

государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

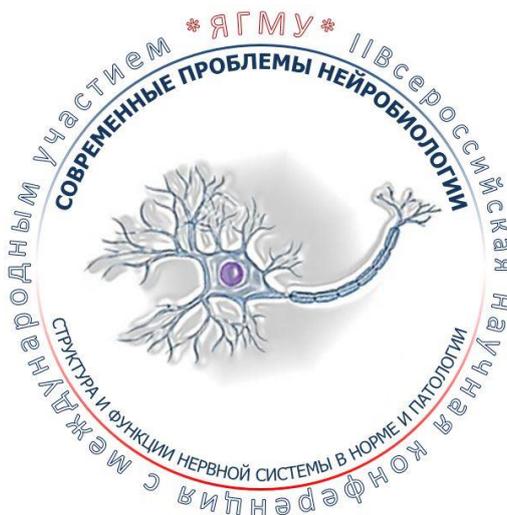
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина»

Ярославское отделение Физиологического общества им. И.П. Павлова

Ярославское отделение Всероссийского научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НЕЙРОБИОЛОГИИ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ.

*Материалы II Всероссийской научной конференции
с международным участием*



12 – 14 мая 2016 года

Ярославль

Печатается по решению редакционно-издательского совета государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 612.8, 616.9

ББК 28.91

Современные проблемы нейробиологии. Структура и функции нервной системы в норме и патологии. Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием. – Ярославль: ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, 2016. – 70 с.

Редакционная коллегия:

Маслюков П.М. – доктор медицинских наук, профессор

Филиппов И.В. – доктор биологических наук, доцент

Пугачев К.С. – кандидат биологических наук (отв. редактор)

© государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2016 г.

ВВЕДЕНИЕ



В конце 2014 г. в честь 70-ти летнего юбилея нашего вуза была успешно проведена первая научная Всероссийская конференция, с международным участием, посвященная современным проблемам нейробиологии.

Это мероприятие имело довольно широкий отклик и в нем приняли участие ведущие представители профессорско-преподавательских и научных коллективов Москвы, Санкт-Петербурга, Казани, Воронежа, Ярославля и других городов. Подобное явление вполне объяснимо - на базе нашего университета давно и успешно проходит подготовка специалистов медико-биологического профиля. Для многих ученых, преподавателей и студентов университета нейробиология представляет особый интерес, не только потому, что, очевидно, этот раздел является одним из самых актуальных направлений наук о жизни, но еще и потому, что изучение структурно-функциональных особенностей нервной системы в норме и патологии имеет в нашем университете давнюю историю. Свидетельством тому являются уже сформировавшиеся научные школы, а также постоянно продолжающийся процесс становления новых направлений исследований с участием сотрудников нашего вуза. Одним из результатов этих процессов было создание в университете в 2009 г. научно-образовательного центра нейробиологических исследований, который активно функционирует и сейчас. Успешное развитие нейробиологического направления подтверждается признанными научными исследованиями, весомыми публикациями сотрудников, престижными грантами, премиями и наградами, полученными представителями университета. В настоящее время налажено сотрудничество между ведущими кафедрами и лабораториями вуза с нашими уважаемыми коллегами из Москвы, Санкт-Петербурга и Казани.

Мы искренне надеемся, что данная конференция и ее особый формат станет традиционной для нашего вуза, а материалы данного сборника вызовут интерес со стороны ученых, преподавателей и студентов, стимулируют углубление и дальнейшее развитие научного сотрудничества, послужат базой для дальнейшего прогресса в области современной нейробиологии.

Редколлегия

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШИХ ФУНКЦИЙ МОЗГА

Балабан П.М.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия.

E-mail: pmbalaban@gmail.com

На примере данных о поведенческих, клеточных и синаптических механизмах обучения беспозвоночных и позвоночных животных рассматриваются возможные молекулярные механизмы формирования, хранения и извлечения памяти.

Одним из важнейших вопросов эволюции функций является вопрос о минимально необходимой нейронной системе, способной к ассоциативным пластическим изменениям. Для изучения механизмов обучения и памяти в простых нервных системах в наших экспериментах использованы классические электрофизиологические методы и методы оптической регистрации нейронной активности. Внутриклеточное микроэлектродное отведение от идентифицированных нервных клеток сети оборонительного поведения виноградной улитки позволило выделить систему из трех идентифицированных нейронов, способную ассоциативно изменять эффективность синаптической передачи. Изменение эффективности происходит в результате сочетания во времени активности пресинаптического сенсорного нейрона и активности серотонинергической клетки, модулирующей глутаматергический синапс между сенсорным нейроном и интернейроном.

Анализ возможных молекулярных механизмов долговременной регуляции эффективности синаптической передачи на модели из 3 нейронов показал наличие ключевых элементов. Одним из ключевых элементов повышения эффективности синаптической передачи является регуляция транспорта глутаматных рецепторов постсинапса протеинкиназой Мзета. При любом долговременном изменении функционирования нейронной сети необходима модификация (стирание) имеющейся памяти и формирование новой памяти. Высказана и экспериментально проверена гипотеза об участии нитроксида в локальном изменении синаптической пластичности при обучении и извлечении памяти у беспозвоночных и позвоночных животных.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ КОФЕИНА НА АКТИВНОСТЬ НИТРОЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА

Башкатова В.Г.

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

Москва, Россия. E-mail: v.bashkatova@nphys.ru

В последние десятилетия в развитых странах мира наблюдается значительный рост потребления веществ, обладающих психостимулирующим эффектом, при этом одним из наиболее широко употребляемых в мире психостимуляторов является

кофеин. Согласно данным ВОЗ, более девяноста процентов жителей развитых стран мира регулярно употребляют кофеин, который содержится в различных напитках. В последние годы в молодежной среде многих стран мира, включая и Россию, все большее распространение получают так называемые энергетические напитки, в состав которых практически всегда входит кофеин в достаточно высоких дозах. С каждым годом также увеличивается число женщин, употребляющих в период беременности психотропные вещества, в том числе и кофеин. Показано, что пренатальное воздействие психостимуляторов может вести к задержке развития и нарушениям поведения у их потомства. Однако, механизмы последствий пренатального стресса, обусловленного употреблением кофеина, изучены недостаточно. Известно, что введение кофеина вызывает психостимулирующее и анксиолитическое действие, что в основном и обуславливает широкое использование кофеин содержащих напитков и смесей. Установлено, что нейрофизиологические эффекты кофеина в значительной степени зависят от дозы препарата, а также длительности его введения. Обнаружено, что в нейрохимических механизмах стимулирующего действия кофеина важную роль играет его способность связываться с аденозиновыми рецепторами мозга. В то же время следует отметить, что если участие аденозиновых рецепторами мозга в механизмах действия кофеина исследовано весьма подробно, то его возможное взаимодействие с другими нейротрансмиттерными системами, изучены еще недостаточно. В ряде исследований последнего времени, в том числе выполненных и нами, было выявлена важная роль свободнорадикальных реакций в физиологических и патофизиологических эффектах психомоторных стимуляторов, в том числе и кофеина.

Целью данной работы являлось исследование эффекта длительного введения кофеина в период беременности крыс на генерацию нейронального мессенджера нового поколения оксида азота (NO) в мозге крысят в постнатальный период.

Эксперименты были выполнены на крысятах-самцах, рожденных от самок линии Вистар, получавших в течение всего срока беременности раствор кофеина (1 г/л стандартной бутилированной питьевой воды) в качестве единственного источника жидкости. В контрольную группу вошли крысята, которые были рождены от самок крыс той же линии, получавших в те же сроки беременности только стандартную бутилированную питьевую воду. Для определения содержания NO в структурах мозга использовали прямой количественный метод электронного парамагнитного резонанса.

В результате проведенных экспериментов установлено, что в первый и второй постнатальные дни содержание NO в мозге крысят, рожденных от матерей, получавших в пренатальный период кофеин, был значительно ниже, чем уровень NO у крысят контрольной группы, которые получали пренатально физиологический раствор. Однако, уже на четвертый постнатальный день генерация NO в мозге крысят, подвергнутых пренатальному стрессу, вызванному введением кофеина, не

отличалось от значений данного показателя контрольных животных. В наших ранее выполненных экспериментах было обнаружено усиление генерации NO в коре и стриатуме крыс в ответ на введение кофеина в высокой, но не вызывающей развитие токсических эффектов, дозе. Таким образом, суммируя полученные нами данные, можно сделать вывод о важном вкладе нитроергической системы мозга в нейрофизиологические эффекты кофеина.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00722.

РАЗВИТИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ К НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ ЭФФЕКТАМ РАСТВОРА ЭТАНОЛА РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ

Богданова Н.Г., Судаков С.К.

Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина,
Москва, Россия. E-mail: natbog07@yandex.ru

Изучалась роль желудочных рецепторов в механизмах развития толерантности к этанолу. Для этого проводились повторяющиеся введения этанола в одной и той же дозе, но в различных объемах и различных концентрациях. В результате экспериментов было установлено, что введение этанола в дозе 2 мг/кг во всех использованных нами концентрациях и объемах не оказывало существенного влияния на уровень тревожности крыс. При исследовании психостимулирующего эффекта этанола в первый день эксперимента обнаружено существенное усиление двигательной активности при введении этанолсодержащих растворов в объемах 15.5 мл/кг и 40 мл/кг. В более поздние сроки наблюдения стимулирующий эффект этанола, введенного в среднем объеме (15.5 мл/кг) был нестабильным, в то время как при введении максимального объема этанола обнаружено усиление двигательной активности в течение всех 7 суток наблюдения. Было показано, что в первый день эксперимента введение этанола в дозе 2 мг/кг вызывало анальгетический эффект только при введении среднего объема раствора этанола. На следующий день при введении этанола во всех концентрациях и объемах происходило усиление анальгетического эффекта. Последующие введения этанола приводили к развитию толерантности к данному эффекту. Суммируя полученные нами данные, можно предположить, что для формирования толерантности к различным эффектам этанола существенное значение при одинаковой дозе имеет объем потребляемой этанолсодержащей жидкости. Таким образом, результаты наших исследований подтверждают выдвинутую нами гипотезу, что толерантность к эффектам этанола первично может быть обусловлена его влиянием на активность опиоидных рецепторов желудка, что опосредованно приводит к изменению активности центрального отдела эндогенной опиоидной системы.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-04-01690).

РЕАКЦИЯ НА ГИПЕРКАПНИЮ У НОВОРОЖДЁННЫХ КРЫС, ПЕРЕНЁСШИХ ПРЕНАТАЛЬНОЕ ПАССИВНОЕ КУРЕНИЕ (IN VITRO)

Болычевский С.Е., Зинченко Е.А., Мирошниченко И.В.

Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия.

E-mail: singlsb@mail.ru

У детей, матери которых во время беременности были подвержены пассивному курению, риск наступления внезапной младенческой смерти (SIDS) значительно больше. Остановку дыхания во время сна считают основной причиной возникновения SIDS. Пассивное курение матери во время беременности увеличивает вероятность возникновения синдрома апноэ во время сна у новорожденных. Введение никотина во время беременности самкам грызунов приводит к уменьшению выраженности реакции дыхательного центра на гиперкапническое воздействие, однако табачный дым содержит более 4000 химических веществ и пренатальные инъекции никотина нельзя считать исчерпывающей моделью при изучении влияния пассивного курения беременных на их потомство. В данном исследовании было изучено влияние фумигации табачным дымом беременных самок крыс на реакцию их потомства на гиперкапнию в условиях *in vitro*.

В исследовании использованы данные, полученные от 107 изолированных бульбоспинальных препаратов (БСП) мозга новорожденных (возраст 0-1 сутки) белых беспородных крыс, матери которых во время беременности (с 1 по 20 день) подвергались фумигации табачным дымом. БСП были получены по методике, описанной Suzue T. в 1984 году. Во время препаровки мозг орошали искусственной цереброспинальной жидкостью (температура 4°C), насыщенной смесью 5% CO₂ и 95% O₂, pH 7,3-7,4 и газовой смесью 10% CO₂ и 90% O₂ для создания гиперкапнических условий. Электрическая активность БСП мозга новорожденных крыс регистрировалась с помощью всасывающего электрода с вентральных корешков C₃-C₅. При обработке нейрограмм измерялись продолжительность респираторного цикла (с), продолжительность (с) и амплитуда инспираторных разрядов (мкВ). Для описания пиков спектра респираторных разрядов использовались параметры: частота пика (Гц) и спектральная плотность мощности (СПМ) пика (относительные единицы).

У БСП новорождённых крыс экспериментальной группы в нормакапнических условиях продолжительность респираторного цикла была на 13.6% меньше, чем у препаратов контрольной группы. Реакция БСП контрольной группы на гиперкапническое воздействие характеризовалась уменьшением продолжительности респираторного цикла и амплитуды инспираторных разрядов, увеличением доли среднечастотных осцилляций в спектре разрядов за счет уменьшения мощности осцилляций низкочастотного диапазона. Особенностью реакции на гиперкапническое воздействие БСП мозга новорожденных крыс, перенесших пренатальное пассивное курение, являлось отсутствие изменений продолжительности респираторного цикла,

меньшая выраженность снижения амплитуды инспираторных разрядов и смещение пика среднечастотного диапазона спектра разрядов в сторону больших частот.

Таким образом, в нашем исследовании *in vitro* было установлено, что фумигация табачным дымом беременных самок крыс вызывает существенные изменения в центральных механизмах генерации дыхательного ритма и центральной хемочувствительности у их потомства в раннем постнатальном периоде.

РОЛЬ РАННЕЙ СТИМУЛЯЦИИ ЭНДОКАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА У КРЫС

Борисова М.А.¹, Сулейманова Е.М.², Аббасова К.Р.¹, Виноградова Л.В.².

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва; ²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия.

E-mail: melpomena9006@mail.ru

В настоящее время в клинике хорошо известна связь между эпилепсией и эмоциональными расстройствами – депрессией, тревожностью и синдромом дефицита внимания и гиперактивности, однако механизмы этой связи практически не изучены. Эндоканнабиноидная система мозга является основным ограничителем синаптической передачи, а также участвует в широком спектре поведенческих реакций. Это делает ее многообещающим объектом при изучении механизмов эпилепсии и связанных с ней расстройств поведения. Целью нашей работы было выяснение роли эндоканнабиноидной системы в развитии патологий поведения при экспериментальной височной эпилепсии у крыс, развивающейся после эпилептического статуса (ЭС).

Исследование проводили на литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии у взрослых самцов крыс Wistar (n = 48). В ранний период после ЭС (4 часа) первой группе (WIN) вводили агонист эндоканнабиноидных рецепторов WIN-55,212-2 (5 мг/кг); второй группе вводили эквивалентный объем растворителя - 5% DMSO и 1% Tween-80. Контрольной группе крыс вместо индуцирующего ЭС пилокарпина вводили физраствор. Через четыре месяца проводили батарею поведенческих тестов: тест на потребление сахарозы, тесты на установках «Темно-светлая камера», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле».

Было обнаружено, что введение агониста эндоканнабиноидных рецепторов после ЭС резко снижало смертность животных в постстатусный период: смертность в течение 5 месяцев составила 56% в контрольной группе крыс и 14% в группе крыс, получивших WIN-55,212-2. В тесте на потребление сахарозы 12,5% контрольных крыс (без ЭС), 14,3% крыс группы WIN и 37,5% крыс группы, получившей растворитель, не предпочитали сахарозу воде. В тесте «Темно-светлая камера» было

обнаружено, что крысы, перенесшие ЭС, чаще выходили и проводили больше времени в светлом отсеке, чем крысы, не переносившие ЭС. Между группой WIN и группой, получившей растворитель, различий не выявлено. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» крысы, перенесшие ЭС, проводили больше времени в открытых рукавах, чем контрольные крысы, а также продемонстрировали повышенную двигательную активность. У крыс группы, получившей растворитель, отмечалось большее число дефекаций, чем у контрольной группы, крысы группы WIN не отличались от контрольных. В тесте «Открытое поле» крысы, перенесшие ЭС, проявляли большую двигательную активность, чем контрольные крысы, однако различий между группами, получившими WIN и растворитель, выявлено не было.

Полученные результаты показали резкое снижение смертности в постстатусный период при ранней стимуляции эндоканнабиноидных рецепторов. У выживших в течение 5 месяцев после ЭС крыс наблюдались значительные поведенческие нарушения, проявляющиеся в виде увеличения активности в поведенческих тестах и количества дефекаций. Введение агониста эндоканнабиноидных рецепторов не предотвращало развитие гиперактивности, но уменьшало выраженность стресса, а также депрессивно-подобного и эмоционального поведения. Таким образом, активация эндоканнабиноидной системы ослабляет некоторые патологические последствия ЭС.

Работа поддержана грантами РФФИ № 16-34-01282_мол_а, 14-04-01184_а.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ И NADPH-ДИАФОРАЗЫ В ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЕ У КРЫС

Варенцов В.Е., Пожилов Д.А., Чепышев Д.В., Знаткова О.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: rum-yar@mail.ru

О локализации нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) в структурных образованиях головного мозга обычно судят по наличию в них активности NADPH-диафразы. Между тем существуют данные, что распределение этих ферментов в нейронах часто не совпадает, т.к. n-NOS и NADPH-диафараза являются различными изоэнзимами дегидрогеназ.

