя закрывал глаза и в течение 5 минут должен был представлять данное изображение, максимально детализировано, так, будто сам находится в месте, изображенном на картинке, а также в момент визуализации предлагалось представить какие звуки, запахи и действия могли сопутствовать изображению. Затем обследуемый открывал глаза и сидел спокойно еще в течение 5 минут. Все это время проводили регистрацию электроэнцефалограммы. В ходе анализа данных было установлено, что в процессе рассматривания и запоминания предложенного статического изображения на электроэнцефалограмме появляется доминирующая дельта-активность, с одновременным угнетением альфа-активности, что связано с привлечением внимания к изображению. Изменение локализации активности основных ритмов ЭЭГ у обследуемых к пятой минуте просмотра, появление доминирующего альфа-ритма может быть обусловлено снижением внимания обследуемых к изображению. В момент визуализации изображения при закрытых глазах наблюдается синхронизация альфа-ритма, с последующим снижением альфа-активности, сужением локализации альфа-ритма со смещением в правое полушарие, увеличением фокуса активности дельта-ритма.

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА НА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНУЮ ФУНКЦИЮ МЫШЕЙ ЛИНИИ CD1 С ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

И.Г. Агафонова, Е.Л. Чайкина, Е.А. Чингизова, Е.С. Менчинская, С.Г. Полоник, Ю.Е. Сабуцкий, Д.Л. Аминин

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое нейродегенеративное заболевание, обусловленное утратой дофамин содержащих клеток nigrostriального пути, вызывающего замедление движений, деменцию, тремор у пожилых людей. Экспериментальная ротеноновая модель похожа по патогенетическим механизмам на БП. Показано, что нейротоксин ротенон проникает через гематоэнцефалический барьер и в короткое время вызывает необратимые последствия в когнитивной сфере грызунов. Хиноидные соединения U-443 и U-573, в основе которых лежит 1,4-нафтохиноидный остов, перспективны для целенаправленного поиска соединений с заданными свойствами. На протяжении длительных исследований показан широкий спектр фармакологического действия и, в частности, нейропротекторная активность на нейрональных клетках Neuro-2a in vitro. Цель настоящей работы – изучить нейропротекторную активность данных производных на модели Паркинсона, индуцированной ротеноном in vivo. В качестве индуктора патологии использовали ротенон, в качестве положительного контроля использовали фармакопейный препарат леводопы (L-DOPA). Для оценки поведенческих реакций мышей использовали тесты «Цилиндр» (оценка вертикальной и горизонтальной активности) и «Открытое поле» (оценка изменения когнитивной функции). Наиболее значимые результаты получены в дозе 1 мг/кг для обоих соединений. Оба препарата проявили тенденцию к восстановлению эмоционально-поведенческой активности в тесте «Цилиндр». В тесте «Открытое поле» отмечено улучшение когнитивного поведения мышей, в частности увеличению средней скорости и пути прохождения общей дистанции, снижение времени замирания животных в неподвижном состоянии, появление исследовательского интереса. Препарат U-573 достоверно увеличивал среднюю скорость движения мышей фактически до контрольных значений и проявлял тенденцию к уменьшению количества замираний животных. На основании полученных результатов препарат U-573 отобран для дальнейших детальных исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ПАЦИЕНТОВ НА РАННИХ СТАДИЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В КАЧЕСТВЕ ВОЗМОЖНЫХ МАРКЕРОВ

Н.А. Рябчикова^{1,2}, Б.Х. Базиян¹

¹ООО «БЭС Лайт» Сколково, ²МГУ им. Ломоносова, 2 000 «БЭС Лайт» Сколково, Москва

Когнитивные расстройства, как и нарушения двигательной активности, являются проявлениями болезни Паркинсона (БП). Принимая во внимание, что возможность идентифицировать пациентов со сниженной способностью познавательной способности приобретает особое значение возникает необходимость расширить диапазон продромальных маркеров. Поскольку управление и контроль движениями глаз осуществляются многими уровнями мозга, саккадическая деятельность может использоваться как отражение динамических процессов в мозге при изучении различных форм когнитивной деятельности. Данные показывают, что вероятностное прогнозирование как одна из форм когнитивной деятельности в большой степени отражается в саккадической деятельности. Используемая нами психологическая методика «Прогнозис 2.5» позволяет определять когнитивные нарушения уже на ранних стадиях БП, которые не всегда обнаруживаются другими методами. Суть методики «Прогнозис 2.5» заключается в использовании когнитивных тестов для осуществления вероятностного прогнозирования ожидаемых событий, т.е. как предвосхищение будущего с целью оптимизации поведения. Исследуется процесс прогнозирования испытуемым одного из двух возможных стимулов, которые предъявит программа компьютера с учетом результатов предыдущей ситуации. При выполнении когнитивных заданий среднее число саккад/с у пациентов увеличивалось, но в меньшей степени, чем в группе здоровых испытуемых и по мере усложнения заданий даже слегка уменьшалось. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что существует зависимость между возникновением когнитивных нарушений у пациентов с болезнью Паркинсона и изменением количества саккад по сравнению с здоровыми испытуемыми.

Настоящее исследование выполнено в содружестве с Государственным бюджетным Научным Центром Неврологии и поддержано международными организациями Beckley Foundation (U.K.), Bodiflo LLC (USA & Australia), ITAG (USA), РФФИ грант 15-04-00598, № 99 -04-482 99, Исследование внимания и прогностической деятельности, проект № 320 – 17 1999 -2003, РГНФ в рамках проекта № 15-03-00519а «Постнеклассическая парадигма искусственного интеллекта»,

РЕГИОН-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ В МОЗГЕ В ОТВЕТ НА ЕДИНИЧНОЕ НИТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ СУБСЕПТИЧЕСКОЙ ДОЗЫ ЭНДОТОКСИНА КРЫСАМ

В.А. Майстренко, И.С. Ивлева, Н.С. Пестерева, М.Н. Карпенко

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Целью данного исследования стало выявление регион-специфических изменений активности m- и μ -кальпаинов в мозге крыс в ответ на однократное интраперитонеальное введение субсептической дозы липополисахарида (ЛПС – фрагмента клеточной стенки грамотрицательных бактерий). Ход эксперимента. Самцов крыс Вистар разделяли по 30 на две группы: 1 группа – интраперитонеальное (и/п) введение физ. р-р; 2 группа – и/п ЛПС, 1 мг/кг животного. Первую подгруппу животных (n=5) использовали для оценки активности кальпаинов мозга через 4 часа после инъекции. Вторая подгруппа – через 24 часа после инъекции; третья, четвертая, пятая и шестая подгруппы использовались для анализа активности кальпаинов через 7, 14, 30 и 180 дней после инъекции. Экспрессия мРНК μ -кальпаина в гиппокампе была повышена через 24 часа и 7 дней (p=0.003 и p=0.0001) и снижалась до контрольной группы на более поздних сроках, однако к 180-му дню повышалась (p=0.00001), тогда как активность этого белка увеличивалась через 24 часа, 7 дней, 14 дней и 180 дней (p=0.0001) для каждой точки) после начала эксперимента. Уровень экспрессии мРНК m-кальпаина увеличивался однократно через 7 дней (p=0.0002), тогда как активность белка увеличивалась через 24 часа (p=0.0001), 7 дней (p=0.0001), 14 дней (p=0.0001) и 30 дней (p=0.0004), а к 180-му дню снижалась до контрольного значения. Экспрессия мРНК кальпастатина не изменялась по сравнению с контролем, при этом через 180 дня она снижалась (p=0,01). В стриатуме пик экспрессии мРНК μ -кальпаина обнаружен через 4 часа, 24 часа (p=0.0001 для всех точек) и 180 дней (p=0,00001), а уровень активности был только через 7 дней (p=0,00001). Экспрессия мРНК m-кальпаина увеличивалась однократно через 7 дней, 14 дней и 30 дней (p=0.0001 для всех точек) и сохранялась до 180 дней (p=0,00001), а повышение уровня активности было через 180 дней (p=0.0001) после начала эксперимента. Экспрессия мРНК кальпастатина была выше контрольной группы через 7 дней и 14 дней (p=0,0001 для обеих точек), а после 30 дней не отличалась от контроля. Следовательно, препараты, которые по-разному ингибируют μ - или m-кальпаин, уменьшающие нейровоспаление при эндотоксинемии, можно использовать для предотвращения или уменьшения тяжести нейродегенерации.

ВРЕМЕННАЯ ПОТЕРЯ МЕЖПОЛУШАРНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗИ ПОСЛЕ ОДНОСТОРОННЕЙ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ КОРКОВОЙ ДЕПРЕССИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У БОДРСТВУЮЩИХ КРЫС

Т.М. Медведева^{1,2}, Л.М. Сулейманова², М.В. Сысоева¹, И.В. Сысоев¹, Л.В. Виноградова^{1,2}

¹Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН (Саратовский филиал), Саратов; ²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Известно, что нарушение нейросетевых взаимодействий играет важную роль в патогенезе многих заболеваний ЦНС. Характерный для мигрени односторонний паттерн неврологических симптомов предполагает нарушение межполушарных взаимодействий во время приступа мигрени. Мы исследовали влияние односторонней распространяющейся депрессии (РД), предполагаемого патофизиологического механизма ранней фазы приступа мигрени (ауры, предшествующей развитию головной боли), на межполушарную функциональную связность в разных областях коры больших полушарий. РД представляет собой стереотипную форму возбуждения нервной ткани в виде временной локальной нейроглиальной деполяризации, распространяющейся в виде авторегенеративной волны. Временная эволюция функциональной связности оценивалась с использованием мер взаимной информации и фазовой синхронизации, применяемых к записям локальных потенциалов поля, полученным в гомотопических точках двигательной и зрительной коры двух полушарий у свободно подвижных крыс после индукции в соматосенсорной коре одиночной односторонней РД. РД вызывала резкое падение межполушарной функциональной связности

в широкой полосе частот. Разобщение полушарий развивалось после окончания деполяризационной фазы РД, сохранялось в течение 5 минут и имело региональные и частотно-зависимые особенности. Период нарушения межполушарной синхронизации совпадал с аномальным поведением животных и следовым корковым возбуждением, развивающимся после РД. Впервые показано, что односторонняя РД вызывает обратимую потерю функциональных межполушарных связей в коре головного мозга бодрствующих животных. Учитывая критическую роль синхронизации широко распределенных корковых сетей в обработке сенсорной информации и сенсомоторной интеграции, описанное нами нарушение функциональной связности, вызванное РД, может участвовать в нейропатологических механизмах генерации симптомов мигрени. *Работа поддержана РНФ грант № 19-72-10030.*

ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АНАЛОГА АВП(6-9) – Ас-D-MPRG НА КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

А.А. Стаханова¹, О.Г. Воскресенская¹, К.В. Бо, В.П. Голубович², А.А. Каменский¹

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра физиологии человека и животных, Москва; ²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, лаборатория прикладной биохимии, Минск, Беларусь

С-концевая последовательность аргинин – вазопрессина функционально важным участком для проявления поведенческих эффектов. Стало известно, что аналог АВП(6-9) – Ас-D-Met-Pro-Arg-Gly-NH₂ – при интраназальном введении обладает биологической активностью, которая преобладает над самим прототипом.

В данной работе исследовались отставленные эффекты хронического неонатального введения (с 3 по 7 дни жизни) Ас-D-MPRG детенышам белых крыс на выработку навыка с отрицательным подкреплением. Выводок делили на 2 части: опытной водили тетрапептид в дозах 0,01, 1 или 10 мкг/кг в объеме 1 мл на 10 г массы тела, контрольной – эквивалентный объем воды для инъекций. Исследования проводили у животных трех возрастных групп: 1-я возрастная группа – 35-39 дней жизни (препубертатный период), 2-ая возрастная группа – 49-53 дня (пубертатный период) и 3-ья возрастная группа – 63-67 дней (половозрелые животные). Для выработки реакции с отрицательным подкреплением использовали тест «условная реакция активного избегания» (УРАИ).

В 1 возрастной группе при выработке УРАИ у животных, получавших тетрапептид в дозах 0,1 и 1 мкг/кг, количество выполненных реакций (ВР) достоверно выше, чем в контрольной группе, начиная с 1-го дня, а у животных, получавших тетрапептид в дозе 10 мкг/кг, начиная с 2-го обучения. Выработанный навык сохраняется у животных при введении 3-х доз.

Во 2 возрастной группе при выработке УРАИ у животных, получавших тетрапептид в дозе 0,01 и 1 мкг/кг, количество ВР достоверно выше, чем в контрольной группе, начиная с 3-го дня, а в дозе 10 мкг/кг, начиная с 4-го дня обучения.

В 3 возрастной группе в тесте УРАИ неонатальное введение тетрапептида в дозе 1 мкг/кг вызвало достоверное увеличение количества ВР на 2 и 3 дни, но только у самок, а при дозе 0,01 и 10 мкг/кг – на 1 и 4 дни обучения. Количество ВР при проверке сохранения навыка и суммарно за 4 дня обучения в опытных группах достоверно выше, чем в контрольных, при введении всех 3-х доз.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что тетрапептид Ас-D-MPRG действительно обладает отставленным действием, которое зависит от дозы неонатального введения и возраста тестируемых животных.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ СЕМАКСА (АНАЛОГ АКТГ(4-10)) НА МОДЕЛИ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС В ВОЗРАСТЕ 10 ДНЕЙ

Д.Д. Хухарева¹, Н.Ю. Евдокимова¹, Е.А. Себенцова², Н.Ф. Мясоедов², Н.Г. Левицкая^{1,2}

¹МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Институт молекулярной генетики, НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Перинатальная гипоксия (ПГ) является важнейшим фактором, оказывающим повреждающее влияние на развитие ЦНС. Дети, перенесшие ПГ, характеризуются нарушением двигательных функций, сниженной способностью к обучению, невнимательностью, гиперактивностью, повышенной тревожностью и другими когнитивными нарушениями. Изучение последствий ПГ и поиск методов их лечения остаются важнейшей задачей физиологии и медицины. Гептапептид семакс является синтетическим аналогом фрагмента адренкортикотропного гормона. Семакс используется в клинике в качестве ноотропного и нейропротекторного средства. Целью данной работы было изучение изменения уровня биогенных аминов в мозге и способности к обучению у крыс, подвергшихся воздействию острой нормобарической гипоксии (ОНГ) в возрасте 10 дней (ПНД10), а также оценка влияния Семакса на последствия ОНГ у крыс.