Цель исследования: установить локализацию nNOS и NADPH-диафараза позитивных структур в различных слоях обонятельной луковицы (ОЛ) мозга крысы.

Работа выполнена на 7 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. В нейронах обонятельной луковицы NADPH-диафаразу выявляли гистохимическим (ГХ) методом Хоупа (Hope, Vincent; 1989), nNOS – иммуногистохимическим (ИГХ). Распределение NADPH-диафаразы оценивали на сагиттальных и парасагиттальных криостатных срезах правой и левой обонятельных луковиц толщиной 20 мкм.

Активность n-NOS определяли методом непрямого иммуногистохимического мечения антителами к n-NOS (ab76067) с пероксидазной меткой на парафиновых срезах толщиной 7 мкм. Учитывая, что реакции поставлены на разных срезах (криостатные и парафиновые), сравнения плотности распределения нейронов и их размеров не проводили.

Установлено, что во всех изученных слоях ОЛ выявляются NADPH-диафороза позитивные нейроны. В гломерулярном слое конечный продукт реакции интенсивно заполняет центральную часть клубочков, распределяется в пучках волокон обонятельных нитей, в отдельных нервных волокнах и сосудах. По периферии клубочков, у границы наружного плексиморфного слоя, яркую позитивность проявляют мелкие юкта- и перигломерулярные нейроны, имеющие однотипную морфологию – крупные ядра и узкий ободок цитоплазмы. Все нейроны наружного плексиформного и митрального слоев являются NADPH-диафороза-негативными. В гранулярном слое позитивные нейроны разделяются на две субпопуляции: мелкие нейроны – клетки-зерна с низкой активностью NADPH-диафорозы и крупные клетки с высокой активностью фермента в теле и в отростках. Резкую позитивность к NADPH-d проявляют микрососуды всех слоев, в том числе и микрососуды гломерул.

При ИГХ исследовании активность n-NOS определяется в слое гломерул, но исключительно в субпопуляции мелких юктагломерулярных нейронов на границе наружного плексиморфного слоя, остальные структуры клубочков, включая центральную зону, негативны. Митральный, наружный и внутренний плексиформные слои не содержат n-NOS позитивных структур. В гранулярном слое позитивные нейроны также составляют две субпопуляции – мелкие и крупные мультиполярные клетки с протяженным нейропилем. Отсутствует позитивность сосудов.

Таким образом, среди нейронов ОЛ позитивными к NADPH-d и n-NOS являются перигломерулярные, юктагломерулярные, часть клеток–зерен и часть пучковых клеток. Сравнение распределения NADPH-d и n-NOS в ОЛ не выявляет явных отличий в топографии позитивных нейронов.

Но NADPH-d позитивность других структур, особенно микрососудов, связана не с локализацией в них n-NOS, а вероятно, других NOS – эндотелиальной или индуцибельной. Это необходимо учитывать при оценке результатов реакции на диафорозу, особенно при экспериментальных воздействиях.

РОЛЬ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ HELIX В РЕКОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ

Винарская А.Х., Зюзина А.Б., Рошин М.В., Балабан П.М.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия.

E-mail: aliusha1976@mail.ru

Активное изучение такого явления как реконсолидация началось сравнительно недавно. Реконсолидация запускается напоминанием об обучении, при этом напоминание (реактивация) вызывает процесс временной протеин-зависимой лабильзации памяти и ее дальнейшую консолидацию. Одной из гипотез относительно механизмов реконсолидации является высказанная Eisenhardt и Menzel гипотеза о «внутреннем подкреплении». Эти авторы предположили, что нейроны, участвующие в подкреплении, должны участвовать и в запуске процесса реконсолидации.

Ранее было продемонстрировано, что серотонинергическая система виноградной улитки выполняет функцию подкрепления при выработке авersiveного условного рефлекса. В данной работе, опираясь на теорию, высказанную Eisenhardt и Menzel, мы решили исследовать, происходит ли активация серотонинергических нейронов во время напоминания и запуска процессов реконсолидации.

В качестве модели был выбран условный оборонительный рефлекс на пищу. Выработка рефлекса проводилась на полуинтактном препарате: аппликация капли морковного сока на хеморецепторную поверхность (условный стимул) сочеталась с аппликацией хлористого хинина в ту же область (отрицательное подкрепление). Тестирование изменений ответов нейронов проводилось через 90 минут после последнего сочетания условного и безусловного стимулов. Выяснилось, что при напоминании активация происходит не только в командных нейронах (собственно результат обучения), но и в серотонинергических нейронах педального ганглия. В этих клетках при напоминании увеличивается частота спайковых разрядов, причем изменение ответа носит тонический характер. Следует отметить, что до процедуры обучения серотонинергические нейроны на аппликацию сока не отвечали. Чтобы дать окончательный ответ о роли серотонинергических нейронов подкрепления Helix в запуске процесса реконсолидации мы провели поведенческую серию экспериментов с блокадой серотонинергической системы во время напоминания при помощи нейротоксина 5,7-дигидрокситриптамина. В итоге был сделан вывод о необходимости серотонинергических нейронов для запуска процесса реактивации памяти.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-05304.

НЕОДНОРОДНОСТЬ РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ АСТРОЦИТОВ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНФАРКТА МОЗГА

Воронков Д.Н., Сальникова О.В., Худоевков Р.М.

Научный центр неврологии, Москва, Россия.

E-mail: neurolab@yandex.ru

Область ишемической полутени (пенумбра), возникающая вокруг очага некроза при ишемическом инфаркте мозга, отличается снижением энергетического метаболизма. Морфологически, перифокальная зона инфаркта мозга частично соотносится с пенумброй и характеризуется активацией глии и наличием ишемизированных, но жизнеспособных нейронов. Актуальной задачей современной неврологии является поиск путей поддержки жизнедеятельности нейронов в перифокальной зоне. Важную роль в этом процессе играет нейроглия и, в частности, астроциты, которые не только поддерживают метаболизм нейронов, но и участвуют в их гибели. Изучение реакции астроцитов при инсульте актуально в связи с многогранностью выполняемых функций и потенциальной возможностью их фармакологической регуляции. Цель настоящего исследования - охарактеризовать морфохимические изменения астроглии перифокальной зоны инфаркта мозга.

Работу проводили на срезах мозга крыс Вистар (n=10), взятых на 7 и 21 день после окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА), выполненной сотрудниками ФФМ МГУ (Гаврилова, Самойленкова, Пирогов и др, 2009; Худоевков, Савинкова, Струкова и др., 2014). В коре головного мозга иммуногистохимически исследовали локализацию глиальных белков: GFAP (белка цитоскелета), аквапорина-4 (AQP4, белка водных каналов) и глутаминсинтетазы (GS, фермента обмена глутамата). Морфометрически оценивали плотность распределения астроцитов, а также количество, форму и длину их отростков. Ишемизированные нейроны выявляли по Нисслю и красителем FluoroJade. В составе перифокальной зоны выделили две области, отличавшихся характером изменений астроглии. На 7 день после ОСМА в области, прилежащей к очагу, выявили наибольшую экспрессию GFAP, гипертрофию астроцитов и снижение окрашивания на GS и AQP4, что указывает на нарушение глио-нейрональных и глио-васкулярных взаимодействий. В то же время в области, удаленной от зоны некроза, обнаружили повышенную экспрессию и изменение локализации GS и AQP4 в отростках, тогда как гипертрофия астроцитов и увеличение содержания в них GFAP были менее выражены. На 21 день после ОСМА астроциты глиального рубца резко отличались по своей морфологии и имели повышенную экспрессию GFAP, GS и AQP4. Вне перифокальной зоны изменения в ипсилатеральном полушарии были незначительны.

Оценка формы астроцитов в области, прилежащей к некрозу, показала, что наибольшие изменения наблюдаются на 21 день – так, длина и площадь, занимаемая отростками, значительно увеличивались по сравнению с контролем на 28% и 34%

соответственно, соотношение количества отростков к числу их ветвлений на 7 день не изменялось, а на 21 день оно значительно возрастало.

Таким образом, морфохимические изменения астроглии в перифокальной зоне зависят от удаленности от ишемического очага и времени, прошедшего с его возникновения, при этом реакция астроцитов соотносится с изменением водного гомеостаза, обмена глутамата, а также с модификацией цитоскелета и отростков, что свидетельствует об изменении характера контактов с синапсами и сосудами. Исследование позволило выделить два отличающихся класса реактивных астроцитов, имеющих различную локализацию в перифокальной зоне, и, предположительно, различающихся своей функциональной ролью: первый - участвующий в структурной реорганизации нервной ткани, и второй, поддерживающий метаболизм и функциональную активность нейронов.

РОЛЬ СЕРОТОНИНА И ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ ОБУЧЕНИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ В ПРОСТЫХ СИСТЕМАХ

Гайнутдинов Х.Л.^{1,2}, Андрианов В.В.^{1,2}, Богодвид Т.Х.^{1,3}, Винарская А.Х.⁴,
Головченко А.Н.¹, Дерябина И.Б.¹, Муранова Л.Н.¹

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета, Казань, Россия; ² Казанский физико-технический институт КНЦ РАН, Казань, Россия;

³ Академия физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия; ⁴ Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

E-mail: kh_gainutdinov@mail.ru

Процессы обучения и памяти лежат в основе изменения поведения и составляют основное содержание интегративной деятельности мозга. Одна из наиболее интригующих интегративных функций мозга – это его способность хранить информацию, полученную в опыте, и вспоминать большую его часть. Память можно определить как процесс, состоящий в запоминании, хранении и воспроизведении приобретенного опыта. Всегда остается важным этап сохранения результатов обучения. Стадию долговременной памяти, которая является результатом обучения, хорошо можно тестировать через процесс реконсолидации памяти. В рамках проблемы клеточных механизмов обучения можно выделить несколько конкретных задач: это анализ мембранных характеристик нейронов и синаптической передачи, от которых зависит возбудимость как пресинаптических, так и постсинаптических структур, к каковым относятся мембранный и пороговый потенциалы, это роль ионов Ca^{2+} и цАМФ в индукции ассоциативных и неассоциативных форм обучения, а также нейромедиаторы. Доказано, что серотонин (5-НТ) является основным медиатором, который опосредует оборонительное поведение у моллюсков, поэтому роль серотонинергической системы в выработке условных оборонительных рефлексов у

моллюсков трудно переоценить. Открытие способности клеток млекопитающих к синтезу свободного радикала оксида азота (NO) стимулировало огромные усилия исследователей к изучению роли NO во всех областях биологии и медицины. Показано, что серотонин и доноры NO взаимно усиливают эффекты друг друга.

Поэтому нами было проведено исследование роли 5-НТ и NO в механизмах обучения поведенческими и электрофизиологическими методами с применением инъекций 5-НТ, его нейротоксических аналогов 5,6-DHT и 5,7-DHT и предшественника его синтеза 5-НТР в тело животного, а также с применением доноров и блокаторов NO-синтаз и ингибитора растворимой гуанилатциклазы – ODQ. Обнаружено, что одноразовое и хроническое введение блокатора NO-синтаз L-NAME нарушает выработку условных рефлексов, также найдено, что ингибитор растворимой гуанилатциклазы – ODQ ускоряет обучение. Найдено, что NO необходим для процесса реконсолидации памяти, причем речь идет только о работе нейрональной и эндотелиальной NO- синтаз. С другой стороны, показано, что ежедневная инъекция 5-НТ и предшественника его синтеза 5-НТР перед сеансом обучения ускоряет обучение, а ежедневная инъекция 5-НТР перед сеансом обучения на фоне дефицита 5-НТ, созданного нейротоксином 5,7-DHT, возвращает способность животных к обучению.

Работа поддержана РФФИ (грант № 15-04-05487_a).

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КАУДАЛЬНОГО БРЫЖЕЕЧНОГО УЗЛА НА БОЛЬШУЮ ПОЯСНИЧНУЮ МЫШЦУ

Давыдова Л.А.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь.

E-mail: la-davydova@yandex.ru

С конца 60-ых годов на базе выявленных закономерностей развития и строения периферической нервной системы Д.М. Голуб развивает идею о реиннервации внутренних органов путём создания для них дополнительных источников иннервации. В течение ряда лет Д.М. Голуб с учениками последовательно разрабатывал следующие методические приёмы: органопексия - в качестве донора используется богатый нервами орган (чаще тонкая кишка); трункопексии: в орган вживляется дистальный конец перерезанного нерва и ганглиопексии: к органу подшивается вегетативный нервный ганглий на нервно-сосудистой ножке. Как показали ранние исследования, свободная трансплантация вегетативных ганглиев не дает положительного эффекта, так как вследствие анемии нервные клетки трансплантата погибают к 6-10 дню.

В задачу нашего исследования входило изучить состояние каудального брыжеечного узла (КБУ) при пересадке его на хорошо васкуляризованную и богато иннервируемую ткань – большую поясничную мышцу (БПМ) – с сохранением нервно-сосудистой ножки по методу, разработанному Д.М. Голубом. Сроки

наблюдения составили от 7 дней до 12 месяцев. Используются классические гистологические и гистохимические методики исследования (Рассказовой, Ниссля, Ван-Гизона, Гомори).

Изучение трансплантированного КБУ показало, что в первые семь дней большая часть нейронов находится в состоянии раздражения (набухание ядра, смещение его на периферию, рассасывание нейрофибриллярной сети), меньшая, расположенная в центре узла, погибает (нейроны вакуолизированы, разрушены, ядра не определяются, отсутствует нейрофибриллярная сеть). В наших опытах в условиях частичного сохранения кровоснабжения узла отмечена гибель только части клеток, расположенных преимущественно в центре узла, т.е. в участках, в которых кровоснабжение было нарушено в большей степени.

Через 2,5 месяца среди сохранившихся клеток много моторных нейронов, среди которых выделяются крупные многоростчатые нейроны II типа Догеля. Форма их разнообразна: овальная, грушевидная, вытянутая. В последующие сроки после операции (4, 5,5, 7, 12 мес.) основная масса нейронов не изменена, чувствительные клетки своими отростками охватывают группы двигательных нейронов. В цитоплазме этих клеток видна нежная сеть нейрофибрилл, ядра с одним или двумя ядрышками. Встречаются нервные клетки, соединённые протоплазматическим мостиком, каждая клетка содержит ядро. На моторных нейронах и их дендритах наблюдаются синаптические окончания.

Наше исследование показало, что сохранение структуры большого количества нейронов связано не только с восстановлением окольного кровоснабжения по сосудам, сопровождающим подчревные нервы, но и с многочисленными капиллярами, вырастающими из БПМ. Сохранению и восстановлению двигательных нейронов способствует и то, что отростки клеток II типа Догеля тесно оплетают рядом расположенные мотонейроны. Большое количество синапсов на двигательных клетках во все сроки наших экспериментов свидетельствует о том, что не все преганглионарные волокна нарушаются при отделении КБУ от основания одноимённой артерии.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ОТ АУТОИММУННОГО ИНГИБИРОВАНИЯ СЕРТОНИНОВЫХ И МЕЛАНКОРТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В ЦЕНТРАЛЬНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА

Деркач К.В., Шпакова Е.А., Жарова О.А., Бондарева В.М., Ложков А.А., Шпаков А.О.

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

Важнейшую роль в регуляции пищевого поведения, периферического энергетического гомеостаза, функций эндокринной системы играет меланокортиновая сигнальная система гипоталамуса. Ее основными компонентами

являются меланокортиновые рецепторы 3-го и 4-го типов (МК₃Р и МК₄Р), которые сопряжены с G-белками стимулирующего типа и активируются α -меланоцитстимулирующим пептидом и другими пептидами меланокортинового семейства. В последние годы появились данные об участии серотониновой системы мозга, включающей сопряженные с G₁-белками серотониновые рецепторы 1-го типа (С₁Р), не только в регуляции функций ЦНС, но и периферического метаболизма. В основе такой регуляции лежит тесное взаимодействие С₁Р-серотониновой системы с лептиновой и инсулиновой сигнальными системами гипоталамуса, ответственными за контроль пищевого поведения и энергетический гомеостаз. Нарушения в меланокортиновой и С₁Р-серотониновой системах могут приводить к метаболическим и нейроэндокринным расстройствам. Однако механизмы развития этих расстройств и причинно-следственные связи между ними и нарушениями в меланокортиновой и С₁Р-серотониновой системах изучены недостаточно. Целью нашего исследования было изучение метаболических нарушений, которые возникают при длительном выключении функций МК₃Р, МК₄Р и С₁Р с помощью иммунизации крыс пептидами, соответствующими иммуногенным внеклеточным участкам этих рецепторов. Иммунизацию крыс пептидами проводили многократно, в течение года (в первый, 30-й, 60-й, 90-й, 190-й, 300-й, 320-й и 360-й дни эксперимента), модифицируя их БСА для усиления иммунного ответа и используя на ранних стадиях иммунизации полный или неполный адъювант Фрейнда. Для иммунизации использовали пептид 11-25, соответствующий внеклеточному N-концевому участку МК₄Р, пептида 269-280, соответствующий третьей внеклеточной петле МК₃Р, и пептид 189–205, соответствующий второй внеклеточной петле С_{1В}Р. Иммунный ответ оценивали с помощью непрямого иммуноферментного анализа на платах с иммобилизованными пептидами. Иммунизация МК₄Р-пептидом приводила к развитию типичных признаков метаболического синдрома и предиабета, в том числе к повышению общей массы тела и массы жировой ткани, повышению уровня триглицеридов и соотношения форм холестерина, связанных с липопротеидами низкой и высокой плотности, нарушению толерантности к глюкозе, отчетливо выраженной инсулиновой резистентности. Эти патологические изменения сопровождалось ослаблением активности регулируемой МК₄Р-агонистами аденилатциклазной сигнальной системы в гипоталамических нейронах. Иммунизация МК₃Р-пептидом нарушала липидный метаболизм, повышала массу жировой ткани, но заметно не влияла на общую массу тела, что свидетельствует о тенденции к жировому перерождению тканей. В гипоталамусе иммунизированных МК₃Р-пептидом крыс отмечали изменение соотношения регулируемых меланокортиновыми пептидами и моноаминами сигнальных путей. У крыс, иммунизированных С_{1В}Р-пептидом, не было выявлено изменений массы тела и жировой ткани, углеводного и липидного метаболизма, но было отмечено ослабление функционирования гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси – снижение уровня тиреотропного гормона (ТТГ) и

тиреоидных гормонов. У крыс, иммунизированных МК₄P- и МК₃P-пептидами также отмечали снижение уровня тиреоидных гормонов, но на фоне повышения концентрации в крови ТТГ.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект 14-15-00413).

ОСОБЕННОСТИ КАЛЬБИНДИН- И КАЛЬРЕТИНИН-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ МЕТАСИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Емануйлов А.И., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: post_doc@mail.ru

К внутриклеточным кальций-связывающим белкам, наиболее распространенным в нервной системе, селективно экспрессирующимся в определенных популяциях нейронов, относятся кальбиндин (КБ) массой 28 кДа и кальретинин (КР). При этом особенности возрастного развития кальций-регулирующих систем, в том числе КБ и КР в нейронах автономной нервной системы остаются малоизученными, хотя отдельные работы свидетельствуют о выраженных возрастных изменениях экспрессии этих пептидов.

Исследование проведено на 30 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30 суток, 2 и 24 месяца с соблюдением национальных и международных этических норм обращения с лабораторными животными. Локализация, процентное содержание и морфометрические характеристики КБ и КР иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах межмышечного и подслизистого сплетения двенадцатиперстной кишки крыс в постнатальном онтогенезе определялись при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечения антителами и последующей флуоресцентной микроскопией. Статистический анализ включал определение средней арифметической, ее стандартной ошибки, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты показали, что КБ и КР-иммунореактивные нейроны выявлялись у всех исследованных крыс от новорожденных до старых. Доля КР-иммунореактивных нейронов заметно увеличивалась в первые 10 суток жизни, и далее достоверно не изменялась, в том числе и у старых животных. Процент КБ-содержащих нейронов возрастал в первые 20 суток жизни, незначительно снижался к концу первого месяца и далее достоверно не менялся. Большая часть нейронов локализовала КБ и КР уже у новорожденных животных. Средний размер КБ- и КР-иммунореактивных клеток являлся достоверно больше средней площади сечения иммунонегативных нейронов во всех возрастных группах.

Таким образом, в раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение доли КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах кишки, что противоположно возрастным изменениям содержания кальций-связывающих белков в чувствительных спинномозговых и симпатических узлах. Окончательное созревание нейронов интрамуральных узлов, содержащих различные типы кальций-связывающих белков, завершается к концу первого месяца жизни. Возрастной инволюции КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов межмышечного сплетения двенадцатиперстной кишки у старых крыс не отмечается.

ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ К ВНЕКЛЕТОЧНЫМ УЧАСТКАМ МК4- И МК3-МЕЛАНКОРТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И 1В-СЕРОТОНИНОВОГО РЕЦЕПТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ

Жарова О.А., Деркач К.В., Шпаков А.О.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: ozharova2009@gmail.com

При изучении влияния длительной иммунизации крыс пептидами, соответствующими по первичной структуре внеклеточным участкам меланокортиновых и серотониновых рецепторов, у иммунизированных животных были выявлены метаболические и функциональные нарушения, а также изменения активности гормональных сигнальных систем в ЦНС и на периферии. Эти изменения были сходны с теми, которые возникают при фармакологическом ингибировании меланокортиновых рецепторов 3-го и 4-го типов (МК₃Р и МК₄Р) и серотониновых рецепторов 1-го типа (С₁Р). В связи с этим было высказано предположение, что вырабатываемые в процессе иммунизации антитела блокируют гормональные рецепторы, к которым они были выработаны. Цель работы состояла в проверке этого предположения, для чего из крови иммунизированных крыс выделяли антитела и исследовали их влияние на функциональную активность аденилатциклазной сигнальной системы и ее регуляцию агонистами МК₃Р, МК₄Р и С_{1В}Р во фракциях плазматических мембран гипоталамуса. Для иммунизации использовали БСА-конъюгированные пептиды, соответствующие участку 269-280 третьей внеклеточной петли МК₃Р, участку 11-25 внеклеточного N-концевого домена МК₄Р и участку 189–205 второй внеклеточной петли С_{1В}Р. Иммунизацию проводили восьмикратно в течение года. Выделение фракций антител проводили последовательной обработкой сывороток крови каприловой кислотой и сульфатом аммония. Полученную очищенную (около 95%) фракцию антител подвергали диализу против ФБС. Восстановление активности антител после диализа контролировали с помощью иммуноферментного анализа. В качестве контроля использовали сыворотку здоровых животных. Активность фермента аденилатциклазы (АЦ) определяли с помощью радиоизотопного метода, используя меченый субстрат – [α-³²Р]-АТФ. Показано, что в

присутствии контрольной сыворотки базальная активность АЦ немного повышалась, в то время как в присутствии антител, выделенных из крови иммунизированных крыс, она не менялась (анти-С_{1В}Р) или немного снижалась (анти-МК₃Р и анти-МК₄Р). В мембранах, преинкубированных с анти-МК₄Р антителами, отмечали не только значительное снижение максимальных стимулирующих АЦ эффектов неселективного МКР-агониста α -меланоцитстимулирующего гормона (α -МСГ) и селективного МК₄Р-агониста ТНIQ, но и повышение значения ЕС₅₀ для АЦ эффекта ТНIQ. В присутствии анти-МК₃Р антител отмечали ослабление стимулирующего АЦ эффекта МК₃Р-агониста γ -МСГ и небольшое снижение эффекта α -МСГ. При этом значение ЕС₅₀ для АЦ эффекта γ -МСГ не менялось. Стимулирующие эффекты гормонов, действующих через другие типы рецепторов, в присутствии анти-МК₄Р и анти-МК₃Р антител практически не менялись. Преинкубация мембран с анти-С_{1В}Р антителами приводила к ослаблению ингибирующего АЦ эффекта С_{1В}Р-агониста 5-нонилцитриптамина на стимулированную форсколином активность АЦ, но при этом, хотя и в небольшой степени, снижала соответствующие эффекты агонистов С_{1А}Р, также сопряженных с G_i-белками. Таким образом, нами показано, что антитела, вырабатываемые к внеклеточным участкам МК₃Р, МК₄Р и С_{1В}Р, с различной степенью специфичности блокируют передачу гормонального сигнала через эти рецепторы и могут быть отнесены к классу ингибирующих антител, что хорошо согласуется с теми функциональными изменениями, которые отмечались нами у иммунизированных животных.

РОЛЬ НЕЙРОПЕПТИД γ -ЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЦА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Зверев А.А., Аникина Т.А., Крылова А.В., Ситдииков Ф.Г.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия. E-mail:

alekcei5@rambler.ru

Развитие сократимости миокарда в постнатальном онтогенезе происходит достаточно сложно. В онтогенезе инотропия сердца возрастает благодаря созреванию процессов сопряжения возбуждения-сокращения, изменению экспрессии Са²⁺ каналов и его транспортеров в сарколемме и саркоплазматическом ретикулеме (СПР), изменению уровня сократительных белков и развитию вегетативной иннервации.

Сердце млекопитающих, как известно, подвергаются значительным морфологическим и функциональным изменениям в постнатальном онтогенезе. У крыс развитие миокарда происходит в ранние сроки постнатального развития. Крысы в возрасте 7-, 21-, 100-суток соответствуют новорожденному, молочному и половозрелому периодам развития и имеют разную степень зрелости и активности регуляторных влияний на сердце. У 7- и 14-суточных крысят симпатическая иннервация сердца еще не сформирована. Для этого возраста характерно ее минимальное присутствие в сердце. 21-суточные крысята характеризуются повышением активности симпатической нервной системы. К 21 дню жизни практически все системы, участвующие в регуляции сократимости миокарда уже достигают зрелого уровня. В желудочках крыс Ca^{2+} каналы Т-типа заменяются на Ca^{2+} -каналы L-типа. В этом возрасте в кардиомиоцитах преобладает Ca^{2+} -индуцированное освобождение Ca^{2+} из СПР, необходимого для активации сокращения. С 3-х недельного возраста совершенствуется сократительный аппарат миокарда крыс и функциональные системы кардиомиоцитов начинают выходить на определенный стабильный уровень, характерный для взрослого организма. При таком подходе, на наш взгляд, удастся охватить основные периоды развития крыс и проследить формирование регуляции сердечной деятельности в разные этапы постнатального онтогенеза.

Нейропептид Y (NPY) присутствует совместно с норадреналином во многих нейронах и действует, как котрансмиттер, модулируя эффекты основного медиатора, оказывая пре- и постсинаптические эффекты. По данным некоторых авторов, на ранних этапах онтогенеза из двух нейротрансмиттеров, хранящихся в симпатических нервах, нейропептид Y контролирует развитие сократимости миокарда. В сердце крыс присутствует метаботропные NPY_1 , NPY_2 , NPY_3 , NPY_4 и NPY_5 - рецепторы. Несмотря на обилие морфологических работ, доказывающих наличие различных типов NPY-рецепторов в сердце, функциональная роль многих из них остается не ясной. Эксперименты по определению изометрическое сокращение полосок миокарда предсердий и желудочков крыс 7-, 21- и 100-суточного возраста на действие селективного агониста и блокатора проводили на установке "PowerLab".

Изучали влияние селективного агониста NPY_1 -рецепторов Leu(31)Pro(34)NPY на сократимость миокарда крыс 7-, 21- и 100-суточных животных в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-13} М. Максимальное увеличение силы сокращения миокарда у 100-суточных крыс наблюдается в концентрации 10^{-7} М. У 7-и 21-суточных животных максимальное увеличение силы сокращения миокарда желудочков и предсердий наблюдается в концентрации агониста 10^{-6} М. Концентрация агониста, вызывающая положительный инотропный эффект от 100-к

7-суточному возрасту повышается, что указывает на более высокую чувствительность NPY_1 -рецепторов у взрослых животных.

Реализация положительного инотропного эффекта селективного агониста NPY_1 типа рецепторов осуществляется через Ca каналы L-типа и мобилизацию кальция из саркоплазматического ретикулула. Добавление агониста на фоне блокатора приводит к устранению положительного инотропного эффекта агониста во всех возрастных группах, что подтверждает участие NPY_1 типа рецепторов в реализации положительного инотропного эффекта.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО ВОСПРИЯТИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ РАЗНОЙ КОМФОРТНОСТИ

Звягина Н.В.

Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,
Архангельск, Россия. E-mail: n.zvyagina@narfu.ru

Изучали реактивность вегетативной нервной системы человека и особенности показателей трекинга глаз при восприятии визуальных стимулов разной комфортности.

Обследовано 50 человек в возрасте 20,5 лет без патологий зрительной системы. Исследования проводились с согласия обследованных и с соблюдением правил физиологической этики (Declaration of Helsinki and European Community Directives, 8/609 EC). Регистрировали особенности зрительно-моторных реакций на основе отслеживания саккадических движений (eye-tracking) с помощью установки iView XTM RED и вызванный кожный вегетативный потенциал (ВКВП) с помощью компьютер-совместимого прибора ВНС-спектр («Нейрософт»). Обследуемым в течение 20-секундного промежутка времени с монитора компьютера поочередно предъявляли 3 визуальных стимула (изображения) разной степени комфортности: гомогенный (изображение торца здания без окон и дверей, ГС), агрессивный (изображение фасада многоэтажного здания с большим количеством окон, АС), комфортный (изображение леса, КС). На каждом этапе исследования записывали кривую ВКВП и данные трекинга глаз. Полученные кривые ВКВП обрабатывали с помощью программ ВНС-Спектр, данные трекинга глаз анализировали с помощью программы SMI BeGaze. Статистический анализ изучаемых параметров ВКВП и трекинга глаз проводили с применением набора компьютерных программ SPSS for Windows v. 22.0.

Выявлено, что при восприятии некомфортных изображений (ГС, АС) происходит увеличение амплитуды первой и второй фазы ВКВП, что свидетельствует об активации эрготропной системы мозга, обеспечивающей вегетативную мобилизацию организма. Симпатикотония при этом обоснована стрессовой реакцией организма в ответ на предъявленные стимулы. Трекинг глаз в этих условиях

характеризуется снижением количества саккад, увеличением их амплитуды и длительности фиксаций, что приводит к утомлению зрительного анализатора и психофизиологическому дискомфорту. На основании корреляционного анализа изучаемых параметров можно сделать вывод о различном механизме реализации зрительного восприятия визуальных сред разной комфортности. Так, при восприятии изображения комфортной среды выявлено большее разнообразие статистических связей между показателями ВКВП и динамическими показателями трекинга глаз (длительность и количество саккад), что, вероятно, является следствием согласованной работы двигательного аппарата глаз и ВНС, обеспечивающей оптимальный режим зрительного восприятия данной информации. При анализе статистических связей между показателями трекинга глаз и ВКВП при восприятии изображений агрессивной и гомогенной сред обнаружено уменьшение количества достоверных корреляций. В агрессивной визуальной среде взгляд остается в рамках однородного видимого поля. В итоге после очередной саккады в мозг поступает недостаточный объем информации, то есть после совершения действия (саккады) нет подтверждения этому действию (Филин В.А., 2006). В результате недостаточность сенсорного сигнала уменьшает силу и разнообразие связей между сенсорным аппаратом и ВНС, которые в норме работают как единое целое. Длительное восприятие агрессивной визуальной среды приводит к закреплению данного дисбаланса, нарушению автоматии саккад, быстрому утомлению глаз и психофизиологическому дискомфорту. Учитывая это, необходима грамотная организация городской визуальной среды (Филин В.А., 2006). В практике градостроительства, наряду с сохранением парковых зон, существуют примеры настенной живописи, при помощи которой удастся избавиться от гомогенных и агрессивных полей.

РОЛЬ ИГ В РЕАЛИЗАЦИИ СИМПАТИЧЕСКИХ ВЛИЯНИЙ НА РАЗВИВАЮЩЕЕСЯ СЕРДЦЕ КРЫС

Зиятдинова Н. И., Зефилов Т. Л.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия.

E-mail: zefirovtl@mail.ru

Симпатический отдел вегетативной нервной системы (ВНС) проявляет широкий спектр сердечно-сосудистых эффектов. Адренорецепторы (АР) являются посредниками биологических эффектов симпатической нервной системы. Сердце обладает эффективной системой рецепторов, которые взаимодействуют с медиаторами и модулируют активность внутриклеточной сигнализации. Считается, что катехоламины в сердце в основном взаимодействуют с β_1 -АР, β_2 -АР и α_1 -АР. Ритм сердца регулируется в основном путем изменения длительности потенциала действия атипичных кардиомиоцитов синоатриального узла. В процессе постнатального онтогенеза происходит изменение реакции сердечных функций на воздействия со стороны отделов ВНС. У новорожденных крысят симпатическая регуляция сердца

отсутствует, она формируется с 3-й по 6-ю недели постнатального развития. С возрастом изменяется плотность HCN каналов, обеспечивающих ток активируемый при гиперполяризации (If). Целью данного исследования было изучение роли If в реализации β -адренергической регуляции сердца развивающихся крысят.

Эксперименты *in vivo* были проведены на белых беспородных крысах 3-х и 20-ти недельного возраста. Для наркоза использовали 25% раствор уретана, внутривенно в количестве 800 мг/кг массы животного. В правую бедренную вену вводили агонист β -АР изопротеренол из расчета 0,1мг/кг массы животного и блокатор If ZD 7288 - 0,07мг/кг. На протяжении всех экспериментов у крыс постоянно регистрировалась электрокардиограмма, при помощи электрокардиографа ЭК 1Т-03М. Статистическая обработка данных и определение достоверности различий результатов исследований по критерию Стьюдента и Вулькоксона осуществлялись в редакторе Microsoft Excel.

Введение агониста β -АР взрослым крысам приводило к достоверному увеличению частоты сердечных сокращений. Вегетативный гомеостаз при этом смещался в сторону преобладания симпатического отдела ВНС. Введение неспецифического агониста β -адренорецепторов приводило к учащению сердечной деятельности 3-х недельных крысят ($p < 0,01$). Динамика значений вариационной пульсограммы свидетельствовала о повышении тонуса симпатического канала регуляции сердечной деятельности. У взрослых крыс на фоне действия блокатора If, введение изопротеренола приводило к достоверному увеличению частоты сердечных сокращений. Предварительное введение ZD-7288 не приводило к существенным изменениям показателей сердечной деятельности при стимуляции β -АР у 3-х недельных крысят. Таким образом, стимуляция β -АР изопротеренолом на фоне блокады If приводила к достоверному увеличению частоты сердечных сокращений у взрослых крыс. Введение агониста β -адренорецепторов на фоне действия ZD-7288 3-х недельным крысятам не вызывало достоверных изменений сердечной деятельности. Это позволяет говорить об особенностях механизмов реализации регуляторных влияний β -АР и If в развивающемся сердце. Возможно, у взрослых животных при сформировавшейся системе регуляции сердца, реализация эффекта стимуляции β -АР на сердечный ритм может быть связана не только с If, но и с другими эффекторами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-05384).

КЛЕТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ БЕЛОК GFAP В СОСТАВЕ ВЫСТИЛКИ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Кирик О.В., Назаренкова А.В., Суфиева Д.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: olga_kirik@mail.ru

Выстилка желудочков головного мозга образована в большинстве областей ресничными эпендимоцитами. В нижней части третьего желудочка его выстилка образована таницитами. Для типичных эпендимоцитов головного мозга крысы характерно высокое содержание белка промежуточных филаментов виментина, тогда как для таницитов характерно присутствие наряду с виментином и другого белка промежуточных филаментов – GFAP. Считается, что в составе эпендимы, помимо

таницитов могут присутствовать и другие клетки, экспрессирующие GFAP (астроциты, нейральные стволовые клетки). Целью исследования было изучение структурной организации GFAP-иммунопозитивных клеток в составе эпендимы верхней части третьего желудочка головного мозга крысы – области, где танициты должны отсутствовать.

Работа была выполнена на половозрелых крысах самцах линии Вистар (n=10). Для конфокальной лазерной микроскопии было проведено двойное иммуноцитохимическое окрашивание с использованием кроличьих поликлональных антител к GFAP (Dako, Дания) и мышинных моноклональных антител к белку микротрубочек альфа-тубулину (клон DM-1A, BioGenex, США). Антитела к альфа-тубулину были использованы для выявления ресничек на поверхности эпендимоцитов.

В эпендиме верхней части третьего желудочка, прилегающей к медиальной части поводка (n. habenulae medialis), были обнаружены группы GFAP-иммунопозитивных клеток. На апикальной поверхности этих клеток располагались многочисленные реснички. Базальные части клеток переходили в широкие основания отростков. Большинство базальных отростков было направлено радиально в нейропил и достигало поверхности кровеносных сосудов поводка. В части клеток распределение GFAP в отростках и перенуклеарной области было неравномерным, более яркая иммуноцитохимическая реакция регистрировалась в отростках. Такие структурные и цитохимические особенности сближают описанные клетки с таницитами и радиальными глиоцитами, обладающими свойствами нейральных стволовых клеток, и отличают их от астроцитов, которые способны замещать гбнущие эпендимоциты [Luo J. et al., J Neurosci, 2008, 28(14):3804-13]. Наличие же множества ресничек на апикальной поверхности клеток указывает на их неидентичность таницитам и радиальным глиоцитам и сближает их с эпендимоцитами, выстилающими латеральные стенки боковых желудочков.

Таким образом, в ходе исследования были выявлены особые ресничные эпендимоциты в верхней части третьего желудочка головного мозга крысы, содержащие белок промежуточных филаментов GFAP, характерный для нейральных стволовых клеток, астроцитов и таницитов.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАННЕГО КОРТИКОГЕНЕЗА КАК ОСНОВА ПРЕДИКТИВНОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЙ У ДЕТЕЙ

Краснощекова Е.И.¹, Зыкин П.А.¹, Ткаченко Л.А.¹, Насыров Р.А.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет, ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Россия, Санкт-Петербург.

E-mail: krasnelena@gmail.com

Во всем мире на фоне неуклонного снижения перинатальной и неонатальной смертности отмечается резкое увеличение детской неврологической патологии. Во многом это связано с тем, что современные технологии выхаживания новорожденных увеличивают количество выживших глубоко недоношенных детей. Принимая во

внимание высокую пластичность мозга на ранних этапах развития, очевидно, что эффективность лечебных, коррекционных и реабилитационных мероприятий тем выше, чем раньше они применяются. Это, в свою очередь, требует разработки научно обоснованных методов ранней диагностики врожденной и гестационной патологии ЦНС, которые развиваются недостаточно эффективно из-за неполного знания особенностей пренатального развития мозга человека.

В рамках настоящего исследования прослежены особенности развития неокортекса мозга человека в течение второго триместра гестации. Исследование проводили с применением иммуногистохимических маркеров – антител к элементам цитоскелета MAP2 и N200, рилину, кальций-связывающим протеинам, а также метода Ниссля. Всего исследовано 11 правых полушарий мозга плодов в возрасте 18-26 недель гестации, без патологий, по заключению патологоанатома, и с отрицательной реакцией на вирусы нейроинфекций: герпеса, цитомегаловируса, Эпштейна-Барр.

Начиная с второго триместра гестации развитие коры полушарий происходит гетерохронно. Впервые этот факт установлен в ходе детальных гистологических исследований, выполненных в Институте мозга Г.И. Поляковым (1937, 1949). Современные исследования мозга плодов человека с помощью МРТ подтверждают этот факт. Несмотря на различия в использованных подходах, результаты исследований указывают на опережающее развитие областей коры вокруг латеральной борозды – верхней височной, теменной и лобной. Мы также отметили гетерохронный характер развития коры, установив, что первые MAP2-позитивные нейроны появляются в слое eV коры верхней височной, задней лобной и передней теменной долей к 20 неделе гестации, в течение второго триместра их количество возрастает, клетки появляются и в слое eIII. В других областях коры указанных долей в этот период MAP2-позитивные клетки не выявлены.

С широким внедрением в клиническую практику МРТ стали обращать внимание на гипо- и дисплазии мозолистого тела (СС) у недоношенных и детей с заболеваниями ЦНС различного генеза. Принимая во внимание строгую топографию каллозальных волокон, локальные дисплазии СС связывают с избирательным повреждением отдельных областей коры, в том числе вследствие тератогенных влияний на нейроны в критические периоды развития, последующей валлеровской дегенерацией аксонов и/или нарушением их миелинизации. Основываясь на том, что MAP2 маркирует критический период развития и повышенной уязвимости нейронов, учитывая локализацию таких клеток в определенных областях коры, мы разработали метод оценки таких дисплазий на срединных сагиттальных томограммах мозга недоношенных раннего грудного возраста и детей 2-11 лет с диагнозом ДЦП. Для сравнения исследовали томограммы мозга ровесников детей указанных групп без неврологических патологий по заключению невролога и радиолога. В ходе анализа использовали оригинальную формулу соотношения площадей передних (колени СС2

и передняя часть ствола СС3) и задних (перешеек СС6 и валик СС7) сегментов комиссуры: $k_{CC} = (CC2 + CC3) \times CC6/CC7$. В результате были получены показатели, которые позволили охарактеризовать как возрастную динамику развития мозолистого тела, так и с высокой степенью достоверности различать мозг детей из групп контроля, недоношенных и с ДЦП.

Работа выполнена по гранту СПбГУ №1.38.333.2015, на оборудовании РЦ «РМиКТ» НИ СПбГУ.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КРЫС С ВРОЖДЁННОЙ АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ К ГИПЕРТЕРМИЧЕСКИ-ВЫЗВАННЫМ СУДОРОГАМ

Куличенкова К.Н., Солодков Р.В., Зыбина А.М., Аббасова К.Р.

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

E-mail: koulitchenkova@gmail.com

Хотя фебрильные судороги – это состояние, которое формально не является эпилепсией, оно часто может служить причиной развития эпилепсии и формирования стойкого интеллектуального и неврологического дефицита

В ряде клинических исследований показана связь продолжительных многократных фебрильных приступов с детскими эпилептическими синдромами, в том числе с абсансной эпилепсией. При этом экспериментальных данных подтверждающих отягощение течения абсансов при длительных повторных фебрильных судорогах нет. Целью нашей работы было сравнение чувствительности к гипертермически-вызванным судорогам (ГС) у крыс линии WAG/Rij с генетически детерминированными абсансными приступами и у крыс линии Wistar, отставленное ЭЭГ – исследование у взрослых крыс после ГС в раннем постнатальном возрасте, а также исследование структурных изменений мозга крыс, перенесших ГС в раннем постнатальном возрасте.

Работа выполнена на крысятах линии WAG/Rij и Wistar в возрасте ПД9 и ПД12. Всего использовано 62 крысёнка. Была использована модель гипертермически-вызванных судорог (ГС) на крысятах по Mcsaugharan et al. (1984). Перегревание крысят проводили в мягком режиме светом (лампой накаливания 200 вТ) с расстояния, обеспечивающего температуру внутри камеры +41°C. Гипертермию проводили не менее 15 мин в возрасте ПД9 и ПД12. Тяжесть судорог отмечали каждую минуту по пятибалльной шкале Racine. Регистрировали ректальная температура до, после и во время ГС.

МРТ-исследование мозга крыс проводили через 30 и 60 суток после ФП. МРТ проводилась на установке Bruker BioSpin 70/30 (Германия) в Центре магнитной томографии и спектроскопии МГУ.

Различий по времени наступления первых симптомов судорожной активности (балл 1) между крысятами обеих линий не наблюдали ни в один из

экспериментальных дней (ПД 9, и 12). Также не было выявлено межлинейных различий по степени наступления тяжести клонических судорог (3 балл). Отставленное ЭЭГ исследование крыс в возрасте 6 месяцев показало, что ГС отягощают абсансную активность, увеличивая как продолжительность, так и количество пик-волновых разрядов. У 80% крыс Wistar во фронтальной коре головного мозга были зарегистрированы отдельные разряды, напоминающие пик-волновые разряды крыс линии WAG/Rij, длительностью от 0,2-5 сек.

МРТ-исследование показало достоверное уменьшение объема гиппокампа у крыс Wistar и у крыс WAG/Rij в возрасте 3 и 6 месяцев после инициации ГС в ПД9 и ПД12 в отличие от контрольных групп животных не подвергавшихся ГС.

Таким образом, нами получены экспериментальные данные подтверждающие, что перенесенные в раннем возрасте ГС могут быть причиной более тяжелого течения абсансных приступов.

ВИСЦЕРАЛЬНЫЙ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОГО АНКСИОЛИТИКА БУСПИРОНА

Любашина О.А.^{1,2}, Бусыгина И.И.¹, Сиваченко И.Б.¹, Пантелеев С.С.^{1,2}

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

Вальдмана Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия. E-mail:

olga@kolt.infran.ru

Буспирон – широко используемый в клинике анксиолитик и антидепрессант, в основе фармакологического действия которого лежит активация серотониновых рецепторов 5-HT_{1A}-подтипа. Хорошо известно, что эти рецепторы играют важную роль в регуляции поведения, когнитивных функций и психоэмоционального состояния, что и лежит в основе применения буспирона и других 5-HT_{1A}-модуляторов в качестве психофармакологических средств. Вместе с тем, высокая концентрация 5-HT_{1A}-рецепторов в дорсальном роге спинного мозга, стволовых и переднемозговых структурах, обеспечивающих проведение и нисходящий контроль болевых сигналов, позволяет рассматривать их как потенциальные мишени для действия анальгетиков. Действительно, участие 5-HT_{1A}-зависимых механизмов в ноцицепции подтверждено многочисленными исследованиями на разных моделях боли, включая висцеральную. Однако полученные в этих работах данные противоречивы и не дают однозначного представления о конкретном вкладе рецепторов 5-HT_{1A}-подтипа в тот или иной вид болевой чувствительности. В связи с этим целью нашего исследования, проведенного на бодрствующих беспородных собаках и анестезированных уретаном (1.5 г/кг, в/бр) крысах линии Вистар, являлось изучение эффектов специфического 5-HT_{1A}-агониста буспирона на поведенческую реакцию животного на абдоминальную боль и ассоциированную с ней активность

нейронов продолговатого мозга. Для инициации абдоминальной боли во всех экспериментах использовали ноцицептивное (давлением воздуха 80 мм рт.ст.) растяжение колоректальной области толстой кишки (КРР) с помощью резинового баллона. У бодрствующих собак интенсивность болевых ощущений оценивали по вызываемым такой стимуляцией висцеромоторной (сокращения брюшных мышц) и сердечно-сосудистой (увеличение частоты сердечных сокращений) реакциям. Было показано, что внутримышечное введение буспирона в дозе 0.035 мг/кг сопровождается угнетением обеих ноцицептивных реакций в среднем на 70.1 ± 14.4 и $50.7 \pm 10.5\%$ по сравнению с исходными значениями соответственно. Увеличение дозы препарата до 0.07 и 0.14 мг/кг не приводило к существенному усилению его анальгетического эффекта, но способствовало повышению базального (в период покоя) уровня частоты сердечных сокращений и общему возбуждению животного (учащение дыхания, двигательное возбуждение, дрожь). В экспериментах на анестезированных крысах внутривенное введение буспирона оказывало тормозное действие на вызванную КРР активность нейронов вентро-латеральной ретикулярной области продолговатого мозга. После инъекции препарата в количестве 1-3 мг/кг уменьшение средней частоты нейрональных разрядов составляло $35 \pm 12\%$ от исходного уровня, однако эффект скачкообразно усиливался (до $85 \pm 5\%$) при введении 5-НТ1А-агониста в дозе 4 мг/кг. Выявленное антиноцицептивное действие буспирона угнеталось на фоне блокады центральных 5-НТ1А-рецепторов их селективным антагонистом WAY100635 (50 мкг, интрацеребровентрикулярно). Полученные данные свидетельствуют в пользу тормозной функции 5-НТ1А-рецепторов в центральных механизмах висцеральной болевой чувствительности, однако указывают на необходимость аккуратного дозирования буспирона и других 5-НТ1А-миметиков при изучении в качестве потенциальных висцеральных анальгетиков в клинике.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОЛИФЕРИРУЮЩЕЙ МИКРОГЛИИ

Мартьянова Е.К.^{1,2}, Тишкина А.О.¹

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Россия, Москва

²Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия,
Москва

E-mail: martyanova.katerina@gmail.com

Нейровоспаление – это ответная реакция мозга на повреждения различного рода. Оно является ключевым процессом многих заболеваний центральной нервной системы, в том числе нейродегенеративных. На клеточном уровне ключевым участником процесса нейровоспаления являются клетки микроглии.

Считается, что активация микроглии протекает в несколько стадий: начинается с небольших изменений в ее отростках, их укорачивания, утолщения, уменьшения их числа, а на последних стадиях активации микроглия приобретает амебоподобную форму и активируется процесс пролиферации. Однако увеличение числа клеток может идти и при несущественных изменениях морфологии микроглии. Цель данной работы – исследовать взаимосвязь процессов пролиферации и морфологических изменений клеток микроглии при нейровоспалении. Для достижения цели использовали количественные методы характеристики морфологии клетки, отработанные ранее.

В работе проведено сравнение морфологии микроглиальных клеток, экспрессирующих и не экспрессирующих маркер пролиферации – PCNA. Сравнение проведено для ситуации значительного нейровоспаления и в интактной ткани. Для сравнения морфологии клеток было проведено двойное иммунофлуоресцентное окрашивание плавающих коронарных срезов толщиной 50 мкм антителами к маркеру микроглии (Iba-1) и к маркеру пролиферации клеток (PCNA). Затем с помощью микроскопа Zeiss AxioImager.Z2 с SIM-модулем ApoTome.2, объектив x100 (NA=1.4), проводили фотографирование отдельных клеток. Цифровую обработку изображений осуществляли с помощью программного обеспечения Fiji (НИН, США). Для количественного описания морфологических характеристик микроглии использовали фрактальный анализ (плагин FracLac, A Karperien, CharlesSturtUniversity, Australia) и анализ Шолля (плагин Sholl_Analysis, T Ferreira, T Maddock).

Представленный метод позволяет различать активированные и неактивированные клетки микроглии и может быть использован в дополнение к общепринятому подсчету числа клеток при анализе нейровоспалительного статуса ткани.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-34-21047.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОЗРЕВАНИЯ НЕКАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ

Маслюков П.М., Моисеев К.Ю.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: mpm@yma.ac.ru

Подавляющее большинство постганглионарных нейронов в симпатических ганглиях являются норадренергическими. Значительно меньшая часть нервных клеток (1-25%) не содержит катехоламинов и является холинергической. Небольшая популяция нейронов в симпатических узлах является холинергической. Эти нейроны содержат холинацетилтрансферазу (ХАТ). Помимо ацетилхолина, ХАТ-иммунореактивные нейроны могут содержать вазоинтестинальный (ВИП) и

кальцитонин-ген-родственный пептид (КГРП). У млекопитающих, основной мишенью симпатических нейронов, содержащих ВИП и КГРП, является надкостница и потовые железы. У кошек и собак, в отличие от приматов и грызунов, холинергические ВИП-содержащие волокна иннервируют артериолы скелетных мышц. В паравerteбральных симпатических ганглиях кошки в 99 % нейронов, иннервирующих потовые железы и содержащих КГРП и ВИП, обнаруживается NO синтаза (NOS).