Работа проводилась на крысах линии Wistar обоего пола. На ПНД10 две трети каждого выводка подвергали сеансу гипоксии (О₂ 8 %, 2 ч). Сразу после гипоксии и в течение следующих 5 дней (2 раза в день) часть животных получала внутривентрикулярные (в/в) инъекции растворителя (группа Гип), другие животные – в/в инъекции Семакса в дозе 0,2 мг/кг (группа Гип-Сем). Контрольные животные (Конт) содержались в условиях с нормальным содержанием О₂ и получали в/в инъекции растворителя. На ПНД23 часть животных декапитировали, структуры мозга были собраны для оценки уровня биогенных аминов в мозге. Другие животные были использованы для оценки влияния ОНГ на выработку пищевого рефлекса на место в сложном лабиринте (ПНД42-47). Было показано, что ОНГ на ПНД10 приводит к высокой смертности у крыс. Кроме того, наблюдалось изменение активности биогенных аминов в среднем мозге и гиппокампе крыс группы Гип по сравнению с группой Конт. ОНГ нарушает способность к обучению у крыс во время выполнения задачи в сложном лабиринте: количество ошибок, латентный период выхода из начального отсека и время реакции были выше в группе Гип, чем в контроле. В группе Гип-Сем активность системы биогенных аминов и параметры обучения не отличались от показателей контрольной группы.

Можно заключить, что крысы, подвергшиеся ОНГ на ПНД10, продемонстрировали некоторые биохимические и поведенческие изменения, а введение Семакса частично компенсировало негативные последствия ОНГ.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА В РАННЕМ ВОЗРАСТЕ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ ФЕНОТИП МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

Д.М. Кузьмина^{1,2}, Н.А. Еремеева^{1,2}, Е.Д. Помелова², И.В. Мухина^{1,2}

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского;

²Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород

Стресс в детском возрасте является важным фактором, который может спровоцировать проявление различных психических и нейродегенеративных заболеваний. Целью исследования является изучение влияния хронического стресса в раннем постнатальном периоде на поведенческий фенотип самцов мышей линии C57BL/6. В исследовании использовались следующие модели: модель социального поражения, модель материнской депривации, модель легкого непредсказуемого стресса. Для мониторинга изменений поведенческого фенотипа использовались следующие методики: тест «открытое поле», тест вынужденного плавания Порсолта, тест социального распознавания, тест объектного распознавания, формирование условного рефлекса пассивного избегания. Оценка поведенческого фенотипа проводилась на 31-36 постнатальные дни развития животных. В результате группы экспериментов выявлено, что хронический социальный стресс ведет к снижению горизонтальной двигательной активности в тесте «открытое поле», а также снижению латентного периода неподвижности в тесте вынужденного плавания, при этом признаки поведения отчаяния не наблюдались. Моделирование хронического социального стресса привело к нарушениям объектной и социальной памяти у животных, но в то же время выработка условных рефлексов улучшилась. Животные группы материнской депривации демонстрировали повышенное число актов груминга, проявляя напряженное эмоциональное состояние, при этом в тесте Порсолта были выявлены признаки депрессивно-подобного поведения за счет предпочтения пассивного плавания. Было выявлено нарушение выработки условных рефлексов. Хронический легкий непредсказуемый стресс оказал выраженное влияние на тревожность животных, выразившуюся в сниженном времени в центре арены в тесте «открытое поле». Были выявлены нарушения социальной активности, а также объектной и социальной памяти. Степень выработки условного рефлекса пассивного избегания снизилась, а в тесте вынужденного плавания было показано снижение активности. Таким образом, хронический стресс в различных формах, перенесенный в раннем постнатальном периоде, вызывает нарушения врожденной рефлекторной активности, процесса восприятия новых объектов, рабочей памяти, что может свидетельствовать о нарушении работы энторинальной и мотосенсорной областей коры головного мозга, а также гиппокампа.

РЕПРОДУКТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

ВЕГЕТАТИВНЫЙ СТАТУС МУЖЧИН В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Ш.Д. Урунова, Ф.А. Шукуров

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Высокая частота климактерических расстройств, развивающихся в переходном возрастном периоде, обуславливают рост социально-экономических и медицинских проблем. Вопросы климактерия в течение многих лет привлекают внимание ученых всех стран, так как гормональная перестройка репродуктивной системы сопровождается развитием патологических изменений в различных органах и системах (Фролова О.Г., 2004г). Мужской климакс — это комплекс патологических изменений ряда важнейших функций организма, обусловленный возрастным нарушением гормонального баланса, обусловленного уменьшением количества мужского полового гормона тестостерона. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет мужской климакс как поздно развившийся гипогонадизм, который начинается проявляться после 40 лет.

Вегетативный статус изучали при помощи основных статистических показателей вариативности сердечного ритма у 40 мужчин в двух возрастных группах: 41-50 лет (1гр.) и более 60 лет (2гр.). В каждой группе выделены мужчины с удовлетворительным (1а и 2а) и неудовлетворительным (1б и 2б) состоянием. Установлено, что к 1а группе относятся 47,6%, а к 2а группе – 46,7% от числа обследованных мужчин. Сравнительная количественная характеристика вегетативного статуса между группами 1а и 1б показывает, что среднее квадратичное отклонение (СКО) и мода (Мо) практически не отличается и соответственно составляет для СКО 0,032 в группе 1а и 0,035 в группе 1б. Амплитуда моды (АМо), индекс напряжения (ИН) и ЧСС соответственно в 1,5, 2,45 и 1,21 раза больше в группе 1б по сравнению с группой 1а. Сравнительная характеристика вегетативного статуса между группами 2а и 2б показывает, что СКО и Мо уменьшается во 2б группе соответственно в 1,41 и 1,35 раза, составляя по СКО 0,11 и 0,08, а по Мо – 0,92 и 0,68. АМо, ИН и ЧСС во 2б группе увеличиваются соответственно в 1,24, 2,31 и в 1,37 раза, составляя по АМо 29% и 36%, по ИН 44 и 102 у.е. и по ЧСС 70 и 96.

Таким образом, наши исследования показывают, что у более 50% обследованных мужчин в возрасте 41 лет и более отмечаются яркие признаки нарушения вегетативного статуса с выраженной симпатикотонией, (уменьшение среднее квадратичного отклонения и моды, увеличение амплитуды моды, индекса напряжения и частоты сердечного сокращения). Эти изменения связаны с проявлением мужского климакса.

ВЕГЕТАТИВНЫЙ СТАТУС ЖЕНЩИН В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Ш.Д. Урунова, М.Н. Нажмидинова

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Известно, что в климактерическом периоде происходит перестройка организма, характеризующийся постепенной инволюцией, угасанием функции половой системы, происходящим в связи с возрастными изменениями. Развитие состояния климакса может привести к значительному ухудшению качества жизни и преждевременному старению. Английскими учёными достоверно доказано увеличение относительного риска развития сахарного диабета, инфаркта миокарда, ишемической болезни сердца в климактерическом периоде. В связи с вышеизложенным большое значение имеет количественная характеристика вегетативного статуса у женщин в климактерическом периоде. Вегетативный статус изучали при помощи основных статистических показателей вариативности сердечного ритма у 40 женщин в двух возрастных группах: 41-50 лет (1гр.) и более 50 лет (2гр.). В каждой группе выделены женщины с удовлетворительным (1а и 2а) и неудовлетворительным (1б и 2б) состоянием, характеризующим адекватность течения климактерического периода. Установлено, что к 1а группе относятся 35,3%, а к 1б группе – 64,7% от числа обследованных женщин; к 2а группе 47%, а к 2б – 53%. Сравнительная количественная характеристика вегетативного статуса между группами 1а и 1б показывает, что среднее квадратичное отклонение (СКО) и мода (Мо) уменьшается соответственно в 1,45 и 1,18 раза в 1б группе по сравнению с данными 1а группы, составляя по СКО 0,1 и 0,069, а по Мо 0,77 и 0,65. Амплитуда моды (АМо), индекс напряжения (ИН) и ЧСС соответственно в 1,7, 2,69 и 1,24 раза больше в группе 1б по сравнению с группой 1а, составляя по АМо 23% и 39%; по ИН – 42 и 113 у.е. и по ЧСС 80 и 93 уд/мин. Сравнительная характеристика вегетативного статуса между группами 2а и 2б показывает, что СКО и Мо уменьшается во 2б группе соответственно в 1,41 и 1,21 раза, составляя по СКО 0,1 и 0,07, а по Мо – 0,79 и 0,65. АМо, ИН и ЧСС во 2б группе увеличиваются соответственно в 1,29, 2,02 и в 1,16 раза, составляя по АМо 29% и 36%, по ИН 49 и 99 у.е. и по ЧСС 80 и 93. Таким образом, наши исследования показывают, что у 64,7% обследованных женщин в возрасте 41-50 лет и у 53% в возрасте 51 и более лет отмечаются яркие признаки нарушения вегетативного статуса с выраженной симпатикотонией. Эти изменения связаны с проявлением климактерического периода у женщин.

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОЦИТОВ В ОЦЕНКЕ НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИН

Ф.А. Шукуров

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Среди всего разнообразия отклонений, ассоциированных с нарушениями репродуктивного здоровья, особая роль принадлежит изменениям иммунного статуса. Исследование иммунологии репродуктивного процесса, происходящего в женском организме признано одним из наиболее перспективных направлений в решении проблем нарушений репродуктивных функций. Современное знание о клетках иммунной системы, молекулярных механизмах их взаимодействия позволяет глубже проникнуть в суть иммунологических сдвигов, сопутствующих репродукции. Анализ наших результатов показывает, что каждый анализируемый иммунофенотипический показатель достоверно отличался от показателей здоровых женщин. Наибольшие сдвиги в сторону повышения наблюдались со стороны клеток, потенциально обладающих цитотоксической активностью –

цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+), естественных киллеров (CD16+CD56+), ЕКТ (CD3+CD56+). Наблюдался значительный рост и числа В-лимфоцитов (CD19+). По полученным результатам была создана система иммунофенотипических маркеров нарушений репродуктивного здоровья у женщин путем анализа всех тестированных показателей на основе их 95% доверительных интервалов и соответствующих им ROC-кривых – AUROC, значение которых был выше 0,8. Установлено, что высокие прогностические значения отмечались в значении Т-хелперов (CD3+CD4+) – (AUROC = 0,890) с относительным числом этих клеток выше 36%; относительного числа цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+) – (AUROC = 1,0) с величиной более 21%; процентного содержания ЕКТ среди лимфоцитов крови (AUROC = 0,967) с его величиной более 4,3%; относительного числа естественных киллеров (AUROC=1,0) с процентным содержанием ЕК среди лимфоцитов крови выше 15%; содержания В-лимфоцитов значимости (AUROC = 0,968) с числом В-лимфоцитов выше 8,5%. Таким образом, изученные иммунофенотипические характеристики лимфоцитов практически в полном объеме (кроме числа CD3+ клеток) могут служить маркерами групп риска по угрозе репродуктивному здоровью женщин. Следует подчеркнуть, что все прогностически значимые отклонения названных количественных показателей не выходят за пределы физиологической нормы, но в случае их сочетания друг с другом указывают на риск репродуктивных нарушений.

РОЛЬ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И НАДПОЧЕЧНИКОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИНЫ

Ф.Т. Халимова

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Возможность адекватного приспособления организма женщины к окружающей среде во многом обеспечивается влиянием функций эндокринных желез. При этом нарушения репродуктивной функции у женщин (бесплодие, невынашивание беременности, мертворождение и др.), наряду с другими факторами, во многом зависит от функции щитовидной железы и надпочечников. При этом одним из механизмов такого нарушения может служить аутоиммунный процесс. Установлено, что около 20% женщин с привычным невынашиванием беременности, осложнениями беременности имеют аутоиммунные нарушения, вызванные аутоантителами к тиреоглобулину и ферменту тиреопероксидазе.

Было обследовано 54 женщины: 28 – женщины с сохраненным репродуктивным здоровьем; 26 – с признаками нарушения репродуктивного здоровья. У всех женщин определяли уровень следующих гормонов методом твердофазного иммуноферментного анализа: тиреотропного гормона, общего трийодтиронина (Т3), общего тироксина (Т4), кортизола, аутоантитела к тиреоглобулину и ферменту тиреопероксидазе. Результаты наших исследований показывают, что уровень гормонов щитовидной железы, аутоантител к компонентам щитовидной железы, кортизолу в значительной степени меняется у женщин с нарушениями репродуктивной функции. У них отмечается значительный рост уровней гормонов щитовидной железы при достоверном снижении уровней аутоантител к белкам щитовидной железы и кортизола. Для решения вопроса о том, какие изменения функций щитовидной железы и надпочечников могут служить маркерами нарушений репродукции женщин полученные данные были подвергнуты анализу на прогностическую значимость. С этой целью для каждого показателя определялись 95% доверительные интервалы. Степень их прогностической значимости определяли путем построения ROC-кривой – AUROC, учитывали те результаты, значение которых было выше 0,8.

Анализ результатов показывает на высокую прогностическую значимость нарушения репродуктивной функции указывают изменение концентрации следующих гормонов: тиреотропного гормона (AUROC = 0,982) со значением выше 1,7 мМЕ/л; тироксина (AUROC = 1,0) со значением выше 100 нмоль/л; кортизола (AUROC = 0,982) со значением ниже 215 нмоль/л.

ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ В ОЦЕНКЕ ГРУППЫ РИСКА НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Ф.Т. Халимова, Ф.А. Шукуров

Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан

Охрана репродуктивного здоровья женщин фертильного возраста является одной из основных медико-социальных проблем. Было обследовано 54 женщины: у 28 все предшествующие беременности заканчивались рождением здоровых детей – это были женщины с сохраненным репродуктивным здоровьем; у 26 имелись признаки нарушения репродуктивного здоровья, они составили группу риска, так как у них отмечались либо невынашивание беременности, либо преждевременные роды, либо задержка роста плода, либо наличие мертворожденных детей. У всех женщин определяли уровень гормонов методом твердофазного иммуноферментного анализа. В рамках данного исследования изучалось содержание в крови следующих половых гормонов: гормонов гипофиза – фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), пролактина; гормонов яичников – эстрадиола, прогестерона и метаболита последнего 17-ОН-прогестерона (17-ОП), андрогенов – тестостерона и его метаболита – дигидроэпиандростерона (ДГЭА-С). Для определения маркеров риска нарушения репродуктивного здоровья на донологическом этапе по половым гормонам рассчитывался их 95% доверительный интервал. Сравнительный анализ результатов двух групп показал на достоверный рост содержания в крови фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, пролактина, эстрадиола, прогестерона, которое происходит на фоне достоверного снижения уровня тестостерона. Степень их прогностической значимости определяли путем построения ROC-кривой – AUROC, значение которых было выше 0,8. Установлено, что небольшая группа половых гормонов может служить маркером группы риска развития нарушений репродукции. Установлено, что высокие прогностические значения отмечались в значении лютеинизирующего гормона (AUROC = 0,959), когда его величина была выше 4,8 МЕ/л; пролактина (AUROC = 0,982) с величиной выше 300 мМЕ/мл; эстрадиола (AUROC = 0,928) с величиной выше 290 пмоль/л; прогестерона (AUROC = 1,0) с величиной выше 50 нмоль/л.

Таким образом, при более детальном статистическом анализе показано, что небольшая группа половых гормонов может служить маркером группы риска развития нарушений репродукции: лютеинизирующий гормон, пролактин, эстрадиол, прогестерон.

ПРЕПОДАВАНИЕ ФИЗИОЛОГИИ

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОЙ ПРОГРАММЫ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ В МАГИСТРАТУРЕ

Л.И. Губарева, О.И. Анфиногенова, Т.И. Джандарова, Е.В. Агаркова

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь

В Концепции создания федеральных вузов сказано, что магистратура – это высшая ступень высшего образования. Следовательно, она призвана давать глубокие фундаментальные и прикладные знания, формировать расширенный объем гибких практических умений и навыков, который позволит выпускнику быть востребованным во многих отраслях и видах деятельности, а также поможет решать жизненно важные задачи и успешно работать с другими людьми. С учетом этого мы разработали на базе двух наших монопрограмм магистратуры "Физиология человека и животных" и "Психофизиология" новую междисциплинарную образовательную программу (ОП) магистратуры «Физиология и психофизиология» по направлению 06.04.01 Биология, которая будет давать студентам глубокие знания в области фундаментальной и прикладной физиологии и психофизиологии, формировать умения и навыки не только владения современным научным оборудованием для выявления функционального состояния кардиореспираторной, эндокринной и центральной нервной систем, адаптационных возможностей организма и резервов здоровья, детекции лжи, но и определения психофизиологического статуса объективными методами и методами психологического тестирования. Аналогов предлагаемого образовательного продукта в других федеральных вузах Российской Федерации нет. Содержательная новизна ОП заключается в увеличении количества рабочих программ по профильным дисциплинам на 27,3%, что позволит сформировать новые профессионально-профильные компетенции, даст возможность выполнять комплексные выпускные работы. Расширение и углубление знаний о биологических основах психических функций и поведения, механизмах регуляции и адаптации человека к условиям природной и социальной среды будет способствовать подготовке высоко конкурентных специалистов для работы во многих смежных областях: биоинженерных, биомедицинских, природоохранных, биологической и юридической экспертизы, мониторинге и восстановлении здоровья человека. При этом планируется использовать новые образовательные практики, сотрудничество и взаимодействие в образовательной среде, смешанное обучение. Это повысит качество образовательного процесса и уровень подготовки выпускников, что даст возможность расширить сферу их трудоустройства и возможности продолжения обучения в аспирантуре, профессиональной переподготовки.

ОТНОШЕНИЕ СТУДЕНЧЕСКОЙ МОЛОДЕЖИ К МОРАЛЬНО-ЭТИЧЕСКИМ ВОПРОСАМ ПРИМЕНЕНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

И.В. Муравьева¹, А.В. Зрютина¹, О.А. Фокина¹, Н.М. Муравьева²

¹Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов;

²Воронежский государственный университет», Воронеж

Расширенные возможности современных вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) порождают новые биоэтические проблемы. Впервые дилеммы в рассматриваемой сфере студенты медицинских образовательных учреждений изучают в рамках курса «Биоэтика». Согласно учебным планам ТГУ им. Г.Р. Державина, данная дисциплина входит в вариативную часть направлений подготовки (НП) Лечебное дело, Стоматология, Педиатрия. Однако, студенты, обучающиеся по НП Сестринское дело, в рамках освоения учебной программы, не имеют возможности рассмотреть этические проблемы репродуктивных технологий, так как соответствующая дисциплина отсутствует.

Целью нашего исследования являлось изучение понимания морально-этических вопросов, возникающих в аспекте применения ВРТ, студентами различных курсов медицинских специальностей, а также анализ отношения молодежи к рассматриваемым дилеммам.

Для достижения цели исследования нами была составлена анкета. В опросе приняли участие 146 человек в возрасте 16-20 лет, являющиеся студентами Медицинского института (студенты НП «Сестринское дело»: 1 курс (56 человек), 2 курс (17 человек), 3 курс (11 человек), 4 курс (42 человека) и НП «Лечебное дело»: 2 курс – 20 человек).

В ходе исследования показано, что существуют различия в отношении студенческой молодежи к ВРТ. Студенты, обучающиеся по НП «Сестринское дело» зачастую затруднялись с ответом на тот или иной вопрос. Можно предположить, что ответы данных групп студентов не были достаточно взвешены и проанализированы, а указанные варианты были даны согласно собственной точке зрения, без учета определенных биоэтических нюансов и особенностей. Обучающиеся направления подготовки «Лечебное дело», изучали дисциплину «Биоэтика», что также отражается в ответах, где мы видим категоричное «не навреди» - врач не может подвергать риску пациента, а также естественнонаучную точку зрения на вопрос статуса эмбриона, согласно которой – это потенциальная, развивающаяся личность. В ходе исследования показана необходимость внедрения в учебные планы и дисциплины среднее профессионального образования тем, касающихся морально-этических проблем, так как в настоящее время профессионализм медицинского работника заключается не только в его действиях, но и в словах, отношению к пациенту – сочувствию ему, сопереживанию.

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ВИРТУАЛЬНОГО ПРАКТИКУМА ПО НОРМАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ

С.В. Шутова

Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов

В докладе будет представлен результат разработки виртуального практикума для преподавания нормальной физиологии в Медицинском институте Тамбовского государственного университета, обсуждены проблемы организации и осуществления дистанционного обучения в высшем медицинском образовании. Описаны особенности проведения практических занятий с использованием виртуального практикума. В марте 2020 года, как и всем другим преподавателям вузов, пришлось внести

существенные изменения в методику преподавания нормальной физиологии, занятия по которой, как по базовой, и во многом теоретической дисциплине, полностью были переведены в дистанционный формат. Особую сложность вызвал процесс дистанционного проведения практических занятий. Но нам рабочий план удалось сохранить благодаря созданному на кафедре в 2007-2010 гг виртуальным практикумам. Виртуальные практикумы включают видеоматериалы экспериментальных лабораторных работ на животных с письменными комментариями (субтитрами). В период дистанционного преподаватель объяснял теоретические предпосылки лабораторной работы на платформе ZOOM и демонстрировал видеозаписи эксперимента, затем студенты выполняли задания в рабочей тетради, после чего следовал контроль знаний. После выхода института в режим офлайн, практические занятия дублируются и в онлайн-режиме для тех немногих студентов, кто после летних каникул не смог вернуться в Россию. Статистика просмотров этих записей показывает большую востребованность и среди студентов, находящихся в России. В целом, наш опыт проведения учебных занятий у студентов-медиков в период с марта по июнь 2020 года подтверждает общепринятое мнение, что возможности дистанционного обучения в медицинском образовании специфичны и ограничены, однако некоторые его элементы все же могут быть использованы в предоставлении обучающимся необходимых профессиональных компетенций и навыков.

РОЛЬ СМЕШАННОГО ОБУЧЕНИЯ В ПРОЦЕССЕ ПРЕПОДАВАНИЯ ФИЗИОЛОГИИ

К.М. Хамчиев, З.К. Хамчиева, А.К. Жиенгаалиева

Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Казахстан

Одной из основных отличительных особенностей сегодняшнего образования является глобальная интернетизация населения и проникновение цифровых технологий во все сферы обучения. Все это закономерно требует и новых подходов к процессу обучения, адаптации известных образовательных методик к современным условиям и разработке новых технологий. На первый план в данных условиях выходят разные методики смешанного обучения. Целью данной работы явилось изучение эффективности одной из форм смешанного обучения - «перевернутой лекции». Были проанализированы ответы студентов Медицинского университета Астана по следующим критериям: мотивация к изучению материала дисциплины, самооценка студентом вовлеченности в научно-образовательный процесс, самооценка преподавателем его роли в подготовке к занятию, роль формирующей оценки знаний в подготовке к итоговому экзамену. Результаты, полученные в процессе анализа ответов студентов показали, что 86% студентов отдают предпочтение «перевернутой лекции» по сравнению с традиционной методикой преподавания, оставшиеся 14% ответили, что им более понравилось бы сочетание новых технологий с традиционными лекциями, что по всей видимости может отражать индивидуальную способность студента к обучению и восприятию информации. Мотивация студента во многом определялась наличием обратной связи и представляет со слов студентов «двусторонний процесс». Методология «перевернутой лекции» требует от лектора более четкого и структурированного подхода, активного использования цифровых технологий, больших временных затрат к подготовке к занятию. Таким образом, технология «перевернутой лекции» будет эффективна именно в тех участках знания, где важны познавательная активность, постоянное расширение теоретических и практических пластов знаний, а также скорость решения проблем, уверенность в собственных силах и самостоятельность. Технология «перевернутой лекции» позволяет сформировать и закреплять навыки получения знаний, формы достижения консенсуса, способности ориентироваться в информационных полях, находить объективно правильное решение в мультидисциплинарных ситуациях, умение работать в команде, умение слушать и активно участвовать в дискуссии, самостоятельно и целенаправленно изучать и использовать ресурсы, отстаивать свою точку зрения.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ФИЗИОЛОГИИ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ

В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина, Ю.М. Емельяничик, С.Д. Орехов, П.М. Королев, М.А. Меленец, О.С. Миклашевич, С.Я. Шалесная

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Весна прошлого года существенно изменила традиционные подходы к изучению физиологической дисциплины в связи с возникшей эпидемической ситуацией. С проблемой быстрого перехода обучения от варианта офлайн на онлайн без остановки образовательного процесса столкнулся и коллектив нашей кафедры. Однако накопленный ранее опыт позволил быстро построить технологию преподавания, что обусловлено более двадцатилетним применением на кафедре дистанционного обучения, для интернет-тестирования разработана большая база вопросов и ситуационных задач по всем разделам дисциплины. В новом формате обучения при проведении видеоконференций на нашей кафедре получили предпочтение платформы Skype, Zoom, с помощью которых можно осуществлять демонстрацию различных лабораторных работ, а также схем, таблиц и рисунков при рассмотрении теоретических вопросов. Используемая в университете платформа MOODLE позволяет разместить электронные учебно-методические комплексы, обеспечивающие информирование студентов по всем разделам физиологии, лекционные и видеоматериалы, в том числе созданные сотрудниками кафедры, лабораторные работы с описанием методики их выполнения. Применение альтернативных методов, с моделированием различных физиологических процессов, позволяет полноценно проводить практическую часть лабораторных занятий и создавать действенный инструмент обучения в режиме онлайн. Данные программы получены благодаря плодотворному сотрудничеству с организацией InterNICHE (International Network for Human Education) и зарубежными образовательными центрами. Перенос занятий в дистанционный формат отразился на успеваемости учащихся, но мотивированные студенты и в этих условиях смогли получить необходимый уровень знаний. В целом комплексный подход к дистанционному обучению, внедрение современных информационных технологий позволил сотрудникам кафедры избежать остановки образовательного процесса и минимизировать негативные последствия пандемии.

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «РЕЦЕПТОРОЛОГИЯ» СТУДЕНТАМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА

О.И. Слаповская, А.Г. Патюков, В.В. Русаков, А.Ю. Комаров

Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

В XXI веке высшее образование проходит преобразования, направленные на улучшение качества подготовки будущих профессионалов. Выпускники вузов наряду с академическими знаниями, должны быть инициативными, обладать высоким потенциалом для дальнейшего самообразования, уметь работать в команде. На кафедре нормальной физиологии Омского государственного медицинского университета студенты второго курса фармацевтического факультета изучают дисциплину «Рецепторология», которая входит в вариативную часть дисциплин – 72 академических часа – 2 зачетные единицы. Промежуточная аттестация – зачет. В исследовании приняли участие 32 студента фармацевтического факультета – 3 группы по 10-11 человек. Преподавание дисциплины проводилось в традиционном стиле и с использованием информационных технологий – платформа zoom. На практических занятиях проводился устный опрос, разбор ситуационных задач, просмотр учебных видеороликов с обсуждением в малых группах. На занятиях студенты дискутировали по профильным вопросам: модели строения клеточных мембран, понятие «лиганд-рецептор», влияние различных физиологически-активных веществ на процессы жизнедеятельности организма и др. В результате проведенного исследования установлено, что студенты второго курса, имея базовые знания по дисциплине «Физиологии с основами анатомии», с интересом готовились к занятиям по учебной дисциплине «Рецепторология». Средний балл в группах варьировал от 4,4 до 4,8. Активное участие во время обсуждения профильных вопросов принимали до 80% студентов. Таким образом, преподавание дисциплины «Рецепторология» студентам второго курса фармацевтического факультета можно считать целесообразным, так как эта дисциплина поддерживает интерес к учебе и является стимулом для обучения на профильных кафедрах.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОНАНОСИСТЕМ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРОВ ВАЖНЫХ ДЛЯ ТРАНСЛОКАЦИИ БЕЛКОВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

П.Е. Вольтинский¹, Э.В. Бочаров^{1,2}, В.М. Табакмахер¹, Д.Е. Нольде¹, Р.Г. Ефремов^{1,2,3}

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет); ³НИУ «Высшая школа экономики», Москва

Функционирование некоторых белков, обладающих стабильной пространственной структурой в воде, связано с их переносом в клетку или из нее через липидную мембрану. Белки могут проникать через мембрану с помощью различных вспомогательных систем (например, транслоконов, мембранных переносчиков). Кроме того, для некоторых белков возможно прямое проникновение – встраивание в мембрану с последующим проходом и рефолдингом на противоположной стороне липидного бислоя. Во всех случаях при этом белки испытывают существенные структурные перестройки, связанные с изменением их микроокружения.

Исследование таких пространственных перестроек экспериментальными методами очень сложная задача. Если при переносе через мембрану участвуют белки-помощники, то исследовать надо комплексные системы. При прямом проходе через мембрану структура белка претерпевает несколько различных переходов, фиксировать которые проблематично. С другой стороны, времена этих процессов слишком велики для эффективного использования молекулярной динамики в системах белок-мембрана. Альтернативным решением является исследование изменения структуры белка в различных растворителях, имитирующих изменение микроокружения при взаимодействии с белками либо с мембранами. Поведение белка в таких растворителях позволит предсказать участки, которые могут менять свою структуру при изменении микроокружения и, следовательно, быть важными фрагментами, определяющими эффективность переноса через мембрану.

В работе исследован рефолдинг каталитических субъединиц природных токсинов ризина и вискумина. Исследование осуществляли посредством длительных расчетов молекулярной динамики в денатурирующих условиях. Кроме того, для исследуемых белков проанализировано изменение взаимодействия с мембраной с использованием конформационного поиска методом Монте-Карло и молекулярной динамики в крупномасштабном представлении. Изучение структурных перестроек в белках при изменении окружения и анализ изменений внутрибелковых контактов, позволил лучше понять доставку токсинов в цитоплазму. Кроме того, полученные результаты могут быть использованы при разработке белков, способных самопроизвольно проникать в цитоплазму. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00697 А.*

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЙ ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСОВ И БАКТЕРИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ UVA ИЗЛУЧЕНИЯ

И.Н. Завестовская^{1,2}, В.А. Гущин³, М.А. Никифорова³, Л.И. Руссу³, Е.А. Чешев¹, А.Л. Коромыслов¹, И.М. Тупицын¹, А.А. Фроня^{1,2}, М.С. Григорьева^{1,2}

¹Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН; ²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ;

³НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва

Продолжающаяся больше года пандемия, связанная с распространением вируса SARS-CoV-2 привела к активизации работ по поиску не только специфических средств профилактики и лечения, но и эффективных средств

для борьбы с накоплением и распространением инфекционных агентов в окружающей среде. Наличие средств безопасной для человека обработки контактных поверхностей с целью инактивации вирусов и бактерий позволит в существенной степени снизить риск передачи вируса от человека к человеку, либо уменьшить количество патогенных микроорганизмов.

В данной работе представлены результаты экспериментальных исследований воздействия ультрафиолетового излучения в диапазоне длин волн UVA, безопасном для человека, на инфекционные свойства коронавируса.

В работе использовался бычий коронавирус, который рассматривается как модельная среда для исследования коронавируса SARS-CoV-2. Определение эффективности инактивации исследуемых патогенных биологических агентов от длины волны и дозы излучения было осуществлено согласно разработанному протоколу с помощью полупроводниковых источников излучения с длиной волны 371 нм и 401 нм. Доза облучения бычьего коронавируса варьировалась путем изменения длительности облучения.

Для воздействия обоими длинами волн светодиодов наблюдается дозозависимое снижение инфекционного титра вируса, в зависимости от времени обработки. Наиболее высокое снижение титра вируса наблюдается при обработке вирусодержащей жидкости светодиодом с длиной волны 371 нм в течение 40 минут.

Полученные в ходе исследований результаты могут стать основой разработки безопасной для человека технологии дезинфекции светом, которая в перспективе может стать универсальной и, безусловно, самой биосовместимой стратегией борьбы с патогенными биологическими агентами, независимо от того, являются ли они вирусами, бактериями или грибами. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-60292.*

ОЦЕНКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПОВЕРХНОСТИ МИЦЕЛЛООБРАЗНЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДОМ КонтРАСТИРОВАНИЯ В МАЛОУГЛОВОМ РЕНТГЕНОВСКОМ РАССЕЯНИИ

А.В. Залыгин^{1,3}, А.Т. Приходько^{1,2}, И.С. Васкан¹, В.А. Олейников¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²Московский институт электронной техники; ³Московский педагогический государственный университет, Москва

Достижения в области нанотехнологий позволили разработать наночастицы для применений в биомедицине. Большое разнообразие наноматериалов было предложено в качестве потенциальных наноносителей для диагностических систем и точечной доставки лекарств. Наиболее важную роль, определяющую эффективность наночастиц, играют свойства поверхности, а особенно – топография поверхности, поскольку она обуславливает взаимодействие наночастицы как с мишенью, так и с окружающей средой. Таким образом, ключевым значением для разработки эффективных биомедицинских наночастиц является знание их поверхностной структуры. Однако характеристика поверхности наночастиц в физиологических условиях является сложной задачей из-за ограничений экспериментальных методов. Дополнительные трудности возникают из-за возможной гетерогенности структуры поверхности наночастиц, которая также влияет на их эффективность. В данной работе предложен подход к качественной характеристике поверхности мицеллообразных наночастиц, образованных FSL конструкторами Biot-CMG2-DE, основанный на сочетании методов малоуглового рентгеновского рассеяния и вариации контраста. Структура мицелл на основе биотинового конструктора изучались ранее [1] преимущественно за счёт моделирования молекулярной динамики. Предложенный подход позволил выявить, что эти наночастицы обладают неоднородной поверхностью из-за неравномерного распределения вокруг гидрофобного ядра спейсера CMG2 и преимущественной его локализации в плотках. Полученные при расшифровке данных малоуглового эксперимента результаты были подтверждены путем сравнения с полноатомной структурой наночастиц, рассчитанной в результате молекулярно-динамического моделирования. Хорошее соответствие экспериментальных данных с результатами моделирования свидетельствует о том, что предложенный подход может быть использован для качественной оценки поверхности неоднородности многофазных наночастиц, образованных компонентами с различной электронной плотностью.

1. Zalygin A., et al. Structure of Supramers Formed by the Amphiphile Biotin-CMG-DOPE // *ChemistryOpen*. – 2020. – Vol. 9. – N 6. – P. 641–648.

ЛИПИДНАЯ НАНОТРУБКА - МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЙ СЕНСОР ОДИНОЧНЫХ БЕЛКОВ И БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

К.А. Иванова^{1,2}, П.В. Башкиров¹

¹ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва; ²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

Сенсоры на основе нанопор обладают огромным потенциалом в качестве инструмента для исследования одиночных молекул за счет высокой чувствительности, универсальности и простоты подхода, который заключается в измерении скачков ионного тока, вызванных частичным перекрытием просвета нанопоры молекулой аналита. Этот метод позволяет находить диаметр, дипольный момент, заряд молекул и динамику преобразования в микро- или наносекундном масштабе времени. В данной работе мы предлагаем метод создания мультимодального сенсора одиночных молекул на основе цилиндрической липидной нанотрубки (НТ). За счет эластичных свойств стенки НТ становится возможным регистрация не только прохождения молекул внутри канала НТ, но и адсорбции одиночных молекул белков на ее наружной поверхности, что значительно расширяет функциональность такого сенсора по сравнению с нанопорами. В ходе выполнения работы было проведено параметрическое исследование характеристик шума измеряемого ионного тока при различных значениях длины НТ, ионной силы электролита и ширины полосы пропускания сигнала. Было определено значение константы Хуга для 1/f шума ($3 \cdot 10^3$), которая оказалась

на порядок больше, чем для твердотельных нанопор, что может объясняться флуктуацией эластичной формы НТ. Несмотря на большую $1/f$ шум, теоретически и экспериментально доказана возможность детектирования изменения геометрии НТ длиной 100-180 нм при адсорбции на поверхности одиночных молекул белка, если время взаимодействия белка и НТ составляет более 1 мс. При этом радиус НТ должен быть достаточно тонким для регистрации одиночных молекул. Кроме того, был предложен подход регистрации одиночных молекул внутри просвета липидной НТ. Был использован молекулярный конструктор – связывающийся с белком ДНК-аптамер, модифицированный холестерином, удерживающим ДНК у мембраны. В итоге, было показано, что регистрация отдельных событий становится возможной при совпадении поперечных размеров просвета НТ и радиуса гирации белка.

МАГНИТО-ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОСОВМЕСТИМЫХ МАГНИТНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ

Е.П. Колесова, Д.И. Клименко, В.Г. Маслов, А.О. Орлова

Университет ИТМО, Санкт-Петербург

Наночастицы Fe_3O_4 (МНЧ) являются перспективным материалом для биомедицинских исследований, с их помощью можно создавать системы для контрастирования и гипертермии онкологических заболеваний. Движением МНЧ и систем на их основе можно управлять магнитным полем и осуществлять адресную доставку лекарственных препаратов. Перспективность применения магнитных наноконструкций определяется возможностью создания стабильной коллоидной системы. Отличительной чертой частиц Fe_3O_4 является превращение метастабильной фазы магнетита в маггемит, которое происходит за счет окисления железа. Данный факт значительно усложняет интерпретацию физических свойств композитов и влияет на их магнитные свойства. Было проведено исследование стабильности и магнито-оптических свойств магнитных частиц Fe_3O_4 кубической и сферической формы. Анализ магнито-оптических свойств позволил моделировать состояние МНЧ в биологических средах, а именно их намагничённость, агрегацию и взаимодействие с окружением. Синтезированные МНЧ продемонстрировали высокую коллоидную стабильность при длительном воздействии постоянного магнитного поля, данный факт позволяет сохранять функциональность МНЧ в широком диапазоне условий. Была выявлена зависимость оптических свойств МНЧ от внешнего окружения, для чего были сформированы образцы МНЧ в различных средах. Полученные зависимости позволили определить влияние эффективности взаимодействия МНЧ между собой на магнитные свойства образцов. Был проведен анализ спектров магнитного кругового дихроизма (МКД) при приложении постоянного магнитного поля напряженностью до $\pm 1,5$ Т. В отличие от неструктурированных спектров поглощения МНЧ, спектры МКД более структурированы и позволяют получить информацию об электронных переходах при поглощении электромагнитного излучения. Одновременный анализ спектров поглощения и МКД позволяет получить более полную картину об электронной структуре образцов и их состоянии. Полученные данные о магнито-оптических свойствах наночастиц магнетита позволяют выявить закономерности ориентации частиц во внешнем магнитном поле, что является принципиально важным аспектом для применения магнетита в адресной доставке лекарств. *Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, госзадание №. 2019-1080.*

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ

В.А. Олейников

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²ИФИБ Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва; ³Университет ИТМО, Санкт-Петербург

Рассмотрены два аспекта применения нанотехнологий в медицине. Во-первых, это широкий спектр различного типа наночастиц и наноструктур для диагностики (плазмонные и флуоресцентные наночастицы для визуализации объектов и процессов в клетках, тканях, организмах), для терапии (магнитные и плазмонные наночастицы для гипертермии) и наноструктуры для адресной доставки лекарственных агентов к мишеням. Вторым аспектом является развитие макроинструментов, обеспечивающих получение данных от наночастиц и наноструктур, контролирующее их функционирование в живых объектах (нагрев при гипертермии, освобождение лекарственных агентов, получение оптической и иной информации). В плане исследований процессов и структур, рассматриваются методы корреляционной микроскопии, представляющие собой объединение нескольких микроскопических (или микроспектроскопических) техник, обычно в одном инструменте. В качестве примера, рассматривается подход, реализованный в уникальной научной установке: «Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии», <http://www.ibch.ru/about/unsceiq>. В едином приборе объединены методы сканирующей зондовой микроскопии, оптической микроскопии/микроспектроскопии и механической ультрамикротомографии. Инструмент позволяет реализовать все преимущества сканирующей зондовой микроскопии, включая методы микроспектроскопии ближнего поля. Демонстрируются возможности использования апертурных и безапертурных методик при получении спектров комбинационного рассеяния усиленных на наночастицах (SERS) или на острие зонда (TERS). Использование этого подхода ограничено возможностью получения 3D спектральной информации высокого разрешения только от фиксированных объектов (технологии заморозки или фиксации в смолах). В плане работы с живыми объектами рассмотрены методы, основанные на конфокальной КР спектроскопии. Приводятся примеры получения спектральных данных о функционировании живых организмов, в частности, тканей живого мозга (на мышинных моделях). *Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, госзадания №. 2019-1080 и № 075-00286-21-01, а также при поддержке гранта РНФ № 19-14-00171.*

НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ГЕНЕРАТОРЫ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ДЛЯ СОНО- И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

А.О. Орлова

Университет ИТМО, Санкт-Петербург

Разработка новых лекарственных препаратов для эффективной терапии онкологических заболеваний сегодня является ключевой задачей современной медицины. Существует большой класс молекулярных и наноструктурированных материалов, которые под действием электромагнитного излучения при взаимодействии с их ближайшим окружением эффективно генерируют активные формы кислорода (АФК), способные запускать различные механизмы гибели клеток. Данный подход лежит в основе метода фотодинамической терапии (ФДТ), который сегодня успешно используется в терапии различных форм рака и бактериальных инфекций. Несмотря на ряд преимуществ ФДТ, таких как неинвазивность и минимальное побочное действие на здоровые ткани, данный метод имеет одно принципиальное ограничение, обусловленное необходимостью использования света видимого диапазона, который имеет очень ограниченную глубину проникновения в ткани. Недавно было показано, что ультразвук низкой интенсивности с частотой 1-3 МГц в сочетании с классическими сенсibilizаторами АФК или наночастицами способен ингибировать рост раковых опухолей у лабораторных животных. Физический механизм данного эффекта является более комплексным по сравнению с фотодинамическим эффектом, но по аналогии с последним получил название сонодинамический эффект, а метод, в основу которого может быть положен данный эффект - сонодинамической терапией (СДТ). Недавно нашей группой на клеточной линии меланомы человека впервые был продемонстрирован СДТ эффект в результате сочетанного действия ультразвука низкой интенсивности с частотой 20 кГц и органического сенсibilizатора АФК хлорина еб. В работе обсуждаются подходы к формированию гибридных наноструктурированных генераторов АФК, созданных на основе люминесцирующих полупроводниковых нанокристаллов, наночастиц диоксида титана и органических фотосенсibilizаторов (хлорина еб, алюминиевого комплекса сульфоталозианина, тетрафенилпорфирина). Рассмотрены их оптические, фотофизические и функциональные свойства. Показано, что использование наноструктурированных и органических генераторов АФК в сочетании с электромагнитным излучением или ультразвуком позволяет достигать выраженного ФДТ и СДТ эффектов. Рассмотрены дальнейшие перспективы применения генераторов АФК для терапии онкологических заболеваний и бактериальных инфекций.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛАЗЕРНОГО СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ ПОРИСТОГО КРЕМНИЯ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

М.С. Григорьева^{1,2}, А.А. Григорьев^{1,2}, И.Н. Завестовская^{1,2}, А.П. Канавин^{1,2}, В.Ю. Тимошенко^{1,2,3}, А.Ю. Харин¹

¹Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; ²Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН;

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Актуальность исследования взаимодействия лазерного излучения с пористым кремнием (ПК) определяется ростом в последнее десятилетие применения наноструктур ПК в различных областях биомедицины, что связано с его уникальными оптическими и теплофизическими свойствами, биосовместимостью, биodeградированностью и др. Из-за большой практической значимости лазерно-структурированных кремниевых подложек, а также наночастиц кремния, полученных при лазерной абляции, моделированию данных процессов посвящено большое количество. Однако до настоящего времени моделирование описывает взаимодействие излучения с монокристаллической подложкой, в то время как особый интерес для синтеза может представлять взаимодействие с подложкой ПК. В работе исследованы процессы нагрева и плавления ПК под действием падающего лазерного излучения на основе модели эффективной среды, а также проведено моделирование процесса абляции пленок ПК при облучении коротковолновыми лазерными импульсами с учетом однофотонного поглощения. Процесс лазерного нагрева слоя ПК лазерными импульсами не длительности рассматривался в рамках тепловой модели. В расчетах была учтена зависимость теплофизических и оптических величин кремния от его пористости. Получена аналитическая зависимость порога плавления ПК от его пористости. В результате проведенных расчетов установлено, что порог плавления ПК при воздействии лазерных импульсов резко снижается с ростом пористости материала. Для определения общих закономерностей по изменению порога лазерной абляции ПК методом молекулярной динамики проведено моделирование процесса абляции пленок ПК с размером пор 1-3 нм различной степени пористости при воздействии на них лазерного излучения различной длины волны и мощности. Обнаружено значительное снижение порога абляции для пористых образцов. Причем порог абляции падает с увеличением пористости и слабо зависит от размера пор. На основании проведенных исследований можно говорить о том, что порог лазерной абляции при синтезе кремниевых наночастиц может быть снижен за счет использования пористых подложек, что может привести к удешевлению лазерно-абляционного синтеза и существенному снижению требований к оборудованию при проведении лазерной абляции. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-02-00861.*

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ, МЧЕННЫХ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ СУЛЬФИДА КАДМИЯ

Г.А. Набережных¹, А.А. Сергеев², Д.К. Чистюлин¹, О.Д. Новикова¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова, ²Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток

Квантовые точки (КТ) представляют собой новое поколение флуорохромов, обладающих значительными преимуществами по сравнению с традиционными органическими красителями. Их можно использовать для получения ассоциатов и упорядоченных слоев из различных биополимеров в целях сверхчувствительной регистрации взаимодействия биологических объектов, в том числе для медицинской диагностики. Апробированы возможности использования различных природных биополимеров, конъюгированных с КТ сульфида кадмия, для получения меченных производных в растворе и на твердой поверхности.

В работе использовали порины из наружной мембраны иерсиний (*Yersinia pseudotuberculosis* и *Y. ruckeri*), их агрегированные формы в виде телец включения, положительно (хитозан) и отрицательно (каррагинан, липополисахарид) заряженные биополимеры. Показано, что интенсивность флуоресценции КТ, синтезированных в растворах этих образцов, при pH 8,0 в два раза выше, чем КТ, полученных при pH 5,0. Флуоресценция образцов и максимумы спектров эмиссии (450 нм) сохраняются при интенсивном диализе против буферов с соответствующими значениями pH. Формирование упорядоченных надмолекулярных структур поринов иерсиний, меченных КТ проводили: (1) конъюгированием пориновой матрицы с предварительно полученными стабилизированными КТ и (2) синтезом КТ в сформированной на слюде пориновой матрице в поддерживающем липидном бислое. Размеры КТ и их конъюгатов с белками измеряли с помощью метода динамического рассеяния света. Морфологию поверхности образцов исследовали методом атомно-силовой микроскопии, оптические свойства биоконъюгатов – сканирующей флуоресцентной спектроскопией. В случае образцов биоконъюгатов, синтезированных непосредственно в белковой матрице, максимум поглощения КТ лежит в одном и том же спектральном диапазоне (380 нм), что указывает на формирование точек одинакового размера, т.е. определяется размером «ячеек» белковой сетчатой матрицы, ограничивающих размер КТ. Обнаружено, что высоко гомологичные и подобные по пространственной организации порины иерсиний формируют отличные по структуре матрицы. Это представляет значительный интерес с точки зрения химической сенсорики и открывает перспективу использования наноструктур на основе поринов, меченных КТ, в качестве биосенсоров. *При поддержке гранта РФФИ № 19-03-0031.*

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19

Р.И. Сепиашвили

Российский университет дружбы народов, Институт иммунофизиологии, Москва

Распространение пандемии новой коронавирусной инфекции по всему миру поставило остро перед человечеством вопрос о создании вакцины для профилактики COVID-19. Во многих лабораториях мира начались ускоренные работы по созданию вакцин против COVID-19.

В настоящее время в различных странах мира созданы 23 зарегистрированные вакцины. Большинство из них зарегистрированы ВОЗ и ЕМА. При производстве препарата для прививки от коронавируса сегодня используется несколько основных подходов, или «дизайнов»:

- инактивированная вакцина,
- рекомбинантная, или векторная, вакцина,
- РНК-вакцина,
- ДНК-вакцина.

Инактивированная вакцина – это препарат, в основе которого находится вирус (или частицы микроорганизма), который был выращен в лабораторных условиях, а после убит термическим или химическим способом. Антигенность таких вирусов существенно снижена, инфекционными (или способными быть причиной заболевания) они не являются. Одна из потенциальных проблем – недостаточная инактивация вируса.

Векторная вакцина создана при помощи генной инженерии, при этом функцию доставки генетического материала в клетки выполняют вирусные векторы, активно применяемые в области генной терапии, то есть, по сути, данная технология является ничем иным, как редактированием генома. Эта вакцина, использующий вирус без возможности размножиться (вирус лишен гена размножения) с целью защиты организма от заражения. Такой вирус называют «вектором», его цель – транспортировка генетического материала.

РНК-вакцина не использует инактивированный вирус или его часть. Она создается на основе короткой генетической последовательности из генома вируса, с помощью которой кодируется поверхностный белок (как правило, используемый вирусом для проникновения в клетку. То есть, не сам белок, а его «описание»). Внутри клетки по этому описанию синтезируется сам белок, а уже на этот белок реагирует организм и вырабатывает иммунный ответ.

Сегодня **ДНК-вакцины** не применяют для лечения человека, против коронавируса регуляторами не зарегистрировано ни одного препарата данного типа, однако прогнозируется, что в будущем прививки такой вакциной будут довольно эффективны. В отличие от РНК-вакцины, синтез белка при использовании которой происходит в цитозоле и не проникает в ядро клетки, ДНК-вакцине необходимо проникнуть именно в ядро клетки, где и синтезируется антиген. При внушительном наборе плюсов использования такой вакцины имеются два существенных минуса, больше похожие на угрозы: опасность интеграции чужеродной ДНК в геном клетки и «неспецифический иммунный ответ». Тем не менее, в данный момент ряд ДНК-вакцин против COVID-19 уже проходят разные фазы испытания

Сегодня в России одобрено для использования 4 вакцины против COVID-19.

Все они созданы российскими учеными, большая часть в России же и производится:

- вакцина «Спутник V» производства НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи;
- вакцина «ЭпиВакКорона» производства ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор»;
- вакцина «КовиВак» производства ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова;
- вакцина «Спутник Лайт» производства НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

24 ноября 2021 года в России зарегистрирована еще одна вакцина – «Спутник М» для подростков 12–17 лет.

Вакцина «Спутник V» содержит человеческий аденовирус, из которого вырезали гены, отвечающие за патогенность и размножение, но добавили ген с инструкцией по созданию белка, из которого построены шипы на оболочке коронавируса.

«Спутник Лайт» – то же самое, что и первая доза вакцины «Спутник V». Одна доза препарата обеспечивает эффективную защиту уже переболевших людей и хорошо подходит для ревакцинации.

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

Назальная вакцина «Спутник V». Вакцина, разрабатываемая Центром имени Гамалеи, имеет официальное название «Гам-КОВИД-Вак», в лекарственной форме спрей назальный. 12 октября 2021 года Минздрав одобрил проведение второй фазы испытаний этой вакцины. В клинических исследованиях примут участие 500 взрослых добровольцев. Окончание испытаний запланировано на 31 декабря 2023 года. Назальная вакцина «Спутник V» – это тот же двухкомпонентный препарат «Спутник V», который вводят внутримышечно. Ампулы будут поставляться вместе со специальной насадкой для введения в нос.

Вакцина «КовиВак». По принципу действия препарат очень похож на вакцину против полиомиелита. Сначала в лаборатории выращивают большое количество коронавирусных частиц. Затем их инактивируют при помощи бета-пропиолактона, который лишает их способности размножаться. Для надежной защиты требуется две дозы вакцины, которые нужно вводить с интервалом 14 дней. Используется для вакцинации людей от 18 лет, если у них нет аллергии на компоненты вакцины и не было тяжелых аллергий в прошлом.

Вакцина «ЭпиВакКорона». Выпускают препарат в форме суспензии для внутримышечного введения, белого цвета, которая при отстаивании разделяется на два слоя: верхний представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, нижний является осадком белого цвета, легко разбивающимся при встряхивании. Вакцина содержит три коронавирусных пептида – это небольшие кусочки белка, из которого состоят шипы коронавируса. Пептиды закреплены на белке-носителе – на него должны реагировать иммунные клетки привитого человека.

Вакцина «ЭпиВакКорона-Н». ЭпиВакКорона-Н не отличается от предшественника, ЭпиВакКорона, ни по показаниям, ни по эффективности. Единственное отличие – в новой вакцине два из трех пептидов объединены в один.

Вакцина от компании Pfizer (США–Германия). Вакцина содержит наночастицы, в которых заключена вирусная мРНК. Это кусочек генетического материала коронавируса, содержащий инструкцию по созданию белка, из которого построены шипы на оболочке вируса. После прививки наночастица передает мРНК некоторым мышечным клеткам, которые создают вирусный белок, затем режут его на части и выставляют кусочки на своей поверхности. Такие клетки превращаются в учебный материал для иммунной системы. Через несколько дней клетки, в которые попала вакцина, разрушают вирусную мРНК, так что геном человека после прививки не меняется.

Вакцина от компании Moderna (США). Такая же, как вакцина от компании Pfizer.

Вакцина от компании Janssen (Johnson & Johnson) (Великобритания). Препарат очень похож на вакцину «Спутник Лайт». Единственное существенное отличие – в сроках, за которые должна наработаться эффективная защита. Для эффективной защиты нужна одна доза вакцины.

Вакцина от компании AstraZeneca (европейские производители). Так же, как вакцина Janssen, только в качестве средства доставки инструкции для создания вирусного белка в человеческие клетки используют модифицированный аденовирус шимпанзе. Для эффективной защиты нужны две дозы. Особенно рекомендуется лицам старше 60 лет. При использовании данной вакцины у лиц 40–50 лет выявлены осложнения в виде развития тромбоза.

Вакцина Sinopharm (Китай). Вакцина содержит инактивированные, то есть лишённые способности размножаться частицы коронавируса. После прививки «убитые» вирусные частицы попадают в кровь. Иммунная система реагирует на них так же, как на вторжение живого вируса, но без риска заболеть.