Целью исследования явилось сравнение возрастного развития популяций некахоламинергических симпатических нейронов кошки, содержащих различные нейротрансмиттеры. Исследованию подвергались симпатические узлы кошек разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, и 180-суточные). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Локализация, процентное содержание и морфометрические характеристики ХАТ, ВИП, КГРП и NOS иммунопозитивных нейронов определялись при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечения антителами и последующей флуоресцентной микроскопией. Статистический анализ включал определение средней арифметической, ее стандартной ошибки, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты показали, что у кошек холинергические нейроны, содержащие ХАТ отсутствуют у новорожденных и появляются лишь с 10 суток жизни. С 10 суток жизни у кошек ХАТ солокализован с ВИП. Наибольшее количество ВИП-позитивных нейронов определяется в звездчатом узле и небольшое количество в краниальном шейном и узлах солнечного сплетения. У новорожденных котят в звездчатом узле число ВИП-иммунореактивных нейронов невелико, и этот пептид в этом возрасте определяется главным образом в кластерно расположенных вазодилататорных нейронах. В первые 20 суток жизни доля ВИП-содержащих нейронов возрастает с 0,3 до 9,2% за счет увеличения количества диффузно расположенных клеток. На протяжении первых 10 суток ВИП-иммунопозитивные нейроны становятся также ХАТ-позитивными, а после 20 суток большинство ВИП-иммунореактивных нейронов становятся также NOS-позитивными. В первые 20 дней жизни котят доля ВИП-содержащих нейронов, экспрессирующих КГРП, возрастает с 23 до 44%. В краниальном шейном узле почти все NOS-иммунореактивные нейроны являлись ВИП-позитивными, в звездчатом узле доля NOS/ВИП солокализованных нейронов возрастала с 38 до 63% в первые 20 суток жизни. У новорожденных котят КГРП в симпатических нейронах не выявляется. Процент КГРП-иммунореактивных нейронов возрастает в первые 20 суток жизни.

Таким образом, у новорожденных котят в симпатических узлах большинство некахоламинергических нейронов имеется только один главный нейротрансмиттер - ВИП, или NO. ХАТ и КГРП определяются лишь с 10 суток жизни. Имеются

определенные отличия в возрастном развитии нейронов различных симпатических узлов.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ КАЛЬБИДИНОВЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ В ЛЮМБОСАКРАЛЬНОМ ОТДЕЛЕ СПИННОГО МОЗГА КОШКИ

Меркульева Н.С.^{1,2}, Вещицкий А.А.², Мусиенко П.Е.^{1,2}

¹Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия;
Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: mer-natalia@yandex.ru

Исследование по выявлению кальций-связывающего белка кальбиндина 28 кДа в интернейронах серого вещества люмбосакрального отдела спинного мозга проводили на 5 взрослых кошках, с использованием метода иммуногистохимического анализа. На фронтальных срезах выявлено несколько областей локализации кальбиндин-позитивных нейронов: 1) пластина I, содержащая крупные нейроны (площадь сомы 280-515 мкм²) нескольких морфотипов: фузиформные, пирамидные и мультиполярные. 2) пластины II-IV, содержащие мелкие и средние нейроны. На уровне сегментов L3-L7 в этих пластинах была впервые выявлена регулярная упорядоченная организация мелких нейронов: модули размером 268 ± 23 мкм, ориентированные перпендикулярно кривизне дорсальных рогов. Интернейроны пластин II-III отвечают за интеграцию разномодальной соматосенсорной информации (Yasaka et al., 2010). Таким образом, полагаем, что выявленные модули могут быть одной из основ сенсомоторной интеграции на уровне спинного мозга. 3) В пластинах V-VIII выявлены средние и крупные иммунопозитивные нейроны нескольких морфотипов, имеющие специфическое распределение по сегментам спинного мозга: (1) в наиболее латеральной части пластины VII на уровне сегментов L1-L4. (2) Удлиненная группа клеток на границе пластин IV-V в сегментах L5-L7, (3) Удлиненная группа клеток на дорсальной границе пластины VII, также в сегментах L5-L7. Локализация этих групп сходна с расположением ветвления волокон, приходящих от гигантоклеточной области ретикулярной формации (Liang et al., 2015); что позволяет предположить участие кальбиндиновых интернейронов в интегративных ретикулоспинальных связях. (4) В пластине VIII сегментов L5-S3 выявлены средние и крупные иммунопозитивные нейроны, некоторые из которых формируют скопление, ориентированное вдоль вентрального края пластины. Существует множество данных, свидетельствующих о том, что нейрональные сети, генерирующие локомоторный паттерн (так называемый «центральный генератор»), локализованы в вентро-медиальной части тораколумбального отдела спинного мозга (Zhong et al., 2007; Tazerart et al., 2008; Gosgnach, 2011). Полагаем, что выявленные нами кальбиндин-позитивные клетки этой зоны спинного мозга могут являться

элементами этого генератора, тем более, что некоторые из них (в наиболее вентральной части) сходны по морфологии с интернейронами Реншоу, вызывающими возвратное торможение мотонейронов (Renshaw, 1946).

Исследование выполнено с использованием оборудования ресурсного центра "Развитие молекулярных и клеточных технологий" Научного парка СПбГУ.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-15-00788 (оплата работы Вещицкого А.А.) и РФФИ № 16-04-01791 А.

НЕОДНОРОДНОСТЬ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КЛЕТОК Y-СИСТЕМЫ В НАРУЖНОМ КОЛЕНЧАТОМ ТЕЛЕ КОШКИ

Михалкин А.А.¹, Меркульева Н.С.^{1,2}

¹ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; ² Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: michalkin@mail.ru

У хищных в рамках теории параллельной обработки зрительной информации выделяют три основных проводящих канала – X, Y и W. К сегодняшнему дню накоплено достаточно сведений, чтобы предполагать наличие неоднородности в пределах этих каналов, которая, вероятно, обеспечивает обработку различных аспектов зрительного окружения. Наше предыдущее исследование наружного коленчатого тела (НКТ) кошки с применением антител SMI-32, специфично выделяющих популяцию клеток Y-системы, показало, что в пределах этого зрительного ядра существуют различные паттерны распределения иммунопозитивных нейронов в слоях A/A1 и слое См. Также был обнаружен особый характер распределения клеток с сомой, ориентированной перпендикулярно слоям НКТ, по сравнению с клетками с иной ориентацией сомы. Так как известно, что клетки Y-системы продолжают активно развиваться в ранний постнатальный период, формируя свои функциональные качества на основе поступающей зрительной информации, было предположено, что выявленные особенности могут иметь гетерохронный характер становления. Целью данного эксперимента стало рассмотрение возрастной динамики развития SMI-32-иммунопозитивных клеток. В эксперименте использовали животных на сроках 4, 10, 14, 28, 60 и 110 дня постнатального развития. Оценивали зависимость числа Y-нейронов от их положения вдоль дорзовентральной (верх, середина, низ слоёв А, А1, См) и медиолатеральной (совпадает с проекцией горизонтали поля зрения) осей НКТ. В соответствии с ретинотопическим представительство, медиолатеральную протяжённость НКТ поделили на: бинокулярный центр (БЦ, 0-5° поля зрения), бинокулярную периферию (БП, 5-40°) и монокулярную периферию поля зрения (МП, 40-90°). Также иммунопозитивные нейроны были поделены на четыре группы в зависимости от

ориентации их сомы: перпендикулярной границе слоёв НКТ (вертикальные клетки), параллельной границе слоёв (горизонтальные), занимающей промежуточное положение (наклонные) и клетки с невыраженной ориентацией сомы (круглые). В ходе развития НКТ зафиксировали рост числа клеток в слое А, увеличение количества вертикальных клеток в слоях А и А1, которые не имели достоверных отличий от клеток с иной ориентацией сомы в 4 и 10 дней ($p > 0,05$) и значительно преобладали, начиная с 14 дня жизни, составляя 40-60% всей популяции иммунопозитивных клеток. При анализе возрастной динамики в частях слоёв А и А1 у 4-дневных котят обнаружен дорзовентральный градиент числа SMI-32-нейронов: минимальное количество клеток – в верхней части слоя А, максимальное – в слое См. У животных остальных групп показали постепенное исчезновение дорзовентрального градиента с одновременным приращением числа SMI-32-нейронов на границах слоёв А/А1 и А1/См. При рассмотрении ориентации клеток обнаружено, что разница между центром и границами слоёв А/А1 формируется за счёт круглых, наклонных и горизонтальных клеток, тогда как вертикальные клетки располагаются в обоих слоях равномерно. В медиолатеральном направлении зафиксировали снижение отношения между числом клеток в БЦ и БП слоёв А и А1 с возрастом (от 1,4 до 1,0). Во всех возрастных группах вертикальных клеток больше в БП по отношению к БЦ, а у клеток других групп ориентации сомы проявлена обратная тенденция. В итоге выявлен сложный характер изменений распределения SMI-32-нейронов в НКТ с возрастом, что, вероятно, отражает реорганизацию Y-системы во время постнатального периода.

Исследования проведены с использованием оборудования Ресурсного Центра Развития молекулярных и клеточных технологий СПбГУ.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОПЕПТИД Y-ЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Моисеев К.Ю.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail mpm@yma.ac.ru

Нейропептид Y (НПУ) и его рецепторы играют исключительно разнообразную роль в нервной системе, включая регуляцию насыщения, эмоционального состояния, артериального давления, гастроинтестинальной секреции. НПУ весьма распространен в автономной нервной системе и в большом количестве обнаруживается в волокнах, иннервирующих сердце, коронарные и мозговые артерии, аорту, сосуды кожи и скелетных мышц у крысы, кошки, морской свинки, человека. Примерно две трети нейронов симпатических узлов у млекопитающих помимо норадреналина содержит этот пептид. В интрамуральных ганглиях сердца в подавляющем большинстве нейронов (свыше 80%) выявляется НПУ, причем 100% НПУ-позитивных нейронов

одновременно содержит ацетилхолин. В настоящий момент идентифицировано шесть типов рецепторов к НПУ (Y1-Y6). Наиболее распространенными в сердце являются Y₁, Y₂ и Y₅ рецепторы..

Целью настоящей работы явилось определение НПУ-позитивных волокон и нейронов интрамуральных узлов, иннервирующих сердце, а также выявление рецепторов к НПУ типов Y1, Y2 и Y5 при помощи иммуногистохимических методов и вестерн-блоттинга.

Исследование проведено на 35 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30, 60 суток с соблюдением национальных и международных этических норм обращения с лабораторными животными. Исследованию подвергали правое и левое предсердия и желудочки. Выявление структур, содержащих НПУ, Y1, Y2 и Y5 рецепторы к НПУ, проводили при помощи иммуногистохимических методов с использованием меченых антител с последующей флуоресцентной микроскопией по методике ранее описанной нами. Также экспрессия вышеназванных соединений выявлялась при помощи вестерн-блоттинга с использованием системы геле-документации и рассчитывалась по отношению к экспрессии GAPDH. Статистический анализ включал определение средней арифметической, ее стандартной ошибки, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты показали, что НПУ-содержащие волокна и нейроны обнаруживались в миокарде уже с момента рождения и на протяжении остальных изучаемых возрастных периодов. У новорожденных животных плотность НПУ-иммунореактивных волокон была наименьшей ($78 \pm 12,4$ на мм^2) и достоверно возрастала с момента рождения в течение первых 20 суток жизни до $526 \pm 46,2$ на мм^2 ($p < 0,05$), далее существенно не изменяясь, в том числе и у старых двухлетних крыс ($487 \pm 53,6$ на мм^2 , $p > 0,05$).

Экспрессия рецепторов Y5 являлась наиболее выраженной у новорожденных ($0,60 \pm 0,08$ по отношению экспрессии GAPDH) и значительно снижалась первые 10 суток до $0,36 \pm 0,07$), далее не изменяясь. В противоположность, плотность Y1 и Y2 рецепторов увеличивалась в онтогенезе. При этом Y1 рецепторы определялись в небольшом количестве у новорожденных крыс ($0,46 \pm 0,07$) и их количество достоверно возрастало в первые 20 суток жизни до $0,94 \pm 0,05$ ($p < 0,05$), Y2 рецепторы выявлялись лишь с 20 суток жизни ($0,24 \pm 0,04$), не меняя в последующем степень экспрессии ($p > 0,05$). По данным вестерн-блоттинга, экспрессия Y2 рецепторов была значительно меньше в сравнении с Y1 рецепторами у всех крыс ($p < 0,05$).

Таким образом, у крыс НПУ-ергическая иннервация сердца присутствует с момента рождения. В раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение

плотности НПУ-позитивных волокон, а также Y1 и Y2 рецепторов, в то же время доля Y5 рецепторов снижается. Вероятно, указанные изменения связаны с трофическим действием НПУ.

Работа поддержана РФФИ, грант 13-04-00059-а.

NO-ЕРГИЧЕСКИЕ СИМПАТИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Моисеев К.Ю., Каткова Е.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: mpm@yuma.ac.ru

NO является одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нервной, иммунной и эндокринной системе. В отличие от симпатических узлов, подавляющее большинство симпатических преганглионарных нейронов млекопитающих содержит NO-синтазу (NOS), которая при этом солокализована с ферментом синтеза ацетилхолина - холинацетилтрансферазой (ХАТ).

Целью исследования явилось выявление симпатических нейронов, иммунореактивных к NOS и ХАТ у крыс разного возраста при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечения антителами. Исследованию подвергались симпатические узлы и Th2 сегмент спинного мозга крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

Результаты показали, что во всех возрастных группах NOS-позитивные нейроны отсутствуют в симпатических узлах. В спинном мозге в боковых рогах NOS выявлялась в 1) nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars principalis (nucl.IIp), 2) nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars funicularis (nucl.IIf); 3) nucleus intercalatus spinalis (nucl.IC); 4) nucleus intercalatus spinalis pars paraependymalis (nucl.ICpe); 5) nucleus intermediomedialis (nucl.IMm) с момента рождения у всех животных. Тем не менее, у новорожденных животных все нейроны в основном ядре nucl.IIp являлись NOS-позитивными, небольшая часть нейронов при этом являлась ХАТ-негативными. В течение первого месяца жизни доля NOS-иммунопозитивных нейронов существенно уменьшается, а ХАТ-положительных, наоборот, увеличивается. У одномесечных крысят 30-35% преганглионарных симпатических спинномозговых нейронов являются NOS-иммунонегативными. Эта доля остается в последствии почти неизменной, незначительно уменьшаясь у старых животных до 20-25%.

Таким образом в раннем постнатальном онтогенезе наблюдается возрастное изменение NO-ергической симпатической передачи, проявляющееся в снижении числа симпатических преганглионарных нейронов, экспрессирующих NOS.

Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00538.

ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММА И КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ

Мышкин И.Ю.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия.

E-mail: myshkin-iwan@yandex.ru

В качестве рабочей гипотезы мы приняли положение о том, что разнообразие, «сложность» периодических электрических процессов мозга отражает не его только функциональное состояние, но и определяет продуктивность и успешность когнитивной деятельности. Мерой сложности исследуемого процесса, в частности ЭЭГ, может быть ее корреляционная размерность. Метод корреляционной размерности позволяет получить количественную оценку разнообразия процесса и по величине корреляционной размерности можно судить о разнообразии, «сложности» периодических режимов мозга. Наиболее уникальной функцией мозга является память. Память это системное свойство и по логике может быть связано с другим и системным свойством – разнообразием, «сложностью» биоэлектрических процессов мозга.

Наблюдения были проведены на молодых людях в возрасте 18-26 лет обоего пола. У испытуемых в состоянии бодрствования регистрировали ЭЭГ в 16 отведениях монополярно в обоих полушариях по системе 10-20. В экспериментах участвовало 85 человек. Расчет величин корреляционной размерности ЭЭГ вели по оригинальным программам, для четырех частотных диапазонов: дельта, тета, альфа и бета ритмов. В среднем величины корреляционной размерности для всей выборки составили от 2,41 для дельта-ритма до 5,71 для бета-ритма, что согласуется с данными других исследователей. Отметим, что не существует универсальной межиндивидуальной пространственной карты корреляционной размерности, соответствующей состоянию спокойного бодрствования, однако, для каждого отдельного испытуемого такая карта является относительно устойчивой характеристикой этого состояния. Исследования показали, что между величиной корреляционной размерности ЭЭГ и объемом кратковременной памяти существует зависимость. Индивиды, имеющие более высокие величины корреляционной размерности ЭЭГ, демонстрировали более высокий объем кратковременной памяти. Коэффициент линейной корреляции при ($p > 0,05$) и находился в пределах от +0,3 до +0,4 для разных отведений.

В другой серии экспериментов была проанализирована связь показателя корреляционной размерности ЭЭГ и уровня интеллекта – IQ, который измеряли с

помощью компьютерного варианта теста Домино (D-48). Результаты обработки теста показали, что в экспериментальной группе испытуемых количественные показатели IQ, составили от 87 до 118 баллов; среднее значение IQ - 102 ± 9 баллов. Таким образом, выборка в основном была представлена лицами со средней величиной коэффициента IQ. Была обнаружена нелинейная положительная связь уровня интеллекта, определяемого по коэффициенту IQ и индивидуальными величинами уровня корреляционной размерности ЭЭГ. Значимая величина коэффициентов корреляции была не высокой и для различных отведений составила от $r +0,26$ до $+0,37$. Это вполне объяснимо. Г. Айзенк, рассматривая понятие интеллекта, выделяет его наиболее фундаментальную часть - биологический интеллект. Материальную базу биологического интеллекта составляют индивидуальные физиологические, нейрональные, биохимические процессы, являющиеся основой осмысленного поведения. Структурную основу этих процессов составляет кора и обслуживающие ее мозговые образования. В природе этих компонентов важную роль играет генетический фактор. По данным литературы, тест Домино практически высоко насыщен фактором G и считается одним из наиболее «чистых» по отношению к измерению этого фактора. Результаты факторного анализа указывают на то, что показатели D-48 преимущественно связаны с текучими способностями. Знания и опыт, приобретенные индивидом, или способности кристаллизованные, влияют на результаты в меньшей степени. Однако каждый человек в повседневной жизни действует по-своему, и его интеллект при этом проявляется в перцептивных, мнемических, языковых, счетных и иных способностях.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К КОМПЛЕКСНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ ЭПЕНДИМОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Павлов А.В., Фоканова О.А., Шашкина М.В., Кемоклидзе К.Г.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия. E-mail:
oafokanova-76@mail.ru

Предложен комплексный алгоритм функционального и морфологического изучения цилиарного аппарата эпендимокитов желудочков головного мозга крыс, включающий: а) прижизненный анализ параметров мерцательной активности (частота и фазовый анализ биения ресничек), б) определение скорости движения жидкости в пристеночной зоне, в) взятие материала для гистологического исследования (световая микроскопия) и сканирующей электронной микроскопии, г) визуальный и морфометрический анализ гистологических препаратов и электронограмм.

Функциональные методики (а,б) включают изучение *ex vivo* нефиксированных срезов головного мозга толщиной 100-300 мкм (вибратором PELCO easiSlicer™, США) с помощью диагностического комплекса «Азимут» (Россия), состоящего из микроскопа, высокоскоростной цифровой видеокамеры, системы термостатирования (биоптаты, инструментарий, предметные и покровные стекла, питательная среда) и персонального компьютера. После видеозахвата изображений происходит сохранение оцифрованных видеофайлов с их последующим математическим анализом (специализированные программы MOSFRO v.3.0, Image J). Данный алгоритм позволяет за короткий период времени (15-20 мин. в расчете на одно животное) зарегистрировать и задокументировать процессы и провести взятие материала для морфологического анализа участка мозга. Изучение поверхностной структуры выстилки желудочков производится на сканирующем электронном микроскопе Quanta 3D 200i (Нидерланды) в режиме низкого вакуума. Морфометрический анализ гистологических препаратов включает определение длины ресничек, размеров тела эпендимоцитов, частоты мерцательных и немерцательных клеток.

Предложенный подход позволяет получить интегральную информацию о структуре и функции эпендимоцитов головного мозга в норме (постнатальный онтогенез) и в эксперименте (влияние экзогенных и эндогенных факторов).

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНОВ ЯДРА КЛАРКА СПИННОГО МОЗГА КОШКИ.

¹ Павлова Н.В., ¹ Баженова Е.Ю., ^{1,2} Меркульева Н.С., ¹ Вещицкий А.А., ¹ Шкорбатова П.Ю,
^{1,2} Мусиенко П.Е.

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

²Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: dakmin7@gmail.com

Интенсивная экспрессия белка NeuN показана в ядре и цитоплазме большинства интактных нейронов млекопитающих. Кроме того, что этот белок широко используется как универсальный нейрон-специфический маркер, уменьшение его экспрессии также может быть связано с изменением функционального состояния нейронов и с их повреждением вследствие травмы, ишемии и дегенерации. При этом известно, что некоторые типы нейронов в неокортексе, мозжечке и гамма-мотонейроны спинного мозга в норме не содержат белка NeuN (Коржевский 2010). В связи с этим представляет интерес изучение способности экспрессии NeuN в нейронах ядер Кларка, аксоны которых формируют дорзальный спинальный тракт.

Мы исследовали распределение белка NeuN в нейронах серого вещества пояснично-крестцового отдела спинного мозга кошки (n=4), который выявляли

иммуногистохимически на парафиновых срезах—после перфузионной фиксации. По характеру NeuN-иммуномечения, в спинном мозге выявлено несколько типов нейронов: 1) темные нейроны, ядро которых окрашено в равной степени, что и цитоплазма (чаще это мелкие клетки дорзального рога) или клетки с более интенсивно окрашенным ядром (мотонейроны); 2) светлые нейроны, полностью негативные или слабopозитивные (нейроны ядра Кларка) и 3) нейроны с неокрашенным ядром и позитивной цитоплазмой (встречаются в VII пластинке). Крупные нейроны ядра Кларка имеют негативную, реже слабopозитивную реакцию. При этом мелкие нейроны, расположенные в этом же ядре и вокруг него, обычно интенсивно окрашены. Для дополнительного контроля чувствительности реакции мы также провели иммуногистохимическую реакцию на замороженных срезах и получили позитивный результат исключительно в ядрах нейронов ядра Кларка; при этом, в отличие от других нейронов на том же срезе, цитоплазма этих нейронов никогда не окрашивалась. Таким образом, нейроны ядер Кларка, как и некоторые другие нейроны в нервной системе, принятые за исключения, имеют необычный вариант иммунопозитивной реакции на нейрональный белок NeuN, при котором продукт реакции может отсутствовать или быть в наличии, но в малом количестве. Эти данные могут представлять интерес для экспериментов на моделях животных с патологией спинного мозга, при выявлении поврежденных нейронов, утративших реакцию к этому белку, или нейронов, иммунонегативных к NeuN.

Работа поддержана грантом РФФ №14-15-00788 и грантом и РФФИ №16-04-01791-а.

ЦИТОКИНЫ В НЕЙРОИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССА

Перцов С.С.

Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина,
Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.

Евдокимова, Москва, Россия. E-mail: s.pertsov@mail.ru

Цитокины – полипептидные медиаторы межклеточного взаимодействия, участвующие в регуляции нормальных физиологических функций, а также в формировании защитных реакций организма. Целью наших исследований явилось изучение роли цитокинов, как факторов нейроиммунной регуляции, в реализации стрессорного ответа у особей с разной индивидуальной чувствительностью к экстремальным воздействиям.

Эксперименты выполнены на поведенчески активных и пассивных в открытом поле крысах, отличающихся соответственно высокой и низкой прогностической устойчивостью к развитию отрицательных последствий стрессорных воздействий. Методом мультиплексного иммунного анализа выявлено, что острая стрессорная нагрузка сопровождается снижением уровня цитокинов в крови активных крыс. В

отличие от этих животных, у пассивных особей после стрессорного воздействия наблюдалось накопление провоспалительного цитокина интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и противовоспалительного ИЛ-4 в периферической крови.

В ходе изучения болевой чувствительности при направленном изменении иммунного статуса крыс путем введения липополисахарида показано, что данное воздействие приводит к уменьшению концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в крови. Стадия появления корреляционных связей между иммунными и ноцицептивными показателями совпадала с периодом развития изменений перцептуального и эмоционального компонентов ноцицепции. Антигенная стимуляция сопровождалась специфическими изменениями содержания цитокинов в дорсальном гиппокампе и передней поясной коре мозга. Изменения цитокинового профиля крови и структур мозга в этих условиях дополняют представления о реципрокных отношениях между иммунными процессами в периферических тканях и ЦНС.

При изучении центральных механизмов, лежащих в основе вовлечения цитокинов в нейроиммунную регуляцию физиологических функций, установлено, что чувствительность нейронов головного мозга к микроионофоретическому подведению ИЛ-1 β различна у крыс с разными поведенческими параметрами. Формирование отрицательного эмоционального состояния приводило к повышению чувствительности нейронов к ИЛ-1 β , что проявлялось в увеличении числа активационных реакций клеток на подведение цитокина. Установлено модулирующее влияние одного из нейротрансмиттеров и медиаторов стрессорного ответа – норадреналина – на изменения импульсной активности нейронов в ответ на действие ИЛ-1 β .

Методами микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии продемонстрированы особенности действия ИЛ-1 β на содержание норадреналина в ткани головного мозга крыс. Установлено, что наблюдающееся после стресса увеличение концентрации норадреналина у активных животных не происходит на фоне введения данного цитокина. Нормализующее действие ИЛ-1 β на уровень норадреналина в гиппокампе в постстрессорный период может иметь значение для предотвращения патологических последствий, многие из которых формируются после окончания стресса.

Выявлено, что предварительное введение ИЛ-1 β предупреждает постстрессорную активацию перекисного окисления липидов в сенсомоторной коре и миндалине мозга у предрасположенных к стрессу особей. Показано, что ИЛ-1 β вызывает специфические изменения активности антиоксидантных ферментов – СОД, ГПР и ГРЕ – в структурах головного мозга крыс при отрицательных эмоциогенных воздействиях.

Таким образом, цитокины, как факторы реализации нейроиммунных взаимодействий, играют важную роль в формировании системного ответа при

отрицательных эмоциогенных воздействиях. Участие цитокинов в стрессорных реакциях связано с модуляцией нейрохимических, нейрофизиологических и молекулярных процессов в эмоциогенных структурах мозга. Особенности вовлечения цитокинов в нейроиммунную регуляцию функций различны у особей с разной устойчивостью к однотипным стрессорным нагрузкам.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОТНОСТИ ГАМК-ЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В ЭКТОПИЧЕСКИХ ТРАНСПЛАНТАТАХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО НЕОКОРТЕКСА КРЫСЫ И В НЕОКОРТЕКСЕ КРЫС СООТВЕТСТВУЮЩЕГО СРОКА РАЗВИТИЯ

Петрова Е.С.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: iemmorphol@yandex.ru

Нейротрансплантация эмбриональных закладок центральной нервной системы млекопитающих служит удобной моделью для изучения гистогенетических процессов в эмбриональном мозге, развивающемся в условиях измененного микроокружения. Эта модель позволяет изучать гистобластические потенциалы пересаженных клеток, процессы их адаптации и возможные компенсаторные реакции. Ранее показано, что фрагменты переднего мозгового пузыря эмбрионов крыс 14-15 суток развития, содержащие закладку неокортекса и состоящие, главным образом, из нейтральных стволовых/прогениторных клеток, выживают после пересадки в поврежденный нерв, а пересаженные клетки-предшественники дифференцируются в нейроны и глиоциты. Вопрос о медиаторной принадлежности формирующихся в таких трансплантатах нейронов изучен недостаточно.

Цель настоящей работы состояла в сравнительном исследовании ГАМК-ергических нейронов, дифференцирующихся в условиях пересадки эмбрионального неокортекса в нерв и развивающихся *in situ*.

Работа выполнена на крысах Вистар (n=16). У эмбрионов 14-15 суток развития выделяли фрагменты дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря (ПМП) и трансплантировали субпериневрально в предварительно поврежденный седалищный нерв взрослых животных. Через 4 недели после операции выделяли сегменты нервов с трансплантатами и фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде. Для изучения ГАМК-ергических нервных клеток трансплантатов использовали поликлональные кроличьи антитела к одной из изоформ фермента синтеза ГАМК - глутаматдекарбоксилазе с молекулярным весом 67kDa (GAD67). Иммуногистохимические реакции осуществляли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм.

Структурные особенности и плотность выявленных нейронов в трансплантатах сравнивали с плотностью таких же клеток в соматосенсорной и

моторной областях коры головного мозга крыс в возрасте 20 суток (P20). Показано, что в неокортексе крысы P20 GAD67-иммунопозитивные (GAD67⁺) клетки разной формы располагаются во всех слоях. У многих из них выявляются отростки. Число GAD67-содержащих нейронов в тканевых нейротрансплантатах эмбриональных закладок через 4 недели после операции невелико. Они представлены, главным образом, округлыми клетками с узким ободком цитоплазмы, изредка у них удается выявить отдельные отростки. Подсчет числа GAD67⁺ клеток на единицу площади показал, что в условиях трансплантации формируется в три раза меньше ГАМК-ергических нейронов, чем в неокортексе крыс соответствующего срока развития. Причиной этого является особенность происхождения GAD67⁺ в эмбриогенезе. Известно, что большинство ГАМК-ергических тормозных нейронов коры закладывается в вентральной части ПМП и мигрируют в дорсолатеральную область в течение определенного времени. При выделении фрагментов эмбриональных закладок, предназначенных для пересадки, на 14-15 сутки эмбрионального развития, большая часть клеток-предшественников ГАМК-ергических нейронов в трансплантаты не попадает. По-видимому, остальные пересаженные в нерв клетки-предшественники на этом сроке являются коммитированными и не дифференцируются в направлении ГАМК-ергических нейронов.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ АСТРОЦИТОВ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЫ И РОСТРАЛЬНОГО ПОТОКА У БЕЛОЙ КРЫСЫ

Пожилов Д.А., Варенцов В.Е., Румянцева Т.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: rum-yar@mail.ru

Нейрогенез в обонятельной луковице продолжается на протяжении всей жизни, что делает обонятельную луковицу подходящим объектом для изучения компенсаторно-приспособительных реакций нейронов и глии. В обонятельной луковице оканчивается ростральный поток, берущий начало в субвентрикулярной зоне, по этому потоку происходит миграция незрелых нейроцитов, в ходе которой более 70% из них гибнет. В этой связи актуальным является установление нормативных характеристик для разного возраста.

Цель: изучить динамику изменений морфометрических характеристик астроцитов в слоях обонятельной луковицы и в ростральном потоке у крыс разных возрастов.

Работа выполнена на шести крысах линии Wistar, 30 и 180 суточного возраста. На парафиновых срезах толщиной 7 мкм проводилась иммуногистохимическая реакция с антителами к GFAP (Abcam UK, ab16997), с докраской гематоксилином Майера, оценивались плотность распределения на мм² и площадь тел астроцитов

(мкм²), количество и площадь распределения их отростков. Данные обрабатывались методами вариационной статистики.

В предыдущих исследованиях нами установлено, что целом в течение первого полугодия жизни крысы толщина обонятельной луковицы увеличивается на 12%, что происходит в основном за счет гломерулярного и наружного плексиформного слоев. Толщина гломерулярного слоя увеличивается в 2,5 раза, наружного плексиформного – в 2,8 раза, митрального и гранулярного достоверно не изменяется. Митральный слой приобретает чёткое строение, внутренний плексиформный истончается и его определение становится практически невозможным.

Выявлено, что плотность астроцитов максимальна в гломерулярном и митральном слоях, к 6 месяцам отмечается значительное её повышение в гломерулярном слое (на 76%, с $627,5 \pm 21,04$ до $1103,8 \pm 71$), в митральном (на 47% с $751,7 \pm 22,88$ до $1110,4 \pm 56,55$), и незначительное уменьшение в гранулярном. Площадь тел астроцитов остаётся практически постоянной, а площадь распределения отростков увеличивается на 50% в гломерулярном, на 17% в наружном плексиформном, на 14% в митральном, и уменьшается на 49% в гранулярном.

Плотность астроцитов в ростральном потоке снижается на 23%, с $1050,2 \pm 79,42$ до $803,9 \pm 51,66$, в то же время, площадь распределения отростков возрастает на 73%.

Среднее количество отростков астроцитов во всех слоях и в потоке колеблется от 3 до 4, не зависимо от возраста.

Таким образом, изменения морфометрических характеристик астроцитов свидетельствуют о том, что уже в инфантильном возрасте у крысы происходит стабилизация количества отростков и размеров тел астроцитов. В тоже время в зрелом возрасте в большинстве слоев возрастает плотность астроцитов и увеличивается площадь распространения их отростков. Степень выраженности изменений имеет особенности для каждого из изученных слоев луковицы. В ростральном потоке наблюдается снижение плотности астроцитов и значительное увеличение площади распределения их отростков.

ГИПОТАЛАМО-ПОСТГИПОФИЗАРНАЯ НЕЙРОСЕКРЕТОРНАЯ СИСТЕМА КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ И ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Полякова-Семенова Н.Д., Вашанов Г.А., Семенова О.С., Гуляева С.И.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия.