Вакцина Sinovac (Китай). Вакцина представляет собой химически инактивированную цельновирусную вакцину против COVID-19.

QazVac (QazCovid-in) (Казахстан). Двухкомпонентная вакцина на платформе инактивированного вируса КазВак зарегистрирована 11 января 2021 года. Интервал между компонентами – 21 день. Специально построенный для выпуска препарата завод обеспечит выпуск 500–600 000 доз в месяц осенью 2021 года.

Совсем недавно группа китайских биологов и иммунологов с помощью опытов с применением криоэлектронного микроскопа с использованием крови больного, тяжело перенесшего COVID-19 инфекцию, открыли моноклональное антитело 35B5, способное соединяться с самым стабильным участком в структуре S-белка коронавируса и нейтрализовать все его штаммы, в том числе штамм «микрон». Это открытие может послужить основой создания универсальной вакцины против COVID-19.

В настоящее время в мире применено более 7 млрд доз различных вакцин. В этом отношении на 100 000 населения по применению наибольшего количества доз вакцин первое место занимают Куба, ОАЭ и Израиль.

В докладе будут представлена более детальная информация о ныне разработанных в мире вакцинах.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Аббасова К.Р. 27
Абдрешов С.Н. 131, 139
Абдулаева Р.Х. 108
Абдурасулова И.Н. 11
Авдонин П.В. 135
Авдонин П.П. 135
Агапов М.А. 99
Агаркова Е.В. 152
Агафонова И.Г. 146
Аджубей А.А. 7
Азбукина Н.В. 17
Айдагулова С.В. 98
Аксенова А.В. 145

Аксиненко А.Ю. 7
Александрова Е.П. 50
Алексашина С.В. 61
Алексеева А.С. 117
Алексеева О.В. 115
Алескеров Ф.Т. 11
Алиева А.Х. 6, 14
Алиева И.Б. 81
Али-Заде И.И. 25
Али-Заде Л.С. 25
Алистратова Ф.И. 115
Алифанов В.В. 100
Алпеева Е.В. 56, 71

Амахин Д.А. 32
Амахин Д.В. 27, 29, 34
Амашех С. 96
Аминин Д.Л. 18, 146
Андреева Е.Р. 55
Андреева И.Г. 124
Андреева Л.А. 138
Андреева Н.А. 103
Аниол В.А. 110
Анохин К.В. 57, 94, 95
Анпилова А.О. 25, 130
Антоненко А.К. 14
Антонов С.А. 10

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Антонов С.М. 42, 46
Антонова К.А. 74
Анфиногенова О.И. 152
Арапова З.У. 114
Арбатский М.С. 79
Арсеньева Е.Л. 10
Арутюнов С.Д. 65
Арутюнян А.А. 65
Арутюнян А.В. 54
Архипов А.Ю. 61, 63
Асеев Н.А. 29
Аскарова Н.Б. 131
Асташов В.В. 132
Атажахова М.Г. 68
Атауллаханов Ф. 4
Аухадиева А.М. 97
Ахмедов Г.Д. 65
Ахметзянова Е.Р. 57
Ачасова К.М. 57
- Бажанова Е.Д. 22
Базиян Б.Х. 147
Байдакова Г.В. 6, 9, 36, 58
Байдок Е.В. 96
Байкова И.П. 102
Бакаева З.В. 84
Бакшеева В.Е. 17
Балабан П.М. 19, 29, 37
Балакина Т.А. 92
Балбатун О.А. 128
Балеев М.С. 131
Балезина О.П. 60, 61, 126
Балмасова И.П. 65–67
Баль Н.В. 29
Баранич Т.И. 86
Баранова Е.И. 75
Баранова К.А. 85, 87
Баранова Т.И. 104
Барбашова Л.Н. 65
Барлев Н.А. 96
Барыгин О.И. 38, 43
Батурин В.А. 144
Бахронов И.А. 99
Бахтин П.Д. 11
Бачурин С.О. 7
Башарова К.С. 15, 36
Башкиров П.В. 155
Бегимова Ж. 144
Безпрозванный И.Б. 19, 26, 37–40
Безруких В.А. 58
Безрукова А.И. 15, 36
Безуглов В.В. 10
Безуглова Т.В. 141
Бекусова В.В. 96
Белецкий А.П. 29, 61
Белицкий Г.А. 98, 101
Белова С.П. 45, 124, 125
Белоглазова И.Б. 54, 78, 80
Белогуров А.А. 8
Белослудцев К.Н. 86
Белослудцева Н.В. 10, 86, 88
Белоусов С.И. 56
Беляева О.Д. 75
- Березовская А.С. 121, 122
Беркович О.А. 75
Билецкая Е.С. 128
Билова Т.Е. 74
Бирулина Ю.Г. 133, 137
Бирюлина Н.А. 109
Блажко А.А. 106, 115
Блохин В.Е. 9
Бо К.В. 148
Бобкова Н.В. 10
Бобров М.Ю. 10
Бобров Н.В. 76
Богачева П.О. 126
Богданов В.В. 9
Богданова Д.А. 36, 58
Богомазова А.Н. 81
Богомякова М.Е. 72
Богоцкой К.А. 90
Божкова С.А. 127
Божокин М.С. 127
Бойчук С.В. 97
Боков Р.О. 45
Большаков А.П. 61, 62
Большакова А.В. 19, 37
Бондаренко Н.С. 45
Бондарчук Ю.А. 104, 115, 142
Бондарь Н.П. 70
Борзых А.А. 90
Борисова М.А. 57
Бородинова А.А. 19, 37
Бохян А.Ю. 98
Бочаров Э.В. 154
Браже Н.А. 34, 53
Брежестовский П.Д. 84
Бреннер Е.В. 74
Бриллиант С.А. 136
Британова О.В. 65, 68, 69
Бровин Д.Л. 75
Будевич А.И. 82
Будник А.Ф. 90
Бузенкова А.В. 100
Буйко Е.Е. 137
Буканова Ю.В. 35
Булат О.В. 113
Булекбаева Л.Э. 131
Бульгина В.В. 31
Булякова Т.Р. 60
Буравкова Л. 56
Буркова С.А. 94
Бурняшева А.О. 20
Буров Д.А. 98
Бухараева Э.А. 61
Бухарев А.Р. 31
Буянова А.А. 110
Быков И.А. 104
Бычков Е.Р. 34
- Вавилова Т.В. 137
Варламова Е.Г. 21, 52
Василец Ю.Д. 54, 78, 80
Васильев В.Б. 82
Васильев Д.С. 54, 82
Васильева В.А. 108
- Васильева В.Ю. 47, 51
Васильева Е. 4
Васильева Н.Н. 111
Васкан И.С. 155
Вахитова М.Т. 69
Вдовин В.М. 106, 115, 136
Ведунова М.В. 33, 35, 59, 130
Венедиктова Н.И. 88
Вепхвадзе Т.Ф. 45
Веселова О.М. 85
Вессейоханн Л.А. 74
Ветош А.Н. 83
Ветрилэ Л.А. 16
Ветровой О.В. 83, 86
Вигонт В.А. 8
Вильчинская Н.А. 124
Винарская А.Х. 29
Виноградова Л.В. 147
Вихарева Е.А. 7
Вишнякова П.А. 37
Владимирова Т.В. 72
Власов И.Н. 6, 12
Власова О.А. 101
Власова О.Л. 19, 37
Волков А.М. 98
Волкова А.А. 17
Волкова А.С. 24
Волошин Н.С. 73
Вольникова Е.Н. 84
Вольнский П.Е. 154
Воронина Н.А. 16, 18
Воронина Т.А. 16
Воронина Я.А. 90
Воронкова А.С. 83, 86
Воронова Е.А. 50
Воронцова М.В. 71
Воротеляк Е.А. 56, 71
Воротников А.В. 43, 46, 49
Воскресенская О.Г. 95, 148
Вострикова Л.В. 120, 121, 138
Врабие В.Г. 113
Вуду Л.Ф. 112, 113
Вуду С.Г. 113
Вылекжанина Е.Н. 29, 33
- Гайдин С.Г. 23
Гайдуков А.Е. 61
Гайковая Л.Б. 137
Гайтан А.С. 98
Галембикова А.Р. 97
Галкина О.В. 130
Галков М.Д. 22
Галяутдинов И.В. 102
Гапизов С.Ш. 11
Гатина Д.З. 57
Гедулянов М.Т. 109
Герасимов Е.И. 19, 37
Германова Э.Л. 82, 88
Гладкий М.Л. 128
Глазова М.В. 73, 121, 122
Глинкина В.В. 86
Гломб М.А. 74
Глотов А.С. 104

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Глуткин С.В. 128
Глушанкова Л.Н. 48
Глушанкова Н.А. 97
Голоборщцева В.В. 16, 18
Голованов Е.А. 133
Голотин В. 96
Голтяев М.В. 52
Голубев В.Н. 134
Голубович В.П. 95, 148
Гончаров Н.В. 135
Гончарова Н.Д. 139, 141
Горбачева Л.Р. 22, 84
Горина Я.В. 20, 21
Горст В.Р. 104, 134
Горст Н.А. 104
Горчаков В.Н. 139
Горяинов С.В. 17
Граудина В.Е. 107
Грачева Е.В. 36
Грехнев Д.А. 8
Гривенников И.А. 10
Григорьев А.А. 157
Григорьев П.Н. 28
Григорьев Т.Е. 56
Григорьева А.В. 137
Григорьева М.Е. 138
Григорьева М.С. 154, 157
Григорьева Э.В. 98
Гришин С.Н. 41, 42
Гришук Е. 4
Громова Л.В. 92, 117
Груздев Г.А. 41
Груздева А.М. 57
Груздков А.А. 117
Грязнова М.О. 23, 28
Губанова М.В. 83
Губарева Л.И. 105, 144, 152
Губкин А. 4
Гудашева Т.А. 13
Гужова И.В. 103
Гулевская Т.С. 83
Гулин А.А. 76
Гуляева Н.В. 32, 62, 110
Гуляй И.Э. 128
Гурман Ю.В. 115
Гусакова В.С. 133
Гусакова С.В. 133, 137
Гусев К.О. 8, 48, 50
Гущин В.А. 154
- Давыдов А.Н. 65, 69
Данилова М. 104
Демидов О.А. 96
Демина А.В. 23, 28, 29
Демченко Г.А. 131, 139
Денисов Е.В. 31
Дергачев В.Д. 34
Дергилев К.В. 54, 72, 78, 80
Деревцова К.З. 26
Деханова И.М. 93
Джалилова Д.Ш. 58
Джандарова Т.И. 152
Дивасва Л.Н. 38
- Диеспиров Г.П. 32, 33
Дильмухаметова Л.К. 45
Династия Е.М. 74
Дмитриева Р.И. 124
Дмитриева Ю.В. 117
Добрынина Л.А. 83
Добрякова Ю.В. 61, 62
Долгачева Л.П. 23
Долгих Д.А. 11
Домогатский С.П. 56
Дорохина Л.В. 153
Драчева К.В. 75
Дресслер Л. 96
Дронь М.Ю. 38, 43
Дубров В.Э. 72
Дубровская Н.М. 54, 82
Дубук В.С. 111
Дунаевская Э.Б. 93
Дыйканов Д.Т. 79
Дымова Е.А. 50
Дьякова Е.Ю. 123
Дябкина Е.В. 80
- Евдокимова Н.Ю. 148
Евстифеева Е.А. 109, 111
Егоров Е.С. 69
Егорова П.А. 38
Ездакова М.И. 55
Елагин В.В. 76
Елисеева Е.В. 111
Елифанов А.В. 105
Емануйлов А.И. 89
Емельянов А.К. 6, 9, 36, 38, 58
Емельянчик Ю.М. 153
Енукашвили А.И. 115
Ералиева Ж.М. 142
Ергина Ю.Л. 29, 32
Еремеев А.В. 72
Еремеева Н.А. 149
Ерлан А. 142
Ермаков А.И. 137
Ерофеев А.И. 19, 37
Ершов Н.И. 70
Ефимова В.Л. 93
Ефимова Д.В. 41
Ефратова Е.П. 69
Ефремов Р.Г. 154
Ефремов С.М. 103
- Жданова Д.Ю. 10
Жеравин А.А. 98
Жестков А.В. 67
Животовский Б.Д. 98
Жигулин А.С. 43
Жиенгалиева А.К. 135, 153
Жиленкова Ю.И. 137
Жиляков Н.В. 61, 63
Житняк И.Ю. 97
Журавин И.А. 82
Журавлев А.С. 36, 38
Журавлева О.А. 120–122, 138
- Журавлева Т.В. 120, 122, 138
- Заболотская И.В. 120, 121, 138
Забродская Ю.М. 22
Завестовская И.Н. 154, 157
Завирский А.В. 118
Завьялов Е.Л. 98
Загайнов В.Е. 76
Загайнов В.Л. 68
Загайнова Е.В. 76
Зайня Пушкика 113
Зайцев А.В. 20–29, 31–34
Зайцева Т.Н. 133
Зайченко М.И. 62
Закирова Л.М. 102
Залозная И.В. 54
Залыгин А.В. 34, 155
Зарипова К.А. 45
Затейщиков Д. 4
Захаров А.В. 36
Захарова А.Н. 123
Захарова Е.Т. 82
Захарова Е.Ю. 6, 9, 15, 36, 58
Захарова М.В. 23
Звягин И.В. 68
Згода В.Г. 45
Зелепуга Е.А. 50
Землянухина Т.А. 104
Зенкова М.А. 74
Зенько М.Ю. 85
Зерний Е.Ю. 17
Зернов Н.И. 39
Зефилов А.Л. 8, 28, 36
Зиганшин А.У. 41, 42
Зилеева З.Р. 102
Зиновьева В.Ю. 98
Зинченко В.П. 23
Зинчук В.В. 128, 153
Золотарева С.Ю. 31
Золотарь А.Н. 29
Золотова Е.А. 137
Золотова Н.А. 58
Золотухина А.Ю. 145
Зрютина А.В. 152
Зубарева О.Е. 23, 29
Зубкова Е.С. 54, 78
Зубов А.С. 24, 30
Зубова Т.И. 30
Зуева И.В. 62
Зыкин П.А. 144
Зюзина А.Б. 29
- Ибатуллин Ф.М. 58
Ибраева С.С. 131, 135
Иванов А.А. 101
Иванов В.В. 137
Иванов В.И. 106
Иванов М.Ф. 67
Иванова А.Д. 90
Иванова А.Е. 22
Иванова А.М. 48

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Иванова К.А. 155
Иванова Л.Н. 129
Иванова Н.И. 134
Иванченко М.В. 130
Ивашкина О.И. 57, 94, 95
Ивлев А.П. 30
Ивлева И.С. 25, 39, 147
Игнатова Ю.П. 145
Иджилова О.С. 11
Израельсон М. 65, 68
Изюмченко А.Д. 58
Иллариошкин С.Н. 10
Ильницкая А.С. 97
Ильясова С.Т. 65
Иманкулова С.К. 131
Иноземцев А.Н. 41
Иомдина Е.Н. 17
Ипполитов Е.В. 65, 67
Ишметова Д.В. 79
Ищенко А.М. 28, 29
- Кабанова Н.В. 53
Каган В.А. 93
Казакова Т.В. 103, 141
Казанская Г.М. 98
Казначеева Е.В. 8, 48, 50
Какоткин В.В. 99
Какурина Г.В. 99
Калабушева Е.П. 56, 71
Каламкаргов Г.Р. 49
Калашникова Л.А. 83
Калекешов А.М. 142
Калинина Д.С. 54
Калинина Н.И. 47, 73, 79
Калинина Т.С. 31
Калинникова Ю.Г. 123
Камарян В.С. 53
Каменский А.А. 41, 95, 148
Канавин А.П. 157
Капилевич Л.В. 123
Капица И.Г. 16
Карабут М.М. 76
Карамзин С. 4
Каримова И.И. 117
Кароматов И.Д. 119, 120, 135
Карпенко Л.Ю. 115
Карпенко М.Н. 24, 25, 30, 39, 130, 147
Карпеченко Н.Ю. 101
Карпухина О.В. 41
Касаткина М.А. 32
Каюмов Х.Н. 135
Каюмова Р.М. 62
Квичанский А.А. 110
Ким А.Р. 9
Ким К.Х. 31
Киреева Д.Р. 79
Кирова Ю.И. 82
Кироненко Т.А. 123
Кирпичников М.П. 11
Кирсанов К.И. 98, 101
Кирюхина О.О. 90
Кисаретова П.Э. 70
Киселев Р.С. 98
- Киселева Е.Б. 57, 71, 131
Кислякова Е.А. 129
Клименко Д.И. 156
Климович П.С. 57, 99
Княжецкая Л.О. 108
Ковалева С.В. 66
Коваленко А.А. 23
Коваленко А.Л. 102, 133
Коваленко Н.П. 53
Кожаниязова У.Н. 139
Кожевникова Г.М. 69
Кожевникова Е.Н. 57
Кожевникова О.С. 14
Козин С.А. 7
Козлов В.И. 131
Козлов С.А. 43
Козлова Т.А. 20
Койгерова А.А. 145
Колачева А.А. 9, 14
Колесников Д.О. 48, 50
Колесников С.С. 53
Колесова Е.П. 156
Колос Е.А. 32
Колосов П.М. 29
Колосова Н.А. 17
Колосова Н.Г. 12, 14, 20
Колотова Д.Е. 11
Колпакова М.А. 98
Кольванова С.С. 105, 107, 116
Кольцова Е. 4
Комаров А.Ю. 154
Комарова М.С. 31
Комарова М.Ю. 124
Комлева Ю.К. 20, 21
Кондакова Е.В. 99, 130
Коньжева Ю.Г. 144
Копылова Е.Е. 55
Копытова А.Е. 15
Копытова А.Э. 9, 58
Коржевский Д.Э. 32
Корзина М.Б. 89, 90
Корнева К.Г. 68
Коробкина Я.Д. 110
Королев П.М. 153
Королев Ю.Н. 134
Коромыслов А.Л. 154
Корчагина Е.Р. 73
Коряк Ю.А. 123
Косенков А.М. 23
Костевич В.А. 82
Костенко Ю.Б. 92
Косырева А.М. 58
Котелин В.И. 17
Котова П.Д. 44
Кочергин А.Ю. 138
Кочкина Е.Н. 55
Красильников М.А. 100
Красюкова В.О. 136
Крашенинников С.В. 56
Креши Э. 63
Кривой И.И. 59, 118
Кривошапкин А.Л. 98
Крюкова В.В. 69
Крюкова Е.А. 11
- Кубышкин А.В. 40
Кувшинов Д.Ю. 106
Кудряева А.А. 8
Кузичкин Д.С. 120, 138
Кузнецова Д.С. 76
Кузьмин В.С. 90
Кузьмина Д.М. 149
Кулабухова Д.Г. 9, 38
Кулебякин К.Ю. 47, 71, 73
Куликов А.А. 73
Купер К.Э. 98
Курбанов Ф.Ф. 114
Курляндчик Т.С. 129
Кургасанов Р.С. 97
Курьнина А.В. 92
Кухарский М.С. 13
Кучеряну В.Г. 16, 18
- Лавринова А.О. 38
Лаврушкина С.В. 81
Лагарькова М.А. 8, 72, 81
Лазаренко В.С. 90
Лакомкина А.С. 116
Лалетина Л.А. 98
Ланкин В.З. 85
Ланшаков Д.А. 31
Лебедева О.С. 8
Левицкая Н.Г. 148
Леднев Е.А. 72
Леднев Е.М. 45
Ленина А.О. 63
Ленина О.А. 62
Леонова Е.А. 103
Леонова Т.С. 74
Леорда А.И. 113
Лепеев В.О. 128
Лепунова О.Н. 105
Лесова Е.М. 134
Лесовая Е.А. 98
Ли Санг Унг 119, 120
Ливанова А.А. 59, 118
Лизунова Н.В. 84
Липец Е. 4
Литвинова Л.В. 144
Литвинова Н.А. 106
Литовка Н.И. 97
Литовченко А.В. 22
Лобанова М.И. 104
Лобанова Н.А. 130
Лобов Г.И. 139
Логинов В.И. 120, 122
Логинова М.М. 59
Логунова Н.Н. 69
Ломакина А.С. 11
Ломтатидзе Л.В. 66
Лопатина О.Л. 20, 21
Лохонина А.В. 58
Лукиянов С.А. 65
Лукиянова Л.Д. 82, 88
Лысикова Д.В. 47
Лысикова Е.А. 13
Лыткина О.А. 13
Лытчева Н.А. 102, 106, 115, 133, 136

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Любашина О.А. 24
Ляксо Е.Е. 143
Ляпина Л.А. 138
- Магнаева А.С. 86
Мазо В.К. 109, 118
Майстренко В.А. 25, 147
Макаров А.А. 7
Макарова И.И. 145
Макарова О.В. 58
Макашев Е.Е. 142
Макеснок С.А. 50
Максимов Г.В. 53
Макуха Ю.А. 90
Малиновская Н.А. 20, 21
Малкин С.Л. 32
Малова Е.С. 66
Мальшев А.Ю. 11
Мальцев Д.В. 38
Мальцева В.Н. 52
Мамедова С.И. 137
Мамонтова Е.Д. 44, 119
Манасва И.Н. 104, 142
Маникайло А.Е. 98
Манолова А.О. 110
Маньковская И.Н. 88
Маргулис Б.А. 103
Маркевич В.А. 61, 62
Маркин А.А. 120–122, 138
Маркин В.В. 111
Маркина Е.А. 121
Маркина Л.Д. 111
Марков А.В. 75
Марков А.Г. 59, 96, 118
Марков О.В. 74
Мартьянов А. 4
Маршалкина П.С. 104
Маршинская О.В. 103, 141
Маслов В.Г. 156
Маслов М.А. 74
Маслюков П.М. 89, 90
Массон П. 62
Матвеева Д.К. 55
Махновский П.А. 45
Медведев С.С. 74
Медведева Т.М. 147
Медникова Ю.С. 119
Меленец М.А. 153
Мелентьева Д.М. 53
Меликбекян Е.О. 108
Мелик-Касумов Т.Б. 23
Менчинская Е.С. 18, 146
Менчинская Е.С. 18
Меньшиков М.Ю. 44, 46, 78, 119
Меренкова В.С. 94
Мерзляк Е.М. 69
Мецгер М. 65
Миклашевич О.С. 153
Милованова К.Г. 123
Миловидова Е.Д. 145
Милютин Ю.П. 54
Милухина И.В. 9, 15, 36, 38, 58
Минакова Е.В. 146
- Мираков Р.С. 131
Мирзоев Т.М. 55, 126
Миронова Г.Д. 10, 84, 88
Миронова Н.Л. 74
Мирошникова В.В. 75
Митрофанова В.А. 141
Митрошина Е.В. 33, 35, 59
Митькевич В.А. 7
Михайлова Е.Р. 103
Михайлова С.В. 142
Михалкин А.А. 24
Михеева Е.Г. 97
Михеева И.Б. 88
Мичурина С.С. 43, 44, 46, 119
Мищенко Т.А. 59
Мозговая Е.Н. 146
Моисеев К.Ю. 91
Моисеева Н.И. 98
Моисеева Т.Г. 139
Моисеева Ю.В. 32
Мокрушина Е.А. 25
Молокотина Ю.Д. 78
Молчанова А.И. 126
Момот А.П. 136
Морачевская Е.А. 47, 51
Моргун А.В. 20
Моргун Е.И. 71
Морозов В.Г. 66
Морозов С.Г. 18
Морозова Д. 4
Морозова К.И. 34, 57
Мосенцов А.А. 88
Москаленко С.В. 106, 115, 139
Мотанова Е.С. 45
Мочалова Е.П. 45, 124, 125
Мошонкина Т.Р. 124
Мубаяджян Э.А. 111
Муравьева И.В. 152
Муравьева Н.М. 152
Муралева Н.А. 12, 17
Мурашова Л.А. 109, 111
Муртазина А.Р. 45
Муружова З.М. 25
Мустьяца В. 4
Мухамедзянов Р.Д. 36
Мухамедьяров М.А. 8, 28
Мухина И.В. 149
Мухутдинова К.А. 36
Мыльченко И.В. 117
Мясоедов Н.Ф. 138, 148
- Набережных Г.А. 157
Набиев Б. 131
Наговицына Е.А. 111
Нажмидинова М.Н. 150
Назаренко М.С. 75
Назимова С.В. 140
Наконечная Т.О. 65
Наливаева Н.Н. 82, 84
Наумова А.А. 121
Наумова Л.И. 134
Наурызбай У.Б. 139
Нащекина Ю.А. 127
- Небогатиков В.О. 7
Негуляев Ю.А. 47, 48, 51
Некрасова О.В. 11
Немировская Т.Л. 45, 124
Нестерова И.В. 66, 68
Нестерова И.В. 70
Нечипуренко Д. 4
Никифорова А.Б. 88
Никифорова М.А. 154
Никифорова С.Н. 93
Николаев М.А. 6, 9, 15, 38, 58
Николаев М.В. 25, 31
Николаев М.Ю. 71
Николаева Е.И. 95
Николаева Е.Н. 67
Ничипорук И.А. 120, 122, 138
Новикова М.Р. 32
Новикова О.Д. 50, 157
Новосадова Е.В. 6, 10
Ноздрачев А.Д. 90
Нольде Д.Е. 154
Носова М.Н. 104
Нотова С.В. 103
Нурмаханова Б.А. 131, 139
Нуруллин Л.Ф. 63
- Оберган Т.Ю. 138
Обернихин С.С. 140, 141
Образцова А.С. 65
Овчинников Р.К. 13, 18
Оганян Т.Э. 141
Огиенко А.А. 57
Одношвикина Ю.Г. 36
Олейник Е.А. 121, 122
Олейников В.А. 34, 155, 156
Олейникова Н.А. 99
Онуфриев М.В. 32
Орехов Д.А. 136
Орехов С.Д. 153
Орлов О.И. 45
Орлов С.Н. 53
Орлова А.А. 123
Орлова А.О. 156, 157
Осидак Е.О. 56
Островский М.А. 11
- Павленко В.Н. 66, 70
Павлик Л.Л. 88
Павлов Е.В. 84
Павлова Г.В. 75
Палюшкевич А.С. 107
Панина О.Б. 76
Панкратова Л.Г. 91
Пантелеев М. 4
Пантелеева А.А. 9, 15, 75
Парфенова Е.В. 43, 44, 46, 54, 72, 78, 80, 119
Парчайкина М.В. 80
Паршина В.В. 75
Патюков А.Г. 154
Пашковская О.А. 98