E-mail: ndpolsem@mail.ru

Известно, что основными мишенями стрессорных воздействий являются регулирующие системы организма. С этих позиций актуальным представляется фундаментальное исследование гипоталамуса как одной из ключевых структур в обеспечении стресс-реактивности. Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей морфофункционального состояния гипоталамо-постгипофизарной

нейросекреторной системы (ГПГНС) крыс в условиях алкогольной интоксикации и иммобилизации. В проведении экспериментальных работ были использованы 59 беспородных белых крыс-самцов средней массой тела 210 – 250 г. Объектами исследования являлись передний гипоталамус и нейрогипофиз. Животные были распределены на 5 групп: 1 группу составили контрольные крысы; животных 2 группы подвергали принудительной алкогольной интоксикации 15% раствором этанола в течение 30 суток. Крысы всех групп, включая контрольную, перед началом экстремального воздействия на 24 часа подвергались пищевой депривации без лишения доступа к воде. Животных 3, 4 и 5 групп иммобилизовали в течение 1, 6 и 18 часов, соответственно. В каждой группе часть животных подвергали гипокинезии в пенале цилиндрической формы, ограничивающем движения; другую часть животных фиксировали на специальных досках за конечности в положении на спине. Таким образом, в эксперименте были использованы разные модели токсического и эмоционально-болевого стресса различной продолжительности воздействия. Для выявления нейросекреторного материала срезы окрашивали паральдегид-фуксином по Гомори-Габу с докрасиванием гематоксилином Караци. Для оценки нейросекреторной активности супраоптического и паравентрикулярного ядер (СОЯ и ПВЯ) определяли процентное соотношение нейросекреторных клеток (НСК) трех основных типов, отражающих фазность секреторного цикла. С использованием компьютерного анализатора изображения на базе оптического микроскопа Axio Scope. A1 (Carl Zeiss Micro) и программы ImageJ определяли объемы ядер и ядрышек. Анализ результатов исследования показал, что пролонгированная алкогольная интоксикация вызывала выраженные патоморфологические изменения структуры НСК СОЯ и ПВЯ, нарушение нормальной цикличности секреции и торможение выведения нейрогормонов (НГ) в порталный кровоток. Состояние ГПГНС крыс после иммобилизации в течение одного часа характеризовалось преобладанием в СОЯ и ПВЯ функционально активных НСК, увеличением средних значений объемов ядер и ядрышек (в НСК СОЯ – $896,5 \pm 8,2 \text{ мкм}^3$ и $23,2 \pm 0,3 \text{ мкм}^3$, в НСК ПВЯ – $791,4 \pm 8,3 \text{ мкм}^3$ и $17,4 \pm 0,4 \text{ мкм}^3$; контроль: в НСК СОЯ – $820,5 \pm 7,1 \text{ мкм}^3$ и $17,3 \pm 0,2 \text{ мкм}^3$; в НСК ПВЯ – $769,1 \pm 7,4 \text{ мкм}^3$ и $14,9 \pm 0,2 \text{ мкм}^3$), активацией процессов синтеза и выведения нейросекрета по отросткам гипоталамо-гипофизарного нейросекреторного тракта и локальным снижением его содержания в нейрогипофизе, причем у животных, иммобилизованных фиксацией на спине, на фоне повышения активности процессов синтеза в нонапептидергических центрах отмечалось торможение выведения НГ по аксонам. При 6- и 18-часовой гипокинезии крыс фиксацией за конечности в положении на спине по сравнению с иммобилизацией в пенале отмечались более выраженные деструктивные изменения в отдельных звеньях ГПГНС, уменьшение объемов ядер и ядрышек до $630,1 \pm 9,1 \text{ мкм}^3$ и $11,5 \pm 0,3 \text{ мкм}^3$ в СОЯ и до $594,6 \pm 8,8 \text{ мкм}^3$ и $9,5 \pm 0,3 \text{ мкм}^3$ в ПВЯ, характеризующее снижение активности синтеза, торможение выведения нейросекрета из перикарионов НСК в аксоны и из терминалей аксонов в кровоток. Таким образом, выраженность изменений зависела как от используемой экспериментальной модели токсического и эмоционально-болевого стресса, так и от продолжительности стрессорного воздействия.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИАФОРАЗНОЙ И NO-ЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СПИННОГО МОЗГА МЫШЕЙ ПОСЛЕ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА БИОСПУТНИКЕ БИОН-М1

Порсева В.В., Шилкин В.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: vvporseva@mail.ru

Цель исследования состояла в сравнительном анализе NO-ергических нейронов и нейронов с диафоразной активностью в грудном отделе спинного мозга мышей, находившихся в 30-суточном космическом полете на биоспутнике Бион-М1. Взятие материала осуществлялось через 12 часов с момента посадки спутника, в течение которых животные находились в условиях силы тяжести Земли. Эксперименты выполнялись в соответствии с решением Комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ-ИМБП РАН (протокол № 319 от 4.04.2013 г.), одобряющее проведение исследования по проекту «БИОН-М» № 1. Для исследования были использованы самцы мышей C57/BL6 полетной группы (n=3) и группы контроля (n=3), которые находились в наземных условиях вивария в течение всего полета спутника с мышами полетной группы.

Исследование группы контроля позволило выявить гетерогенность распределения NOS и НАДФН-диафоразы в нейронах серого вещества СМ, где активность ферментов приурочена исключительно к телам интернейронов и их отросткам. Диафораза- и NOS-позитивные интернейроны обнаруживались в дорсальном роге – пластинки I, II, III, IV и в области медиального края (МК), в промежуточной области – пластинка VII и в парацентральной области – вокруг центрального канала - пластинка X. Субпопуляции позитивных нейронов представлены довольно разнородными группами клеток и в определяемых областях СМ они различались по форме, размерам, ветвлениям отростков. В пластинках I и II сгруппированы округлые мелкие клетки, в пластинках III и IV - средние треугольные и веретенновидные клетки, в области МК – мелкие веретенновидные клетки, в пластинке VII - средние веретенновидные и треугольные клетки, в пластинке X – средние звездчатые и треугольные клетки. Солокализация изучаемых ферментов в одном нейроне не анализировалась, т.к. исследование предполагало выявление ферментов на разных срезах.

В полетной группе диафоразо-позитивных интернейронов в сером веществе СМ выявлено не было. Напротив, NOS-содержащие интернейроны обнаруживались во всех пластинках серого вещества СМ. В области пластинки IX позитивные нейроны имели максимальные размеры, полигональную форму и являлись мотонейронами, в других пластинках клеточная форма оставалась прежней, а размеры и число позитивных клеток значительно превышали контрольные показатели в 1,5- 2 раза.

Методика выявления НАДФ-диафоразы с помощью НАДФ-Н в качестве субстрата предлагалась для исследования состояния митохондрий: большее количество формазана откладывалось при нарушении проницаемости и повреждении митохондрий (Э.Пирс, 1962). По-видимому в проведенном исследовании отсутствие выявляемости диафоразы в интернейронах подразумевает отсутствие/низкий уровень субстрата окисления. При этом повышение выявляемости NOS-содержащих интернейронов, возможно, свидетельствует об окислении НАДФ-Н не только диафоразами, но и другими акцепторами электронов, среди которых - оксид азота. Особого внимания заслуживает выявление NOS в мотонейронах СМ у мышей «полетной» группы: при изучении мотонейронов СМ у крыс после космического полета обнаружено снижение активности сукцинатдегидрогеназы (И.В.Поляков и соавт., 1995; A.Ishihara et al., 2013), что связано с нарушением функции митохондрий, механизмы которой иллюстрируют выявленные в проведенных исследованиях изменения НАДФН-диафоразы и NOS. Если сопоставить исследования первичных афферентов (А.В.Горбунова, В.В.Португалов, 1997), проведенное изучение интернейронов, исследование мотонейронов, то можно говорить о нарушении после космического полета во всех звеньях спинномозговой рефлекторной дуги.

ПАТТЕРНЫ СВЕРХМЕДЛЕННЫХ КОЛЕБАНИЙ ПОТЕНЦИАЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРЕДЪЯВЛЕНИИ СЛУХОВЫХ И ЗРИТЕЛЬНЫХ СТИМУЛОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ ВАЛЕНТНОСТЬЮ

Пугачев К.С., Зеленцов Е.А., Зюзин Е.В., Малеванный А.О., Красотин Я.Н., Кребс А.А., Филиппов И.В.

Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль.

E-mail: kspugachev@mail.ru

Предыдущие исследования, проведенные в нашей лаборатории, впервые позволили установить вовлеченность перестроек динамики сверхмедленных колебаний потенциалов (СМКП) в нейрофизиологические процессы переработки сенсорной информации (как у животных, так и у человека) в сенсорных областях коры больших полушарий при действии простых зрительных и слуховых стимулов. Вместе с тем, до настоящего времени отсутствовал ответ на вопрос о том, принимают ли участие перестройки сверхмедленной активности мозга с частотами менее 0,5 Гц в анализе сенсорных стимулов с различной эмоциональной валентностью. Отсутствие указанных данных, полученных как в экспериментах на животных, так и в исследованиях у человека, стало одной из объективных предпосылок для проведения данной работы.

Цель работы – выявить и проанализировать перестройки спектральных свойств паттернов СМКП у здоровых добровольцев-испытуемых при предъявлении им зрительных и слуховых стимулов с различной эмоциональной значимостью, а также в условиях отсутствия сенсорной стимуляции.

В исследовании, проведенном в строгом соответствии с принципами Хельсинской декларации, приняли участие 20 добровольцев (10 мужчин и 10 женщин), n=60 повторных наблюдений. Монопольная регистрация СМКП у испытуемых производилась над областями проекций зрительной коры (отведение О1

и О2) и слуховой коры (отведение Т3 и Т4) правого и левого полушарий мозга в ответ на последовательное предъявление зрительных и слуховых стимулов с различной эмоциональной валентностью (нейтральные, положительные и отрицательные) из международных баз данных аффективных изображений и звуков: IAPS и IADS, центра изучения эмоций и внимания (CSEA) Университета Флориды, США. Параллельно с регистрацией СМКП у испытуемых записывали ЭКГ в первом стандартном отведении и электро-дермальную активность по Тарханову с правой и левой рук. Для нормированного предъявления указанных стимулов использовалось психофизиологическое программное обеспечение (SuperLab 5, Cedrus, США), синхронизованное с системой сбора данных, в качестве которой использовалась нейрофизиологическая компьютерная электрофизиологическая станция (AlphaOmega AlphaLab SnR, Израиль). Полученные файлы при помощи программного обеспечения (CED Spike2 8.07, Великобритания и DataWave SciWorks Experimenter Analysis 8.3, США) подвергались цифровой фильтрации, математической обработке и дальнейшему анализу. При этом оценивались спектральные характеристики СМКП, а отличия с $p < 0,05$ по данным однофакторного дисперсионного анализа рассматривались как статистически значимые.

Выявлены статистически значимые отличия паттернов спектрограмм СМКП в отведениях О1, О2, а также Т3, Т4 при действии зрительных и слуховых стимулов с различной эмоциональной значимостью. Полученные данные обсуждаются в контексте выдвинутой нами ранее гипотезы об участии сверхмедленной управляющей системы мозга в процессах восприятия и анализа сенсорных сигналов не только различных модальностей, но и с отличной эмоциональной значимостью, что позволяет использовать регистрацию динамики СМКП как инструмент для исследования и оценки специфических и неспецифических нейрофизиологических процессов переработки афферентной информации в ЦНС.

Данное исследование проведено при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты № 14-04-00028, № 16-36-00038 и № 16-34-50072).

МОГУТ ЛИ НАРУШЕНИЯ В ЦИКЛАХ ОКСИДА АЗОТА И СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА ВЛИЯТЬ НА НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И КАРДИОВАСКУЛЯРНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ЯВИТЬСЯ ПРИЧИНОЙ МНОГОЧИСЛЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВОЗДЕЙСТВУЮЩИХ НА СРЕДНЮЮ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА?

¹Реутов В.П., ²Сорокина Е.Г.

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии; ²Научный центр здоровья детей, Москва, Россия. E-mail: valentinreutov@mail.ru

Изучая механизмы токсического действия нитратов и нитритов на организм млекопитающих, мы обратили внимание на изменение средней продолжительности жизни в развитых странах в период с 1945 по 1975 гг. Оказалось, что к 1960 г. практически во всех развитых странах мира, средняя продолжительность жизни

неуклонно росла, за исключением СССР. Более того, Япония, пережившая в 1945 г. 2 атомных взрыва в Хиросиме и Нагасаки, стала после 1960 г. восстанавливаться и средняя продолжительность жизни в этой стране также начала увеличиваться. Возник вопрос: какие факторы в СССР могли бы так отрицательно действовать на изменение средней продолжительности жизни, которые по силе воздействия способны были превзойти (через 15 лет) последствия атомных взрывов в Японии? В период с 1930 по 1960 гг. производство азотных удобрений в СССР выросло в 1500 раз. Выросло также и количество азотных удобрений, вносимых в почву. Не могли ли азотные удобрения и экзогенные нитраты и нитриты оказать такое влияние на среднюю продолжительность жизни в СССР? Институтом высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР были предложены меры, снижающие активность нитритредуктазных систем и степень воздействия азотных удобрений на организм человека и животных, которые позволили повысить среднюю продолжительность жизни в СССР на 3-5 лет. В дальнейшем оказалось, что за 50-летний период (1960-2010 гг) этот эффект повышения средней продолжительности жизни в СССР, России и странах СНГ был единственным и действовал на протяжении 10 лет выполнения Программы снижения поступления нитратов и нитритов в организм человека (1980-1990 гг). Какие механизмы лежат в основе многочисленных заболеваний, способных влиять на среднюю продолжительность жизни человека? Согласно развиваемым представлениям в основе многочисленных заболеваний лежат нарушения в циклах оксида азота и супероксидного анион-радикала. Эти нарушения происходят на фоне ишемии/гипоксии, воспалительных процессов, когда наряду с кислородным дыханием начинает активироваться и эволюционно-древнее нитратно-нитритное дыхание. Нарушения в циклах оксида азота и супероксидного анион-радикала позволяют NO и O_2^- непосредственно взаимодействовать друг с другом, минуя ферментативные и неферментативные антиоксидантные системы, и образовывать диоксид азота (NO_2), пероксинитриты, которые после протонирования вновь распадаются с образованием весьма реакционно-способных NO_2 и OH-радикалов. На основании экспериментальных данных впервые сформулирована концепция цикла оксида азота, а затем и концепция цикла супероксидного анион-радикала в организме млекопитающих. Обоснован принцип цикличности, который может объяснить многочисленные циклические явления - периодические во времени процессы и спиралевидные в пространстве структуры - в биологии и медицине. Сформулирована и обоснована концепция, суть которой сводится к тому, что механизм антирадикальной защиты клеток и организма в целом, прежде всего, заложен в самой циклической организации тех метаболических процессов, которые сопряжены с образованием свободных радикалов.

ЭЭГ КОРРЕЛЯТЫ ОСВОЕНИЯ ИНОСТРАННЫМИ СТУДЕНТАМИ ЧТЕНИЯ НА РУССКОМ ЯЗЫКЕ

Роева М.В.

Северный (Арктический) федеральный университете имени М.В. Ломоносова,
Архангельск, Россия. E-mail:maryann19@yandex.ru

Трудности овладения русским языком иностранными студентами связывают с различными факторами, в том числе особенностями родной речи обучающихся, физиологическими механизмами функциональной системы речи. Чтение на иностранном языке играет ведущую роль в процессе обучения иностранного языка. Как известно, процесс чтения, представляет собой сложную аналитико-синтетическую деятельность, складывающуюся из восприятия, активной переработки информации, графически закодированной по системе того или иного языка. Поэтому, предполагается, что у иностранных студентов при освоении чтения на иностранном языке будет наблюдаться специфика функциональной организации мозговых структур взаимосвязанных для обеспечения данной когнитивной деятельности.

Исследовались показатели пространственной синхронизации биоэлектрической активности (БЭА) мозга иностранных студентов при чтении художественного текста на русском языке. Обследовано 18 студентов из Нигерии в возрасте от 19 до 22 лет, которые прошли подготовительный курс по изучению русского языка. Регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ) производилась от 12 электродов (система «10-20») монополярно с объединенным ушным электродом от симметричных отведений левого и правого полушарий. Математическую обработку данных, полученных с безартефактных участков ЭЭГ (длительностью 70 секунд) проводили с использованием непараметрического метода критерия Вилкоксона. Анализировались значения максимума оценки функции когерентности (КОГ) в частотных диапазонах тета-, альфа- и бета-колебаний (4-7 Гц, 8-13 Гц, 14-35 Гц, соответственно). Учитывались только статистически значимые изменения функции КОГ ($p \leq 0,05$).

Процесс чтения текста на русском языке относительно состояния спокойного бодрствования (открытые глаза) сопровождался повышением пространственной синхронизации БЭА преимущественно в зонах левого полушария: задневисочной с теменной, с лобной и с затылочной областями в полосе бета-частот и лобной с теменной и с центральной, затылочной с теменной и с передневисочной в тета-диапазоне. Выявленные функциональные взаимодействия этих областей коры мозга, вероятно, отражают обработку поступающей информации: от восприятия и узнавания слов до установления синтаксически-семантических связей. Наблюдалось увеличение показателей КОГ в полосе альфа-, бета-частот в затылочных и теменных межполушарных отведениях, участвующих в зрительно-пространственном гнозисе

читаемого текста и поддержании зрительного внимания. Обработка иноязычного текста у студентов также вызывала усиление синхронизации биопотенциалов лобных отделов левого полушария в бета- и тета- частотах с подключением диагональных дистантных отделов правого полушария: левой лобной с теменной и с затылочной областями правой гемисферы. Активация лобных структур слева необходима для регуляции целенаправленной деятельности и определении семантической составляющей читаемого, а вовлечение задних правых зон коры, вероятно, отражает синтаксическую обработку речевых стимулов, характеризующихся новизной и субъективной трудностью.

Таким образом, выявленная пространственная структура функциональных взаимодействий мозга при чтении на неродном языке у обследованных иностранных студентов подчеркивает специфический вклад областей коры обоих полушарий в организацию процесса восприятия и декодирования иноязычного текста.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЛАНКОРТИНОВОЙ И ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ МОЗГА У КРЫС, ГЕНЕТИЧЕСКИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К АУДИОГЕННЫМ СУДОРОГАМ

Романова И.В., Михрина А.Л.

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

В мозге млекопитающих меланокортиновая система (МКС) участвует в регуляции различных функциональных систем. Центральная МКС представлена нейронами, расположенными в аркуатном ядре гипоталамуса (АРК), в которых экспрессируется проопиомеланокортин (ПОМК) – молекула-предшественник нескольких меланокортинов (альфа-, бета MSH, АКТГ), действие которых осуществляется через активирующие меланокортиновые рецепторы 3 и 4 типов (МКР3 и МКР4). Agouti-related protein (AGRP), который также экспрессируется в нейронах аркуатного ядра, является эндогенным антагонистом МКР3 и МКР4. В различных дофаминергических структурах мозга выявлены ПОМК- и AGRP-иммунореактивные отростки. Двойное иммуномечение и конфокальная микроскопия демонстрирует локализацию МКР3 и МКР4 в дофаминергических нейронах. В экспериментах *in vivo* и *in vitro* выявлен тормозный эффект AGRP на дофаминергические нейроны. Известно, что эпилепсия сопровождается дисбалансом катехоламинов в мозге. У крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенным судорогам, выявлено увеличение уровня дофамина в гипоталамусе и дорзальном стриатуме. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы оценить функциональное состояние меланокортиновой системы у крыс КМ.