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Пелагеев Д.Н. 18
Пеньков Д.Н. 44
Перельмутер В.М. 100
Перельмуттер О.А. 131
Пестерева Н.С. 24, 125, 147
Петрашова Д.А. 106
Петренко В.И. 40
Петров А.М. 36
Петров К.А. 62, 63
Петров Н.А. 109
Петров С.В. 97
Петров С.Ю. 17
Петрова Е.С. 32
Петрова И.В. 137
Петровская Л.Е. 11
Петяева Л.М. 80
Пинелис В.Г. 84, 86, 87
Писаренко О.И. 85
Писарюк А. 4
Пислягин Е.А. 18
Плюснин В.В. 94
Побожева И.А. 75
Поварнина П.Ю. 13, 17
Погорелький М.В. 68
Подкуйченко Н.В. 43, 46, 49, 119
Подьячева Е.Ю. 104
Пожарская В.В. 106
Пожиленкова Е.А. 21
Покровский В.М. 110
Политко М.О. 98
Полищук В.В. 110
Полозников А.А. 33
Полоник С.Г. 18, 146
Полтавцева Р.А. 10
Полунин А.И. 134
Полунин И.Н. 104, 134
Полякова Е.А. 75
Помелова Е.Д. 149
Попов В.С. 57, 128
Попов Д.В. 45, 72
Попова М.А. 107, 108, 116, 117, 143
Попова Т.С. 115, 129
Попугаева Е.А. 39, 53
Порсева В.В. 89, 90
Портнягина О.Ю. 50
Посохина В.В. 105
Постникова Т.Ю. 20, 31–33
Потапенко И.В. 20, 21
Потапьева Н.Н. 31
Правдивцева Е.С. 126
Правилова П.Д. 129
Присяжнюк В.Г. 113
Приходько А.Т. 155
Прокопец Д.А. 104
Пронина Т.С. 45
Проничев И.В. 25
Проценко Д. 4
Пузырев В.П. 75
Путий Ю.В. 88
Пушкарева С.А. 19, 37
Пчелина С.Н. 6, 9, 15, 36, 38, 58, 75
Пчицкая Е.И. 26
- Радкевич А.М. 141
Разумникова О.М. 93
Райский В.И. 113
Раковская А.В. 26
Рамеева Э.Р. 116
Ратнер Е.И. 44, 54
Ратушный А. 56
Рагчина С. 4
Рахимжанова Ж.А. 131, 135
Ревин В.В. 80
Ревин А.В. 75
Резвых А.П. 13
Реутов В.П. 87
Риппа А.Л. 71
Рогачевская О.А. 53, 55
Рогинская А.И. 23
Рогожникова О. 94
Родимова С.А. 76
Рожков С.В. 55, 124, 126
Розова Е.В. 88
Романенко Л.А. 50
Романова Г.А. 16
Росинская А.В. 6
Росохин А.В. 26
Рубина К.А. 57, 60, 76, 77, 79, 99, 128
Рубцова С.Н. 97
Руденко Д.В. 92
Руденок М.М. 6, 14
Рудницкая Е.А. 20
Румянцев А. 4
Рунова О.Л. 82
Русаков В.В. 154
Руссу Л.И. 154
Ручко Е.С. 72
Рыбакова Е.Ю. 135
Рыбкина А.А. 66
Рыбникова Е.А. 85
Рыболовлев И.Н. 14
Рысенкова К.Д. 57, 60
Рычко Г.Н. 58
Рябков М.Г. 131
Рябчикова Н.А. 147
- Сабер Ислам 74
Сабуцкий Е.Ю. 18
Сабуцкий Ю.Е. 146
Савельева О.Е. 100
Савилов П.Н. 129
Савочкина Е.В. 117
Савюк М.О. 33
Сагимова Г.К. 131
Садовников С.В. 79
Салафутдинов И.И. 57
Салмина А.Б. 19–21
Салогуб Г.Н. 58
Самигуллин Д.В. 63
Самсонов М.В. 49
Сапронова А.А. 70
Сахарова А.В. 83
Себенцова Е.А. 148
Селиванова Е.К. 90
Семак И.В. 82
Семенов В.Э. 62
- Семенова Е.В. 146
Семина Е.В. 57, 60, 76, 77, 79, 99, 128
Семьянов А.В. 34
Сенкевич К.А. 9, 15, 36, 58
Сенькова А.В. 74
Сепиашвили Р.И. 3, 65, 258
Сепп А.Л. 92
Сергеев А.А. 157
Сергеев А.И. 23
Сергеева М.Г. 17
Серебрицкий И. 4
Серегина Е. 4
Середенин С.Б. 13
Сибаров Д.А. 42, 46
Сиваченко И.Б. 24
Сидоренко Д.А. 27
Сидорова М.В. 85
Сидорова Ю.С. 118
Сизов М.А. 131
Симакова М.А. 137
Сиротина Н.С. 92
Сироткина М.А. 131
Сироткина О.В. 137
Ситдикова Г.Ф. 63
Ситдикова К.К. 34
Скатова В. 68
Скляник И.А. 46, 73
Скобелева К.В. 48
Скопин А.Ю. 8, 48
Скребицкий В.Г. 22
Слаповская О.И. 154
Слатинская О.В. 53
Сломинский П.А. 6, 12, 14
Смаглий Л.В. 133
Смирнова Г.Р. 11
Смирнова Е.Ю. 27, 32
Смирнова О.В. 92
Смоликова Г.Н. 74
Смолина Т.Ю. 144
Снигирева Е.Д. 92
Соболева А.В. 74
Соболева Е.Б. 27, 29, 32, 34
Созаева Л.С. 71
Созонов Н.Г. 70
Соколов А.В. 82
Солобуев А.И. 106
Соловьева С.В. 105, 116
Соломадин И.Н. 88
Соркина Е.Л. 119
Сорокина Е.Г. 84, 87
Сорокина Л.Е. 40
Сотсков В.П. 94
Спивак Ю.С. 61, 62
Спиридонов И. 4
Спиричев А.А. 89–91
Староверов Д.Б. 69
Стафеев Ю.С. 43, 44, 46, 119
Стаханова А.А. 148
Стаханова А.А. 95
Стахеева М.Н. 99
Степаничев М.Ю. 62, 64, 110
Степанова В.В. 54
Степура Т.Л. 128
Стефанова Н.А. 12, 20

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- Стратилов В.А. 86
Стрельцова К.Г. 134
Студнева И.М. 85
Сударикова А.В. 47, 51
Сулейманова Л.М. 147
Сулейменова Ф.М. 135
Сурин А.М. 84, 86, 87
Сутормина Н.В. 95
Сухарева Е.В. 31
Суховских А.В. 98
Сухоруков В.С. 83, 86
Сысоев И.В. 147
Сысоева В.Ю. 79
Сысоева М.В. 147
- Табакмахер В.М. 154
Табунщикова М.О. 108
Таран А.С. 81
Тарангул В.З. 10
Тарасова Е.О. 61, 126
Тарасова О.С. 90
Таширева Л.А. 100
Телегина Д.В. 14
Теплов А.Ю. 42
Тепляшина Е.А. 20
Тернер Э.Дж. 84
Тетерин Ю.В. 66
Тетерина Е.В. 18
Тимофеева А.А. 38
Тимофеева О.П. 124
Тимохина Е.П. 141
Тимошенко В.Ю. 157
Тимошенко Н.В. 141
Тимошин А.А. 85
Титова А.А. 57
Тихонов Д.Б. 31, 35, 47
Ткаченко Л.А. 144
Ткачук В.А. 76, 77
Толстова А.П. 7
Томиловская Е.С. 45
Торопова К.А. 94, 95
Трактиров Д.С. 125
Третьякова Е.В. 102
Тропская Н.С. 115, 129
Трофимова А.М. 31
Трояновский К.Э. 60
Трубачева О.А. 137
Труонг В.А. 44
Труфанов С.К. 135
Тулеханов С.Т. 23
Туманова Н.Л. 54
Тумашова О.С. 25
Тупицын И.М. 154
Туровский Е.А. 21, 52
Туртурская О.В. 124
Тыганов С.А. 49, 122, 124, 125
Тырина Е. 56
Тюлькова Е.И. 86
Тюменцев М.А. 12
Тюрин-Кузьмин П.А. 47, 48, 71, 73
Тютюнник Т.В. 24, 30
Тяглик А.Б. 34
- Уварова А.И. 108
Угрюмов М.В. 3, 9, 14, 45
Удалова Л.В. 111
Улитина А.С. 137
Унанян Л.С. 53
Уразов М.Д. 35
Урунова Ш.Д. 150
Усенко Т.С. 6, 9, 15, 36
Устоев Б.Р. 112
Устоев М.Б. 112
Устюгов А.А. 7
- Фадеев П.Ю. 53
Фатыйхов И.Р. 118
Фаюд Х.Д. 38
Федоров Е.В. 32
Федорова А.А. 59, 118
Федорова И.М. 35
Федосеева К.Н. 144
Федотов И.В. 94
Федотова А.А. 34
Фетисов Т.И. 98
Филатова Е.В. 12, 14
Филиппченко С.И. 109, 111
Фираго М.Э. 128
Фишер Т.А. 107, 116
Фокина О.А. 152
Фомичева Е.М. 65
Фомочкина И.И. 40
Фролов А.А. 74
Фролова О.В. 143
Фроня А.А. 154
Фуников С. 13
Фурдуй В.Ф. 112, 113
Фурдуй Ф.И. 112
- Хабибрахманов А.Н. 8
Хабибуллин Н.Р. 79
Хазиев Э.Ф. 63
Хайруллин А.Е. 41, 42
Хайруллина З.М. 51
Халиков Д. 97
Халимова Ф.Т. 151
Хамчиев К.М. 113, 128, 131, 135, 153
Хамчиева З.К. 153
Хапчаев А.Ю. 49
Харин А.Ю. 157
Харитоновна Е.В. 20
Хаспеков Л.Г. 10
Хачатрян В.А. 32
Хеннинг К. 74
Хилажева Е.Д. 20
Хисамиева Г.А. 28
Хмиль Н.В. 88
Хоменко В.А. 50
Хотин М.Г. 127
Хоткина Н.А. 61, 126
Храмцова А.В. 121
Ху Ю.Ч. 44
Хузахметова В.Ф. 61
Хуторская О.Е. 11
- Хухарева Д.Д. 148
- Царев А.А. 74
Царев В.Н. 65, 67
Царева Т.В. 67
Царенко С. 4
Цатурян Л.Д. 108
Цветков И.С. 58
Ценцевицкий А.Н. 61
Цидулко А.Ю. 98
Цитрина А.А. 135
Цоколаева З.И. 78, 80, 128
Цомартова Д.А. 140
Цыба Е.Т. 27
- Чайкина Е.Л. 146
Чайковская Р.П. 83
Чандран К.И. 45
Чапуров К.Д. 15
Чеблоков А.А. 58
Черемисина О.В. 99
Черкашин А.П. 53
Черных Э.С. 56
Черниговская Е.В. 30, 73
Чернова И.А. 101
Черных А.И. 21
Чернышев К.А. 126
Чернюк Д.П. 40
Чечехин В.И. 47, 48
Чешев Е.А. 154
Чибалин А.В. 123
Чигарова О.А. 141
Чижов А.В. 27, 29, 34
Чингизова Е.А. 18, 146
Чистова В.В. 116, 117, 143
Чистоходова С.А. 120, 122
Чистюлин Д.К. 50, 157
Чистяков Д.В. 17
Чойнзонов Е.Л. 99
Чокинэ В.К. 112, 113
Чубинский-Надеждин В.И. 47
Чубинский-Надеждин В.И. 48, 51
Чудаков Д.М. 65, 68, 69
Чудилова Г.А. 66, 68, 70
Чумасов Е.И. 32
Чурбанова М.А. 80
- Шабанов П.Д. 34
Шагина И.А. 65, 68
Шадрин М.И. 6, 12, 14
Шайбекова Р.Р. 137
Шакова Ф.М. 16
Шалесная С.Я. 153
Шальгин А.В. 48, 50
Шамадыкова Дж.В. 75
Шамс И. 65
Шандыбина Н.Д. 124
Шарипов Р.Р. 86
Шарло К.А. 49, 55, 126
Шаронов Г.В. 65, 68

III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Сочи – Дагомыс

3–8 октября 2021

- | | | |
|---------------------------------------|--|-------------------------|
| Шаронова И.Н. 35 | Шмакова А.А. 57 | Щеславский В.И. 76 |
| Шатилло Г.Ю. 139 | Шмендель Е.В. 74 | |
| Шахиджанов С. 4 | Шорохова М.А. 48, 51 | |
| Шахматов И.И. 104, 106, 115, 136, 142 | Шпаков А.О. 50 | Юрасов А.В. 46 |
| Шахов А.С. 81 | Шубина Т.А. 138 | Юсипов И.И. 130 |
| Шварц А.П. 23, 28 | Шуваев А.Н. 21 | Юшков Б.Г. 77, 136 |
| Швецова А.А. 90 | Шувалова Л.Д. 81 | |
| Шебеко Л.В. 104 | Шугай М. 65 | |
| Шевандова А.А. 40 | Шуйский Л.С. 50 | Яглов В.В. 140 |
| Шевелев О.Б. 98 | Шукуров Ф.А. 108, 113, 114, 128, 150,
151 | Яглова Н.В. 140, 141 |
| Шевченко Е.К. 44 | Шукурова Н.Я. 114 | Яковлева Е.Е. 34 |
| Шейко Г.Е. 131 | Шулюпова А.С. 70 | Якуба В.И. 11 |
| Шелковникова Т.В. 13 | Шутова С.В. 152 | Якубовская М.Г. 98, 101 |
| Шелякин П.В. 69 | | Яхьяев К.А. 46 |
| Шенкман Б.С. 45, 49, 55, 122, 124–126 | | |
| Шестакова Е.А. 46, 73 | | |
| Шестакова М.В. 43, 46, 49, 119 | Щекотихин А.Е. 100 | |
| Шестопалова М.С. 34 | Щербаков А.М. 98, 100 | Ponimaskin E. 19 |
| Ширина Е.С. 89 | Щербакова А.Э. 108, 116, 117, 143 | Ruban N. 143 |
| Ширинский В.П. 49 | Щербицкая А.Д. 54 | |
| Шлычков А.А. 84 | | |



**III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ,
БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ**
◆ VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ
◆ X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»
◆ VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ
(Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021).
ТОМ 1

Издательство «Перо»
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 15, ком. 536
Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36
Подписано в печать 10.12.2021. Формат 60×90/8.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 20.625. Заказ 1130.