Результаты ПЦР в реальном времени демонстрируют, что у крыс КМ в гипоталамусе увеличение уровня дофамина не сопровождается достоверным изменением экспрессии ПОМК по сравнению с крысами Вистар. При этом у крыс КМ выявлено увеличение уровня мРНК AGRP в 3,96 раз ($p < 0,05$), увеличение уровня мРНК МКР3 в 1,7 раз ($p = 0,07$), МКР4 в 2,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с крысами Вистар. Увеличение уровня МКР3 и МКР4 у крыс линии КМ может свидетельствовать об усилении чувствительности нейронов-мишеней и, в частности, дофаминергических, к меланокортинам, что вместе с другими факторами, может влиять на увеличение биосинтеза дофамина. С другой стороны показано, что AGRP оказывает тормозный эффект на дофаминергические нейроны и его увеличение может происходить при увеличении уровня дофамина, что вызывает изменение систем, обеспечивающих интегративные взаимодействия, регулирующие биосинтез дофамина в мозге.

Будут представлены данные о роли AGRP в регуляции различных функций организма и его роли, как функционального посредника между периферическими тканями и функциональными системами в мозге.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-06231 и Программы ОФФМ.

ВНУТРИ- И МЕЖПОЛУШАРНЫЕ ИНТЕГРАЦИИ НЕЙРОННЫХ СИСТЕМ КОРЫ МОЗГА ПРИ ЧТЕНИИ

Соколова Л.В.

Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,
Архангельск, Россия. E-mail: sluida@yandex.ru

Важнейшей характеристикой нейрофизиологических механизмов, опосредующих деятельность, является характер внутри- и межполушарных интеграций. Изменение синхронности электрических процессов в мозговых структурах, выявляемое при анализе функции когерентности биопотенциалов мозга, может отражать не только возрастные особенности формирования нейронных распределенных систем, реализующих тот или иной вид когнитивной деятельности, но и возможность применения различных стратегий при решении однотипных задач.

Регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ) осуществлялась стандартным методом с использованием международной схемы постановки электродов «10-20» в состоянии покоя и при чтении текстов, соответственно возрасту. Основным анализируемым параметром пространственно-временной организации биоэлектрической активности мозга (БЭА) был максимум оценки функции когерентности (КОГ) ритмических составляющих биопотенциалов в анализируемых диапазонах частот ЭЭГ.

Исследование БЭА мозга детей 7-8, 10-11 лет и студентов (20-22 года) в процессе чтения выявило основную тенденцию формирования зрелого типа мозговой организации: при совместной работе обоих полушарий во время чтения наблюдалось локальное увеличение коркового возбуждения, больше выраженное в зонах левого полушария непосредственно связанных с речевыми функциями. У 7-8 летних детей отмечалась несформированность системных взаимодействий корковых областей и полушарий, что вполне соответствует начальным этапам освоения навыка чтения. В реализации процесса чтения у школьников 10-11 лет участвуют оба полушария,

некоторое преобладание левой гемисферы обусловлено включением в функциональные объединения ее лобных отделов. У студентов выявлена зависимость реорганизации синхронности БЭА зон обоих полушарий, при выраженном преимуществе внутрислоушарной интеграции областей левого, от сложности предложенного для чтения текста.

При чтении сложных текстов обнаружен характерный баланс мощности низко- и высокочастотных диапазонов ЭЭГ между лобными и затылочными отделами коры мозга. По всей вероятности, для выполнения такого рода речевых заданий требуется постоянная интеграция между заднеассоциативными и переднеассоциативными областями полушарий, обеспечивающих разные уровни обработки речевых стимулов. Реорганизация мозговых механизмов наблюдается как в процессе чтения разных по сложности текстов на родном языке, так и при чтении на иностранном языке. Анализ ЭЭГ характеристик чтения студентов на этапе освоения неродного языка обнаружил генерализованную БЭА корковых зон обоих полушарий с большим вовлечением задне-ассоциативных зон правого при чтении иноязычного текста. Формирование навыка чтения (в том числе и на неродном языке) сопряжено с изменяющимся соотношением роли перцептивного и лингвистического компонентов этой деятельности. Преобладание роли правого полушария в начале обучения может быть связано с новизной процесса и трудностями зрительного гнозиса речевого стимула. При развитии этой когнитивной деятельности равновесие смещается в направлении от правого к левому полушарию. Такая динамика мозговой организации чтения согласуется с данными нейролингвистических наблюдений, свидетельствующих о постепенном переходе от перцептивной обработки информации к совершенствованию семантического анализа текста. Показано, что мозговые механизмы реализации процесса чтения в значительной мере определяются вовлечением лобных функциональных областей. Фронтальные отделы коры мозга включаются в процессы выработки программ действия, лежащих в основе взаимодействия областей коры, изменяя характер их участия в деятельности и обеспечивая тем самым специфичность обработки информации в корковых структурах мозга.

АУТОИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОНОВ: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА (NO)

¹Сорокина Е.Г., ²Реутов В.П., ³Ветрилэ Л.А., ³Давыдова Т.В., ³Кузнецова Л.В.,

³Карпова М.Н.,

⁴Семенова Ж.Б., ⁴Карасева О.В., ⁴Рошаль Л.М., ¹Арсеньева Е.Н., ¹Пинелис В.Г.

¹Научно-исследовательский центр здоровья детей; ²Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии; ³Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии; ⁴Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия. E-mail: sorokelena@mail.ru

Гипоксия мозга, сопровождающая нарушения мозгового кровообращения, эпилепсию и черепно-мозговую травму (ЧМТ) включает в себя развитие «глутаматного каскада» повреждений нейронов, опосредуемого рецепторами глутамата (GluRc). Одним из последствий токсического действия Glu при гипоксии

является повреждение гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) и развитие аутоиммунного ответа, одним из проявлений которого является увеличение в крови уровня аутоантител (аАТ) к GluRc – AMPA и NMDA- типа (Дамбинова С.А. и соавт., 1988-2013). Образованию аАТ к GluRc способствует повреждение мембран нейронов, и выброс в кровь пептидных фрагментов N-концевой части GluRc, локализующейся на внешней стороне мембраны нейронов. Показано также, что помимо аАТ к GluRc при таких заболеваниях как эпилепсия, в крови увеличивается уровень аАТ к Glu, при этом предварительное введение аАТ к Glu животным оказывает благоприятный эффект (Кузнецова Л.В., Ветрилэ Л.А., Карпова М.Н., 2014).

В работе определяли, как меняется уровень аАТ к GluR₁субъединице AMPA- и NR₂- субъединице NMDA – GluRc , аАТ к Glu, аАТ к S100b и пептидов, представляющих продукт деградации AMPA GluRc у детей после различной степени тяжести ЧМТ в первые две недели посттравматического периода. Указанные параметры сравнивали с изменениями концентрации маркеров повреждения мозга – S100B и NSE, а также концентрации NOx и нитротирозина. У детей с тяжелой ЧМТ отмечали более высокое содержание S100b в первые сутки и более медленное его снижение до нормальных величин к 15-му дню, что сопровождалось обратной динамикой для аАТ к S100b (свидетельство нарастания проницаемости ГЭБ). Тяжелая ЧМТ характеризовалась высоким уровнем аАТ к AMPA GluRc с 1-го дня со значительным увеличением их к 15-му дню и повышением содержания AMPA пептидов с максимумом на 5-8-й день. У детей с легкой и среднетяжелой ЧМТ увеличение содержания белка S100b регистрировалось лишь в первые 3 дня, что совпадало с динамикой аАТ к S100b. К 15-му дню у всех детей независимо от тяжести ЧМТ в 2 раза увеличивался по сравнению с 1-м днем уровень аАТ к NR₂-субъединице NMDA GluRc. и уровень аАТ к Glu. Это означает, что в посттравматическом периоде продолжается гиперстимуляция GluRc и выход пептидных фрагментов GluRc и Glu из мозга в кровь, что подтверждается повышением проницаемости ГЭБ у всех детей после ЧМТ.

На экспериментальных моделях было показано, что значительную роль в повышении уровня аАТ к Glu и GluRc может играть NO и продукты его метаболизма (Сорокина и соавт., 2002-2015; Крушинский и соавт. 2005-2013; Реутов и соавт., 2002-2010). Повышение уровня NO при введении NO-генерирующего соединения приводило к достоверному увеличению содержания аАТ как к Glu, так и к GluRc. В настоящей работе было показано, что содержание суммарных продуктов NOx в плазме крови детей после ЧМТ совпадало с динамикой повышения уровня аАТ к GluRc к 15-му дню после ЧМТ. Таким образом, полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что в посттравматическом периоде происходит нарастание аутоиммунных процессов, сопровождающихся повышением содержания NO. Предполагается, что NO и аАТ к GluRc, а также аАТ к Glu могут быть частью компенсаторных механизмов, направленных на снижение негативного действия гиперстимуляции GluRc во время гипоксии, сопровождающей ЧМТ. Полученные нами данные и развиваемые представления хорошо согласуются с клиническими наблюдениями.

Поддержано грантом РГНФ № 12-06-00943 и 15-06-10952а.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ И ОБЪЕМ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Станкова Е.П.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия.

E-mail: stankova-katia@yandex.ru

Память является когнитивной функцией, которая определяет успешность многих видов деятельности. В ряде исследований показано, что объем кратковременной памяти определяется генетически и связан с особенностями организации биоэлектрической активности головного мозга. Целью нашей работы было выявление индивидуальных особенностей электроэнцефалограммы (ЭЭГ), связанных с объемом кратковременной памяти (ОКП). Для ее реализации мы использовали четыре различных метода обработки сигнала ЭЭГ. Наряду с традиционными методами, позволяющими судить о степени активации тех или иных областей головного мозга, мы использовали методы, позволяющие количественно оценить сложность и разнообразие периодических режимов головного мозга. Для этих целей использовали величину корреляционной размерности восстановленного аттрактора ЭЭГ (CD).

Наблюдения были проведены на молодых людях в возрасте 18-26 лет обоего пола. В исследовании приняли участие 79 человек. ЭЭГ регистрировали в состоянии спокойного бодрствования в 16 стандартных отведениях монополярно. Проводили спектральный, амплитудный, автокорреляционный анализ и анализ нестационарности ЭЭГ, путем расчета корреляционной размерности. Расчет CD вели по оригинальным программам, разработанным в ЯрГУ, для четырех частотных диапазонов: дельта, тета, альфа и бэта ритмов. В среднем величины CD для всей выборки составили от 2,41 для дельта-ритма до 5,71 для бэта-ритма, что согласуется с данными других исследователей.

В результате применения множественного регрессионного анализа мы получили модель, позволяющую прогнозировать объем кратковременной памяти на основании мощности бета и амплитуды альфа ритма в височных отведениях, а также корреляционной размерности ЭЭГ в диапазоне бэта-ритма в переднелобном отведении. Согласно модели $ОКП = 3,36 - 0,04 * \text{Мощность бэта-ритма в T5} + 0,01 * \text{Максимальная амплитуда альфа-ритма в T5} + 0,6 * CD \text{ бэта в Fp1}$. Для проверки адекватности модели использовали построение ROC - кривых. Согласно этому анализу уровень значимости модели $P = 0,0054$, площадь под кривой $AUC = 0,73$, что может быть расценено как хороший показатель.

Таким образом, чем больше амплитуда альфа-ритма и корреляционная размерность ЭЭГ и, в то же время, чем меньше мощность бэта ритма на ЭЭГ, записанной в состоянии спокойного бодрствования, тем больше информационная емкость мозга. Наши данные хорошо согласуются с нашей работой гипотезой о том, что

величина разнообразия периодических режимов в электроэнцефалограмме человека – индивидуально значимая величина, определяющая объем памяти. Также полученные результаты согласуются с представлениями о том, что альфа-ритм играет ключевую роль в сонной настройке, объединении нейронных ансамблей, работающих на разных частотах и в доступе к так называемой системе знаний (knowledge system), включающей в себя долговременную, процедурную и рабочую память.

**РЕГУЛЯТОРНАЯ НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ СИСТЕМА КОЖНОГО
ЭПИТЕЛИЯ *SACCOGLOSSUS MERESCHKOWSKII* (ENTEROPNEUSTA,
HEMICHORDATA)**

Столярова М.В. *, Валькович Э.И. *, Олейник Е.А. **

* Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; ** Национальный государственный Университет физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: mvstolyarova@yandex.ru

Кишечнодышащие (класс Enteropneusta) относятся к полухордовым животным (тип Hemichordata). По особенностям строения (Догель, 1975) и данным молекулярно-биологических исследований (Gerhart et al., 2005) кишечнодышащие эволюционно наиболее близки к предкам хордовых, в связи с чем представляют собой важный объект сравнительно-морфологических исследований. Особенностью нервной системы кишечнодышащих является ее интраэпителиальное расположение. В основании кожного эпителия залегает нервный слой, представленный нервными клетками и нервными волокнами. Органы чувств у кишечнодышащих отсутствуют, эндокринные клетки не обнаружены. Целью настоящей работы было выявление клеточных элементов, обеспечивающих рецепцию и регуляцию.

Проведено электронномикроскопическое и иммуноцитохимическое исследование кожного эпителия у представителя кишечнодышащих *Saccoglossus mereschkowskii*. Нервный слой образован нервными волокнами диаметром 0,2-1,0 мкм. В волокнах содержатся гранулы диаметром 0,06-0,15 мкм со светлым или темным содержимым, расположенные одиночно или образующие скопления. Встречаются нервные волокна, окруженные миелиноподобной оболочкой, состоящей из нескольких наложенных друг на друга мембран. Обнаружены синаптические контакты терминалей нервных волокон и железистых клеток, что указывает на нейрональную регуляцию функции железистых клеток. Отдельные нервные окончания, содержащие синаптические пузырьки, контактируют с базальной мембраной. Очевидно, происходит диффузия медиатора через базальную мембрану в гемальные пространства (кровеносную систему), обеспечивающая регуляцию функции мышц.

В глубине эпителия на границе с нервным слоем выявлены нейроноподобные клетки, образующие с соседними клетками синапсopодобные контакты по типу щелевого соединения. Можно предположить, что наблюдаемые нейроны получают сигналы от рецепторных клеток и представляют собой ассоциативные или эффекторные клетки.

Обнаружены базальные отростки эпителиальных клеток, которые, достигая нервного слоя, меняют свое направление и входят в него. По-видимому, эти отростки относятся к рецепторным клеткам, по морфологии клетки сходны с реснитчатыми клетками эпителия.

Другим типом рецепторных клеток являются мелкозернистые клетки эпителия (Welsh, 1984). Отростки мелкозернистых клеток обнаруживаются в составе нервного слоя. Крупнозернистые и мелкозернистые клетки содержат секреторные гранулы в апикальных, центральных и базальных частях, установлено выделение секрета из гранулы крупнозернистой клетки на границе с базальной мембраной. Полученные результаты позволяют рассматривать зернистые клетки как экзокринно-эндокринные регуляторные эндокриноподобные клетки. Выявленная локализация FMRF-амид-иммунореактивного материала в зернистых клетках подтверждает данные электронной микроскопии об их роли как эндокриноподобных клеток.

Таким образом, в кожном эпителии *S. mereschkowskii* выявлена своеобразная регуляторная нейро-эндокринная система, включающая рецепторные элементы, представленные специализированными реснитчатыми и мелкозернистыми клетками, эндокриноподобные элементы, представленные экзокринно-эндокринными зернистыми клетками, и нейроноподобные клетки, вероятно, ассоциативно-эффекторные. Нейроноподобные и эндокриноподобные клетки, по-видимому, осуществляют как местную регуляцию функций эпителиальных клеток, так и регуляцию функции мускулатуры.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА ИНТЕРНЕЙРОНЫ ПОВЕРХНОСТНОЙ ОБЛАСТИ ДОРСАЛЬНОГО РОГА СПИННОГО МОЗГА МЫШЕЙ

Стрелков А.А., Порсева В.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: strelkov-yar@mail.ru

Функциональную принадлежность интернейронов спинного мозга (СМ) рассматривают в совокупности их размерных и топографических характеристик, соотнося с формой клеточных тел и аксональными проекциями. Объединение интернейронов пластинок I и II в поверхностную область дорсального рога (ПОДР) СМ связано как с их однотипностью, так и с участием в образовании локальных цепей, связанных с первичными афферентными проекциями. Известно, что в пластинках ПОДР СМ позвоночных, включая человека, выявляются интернейроны,

содержащие кальбиндин, который участвует в трансклеточном транспорте ионов кальция и модулирует эффекты, возникающие в ответ на изменения внутриклеточной концентрации кальция, функционируя в качестве своеобразного буфера, обеспечивающего кальциевый гомеостаз.

Целью исследования явилось изучение содержания одного из кальций-связывающих белков в интернейронах ПОДР грудного отдела спинного мозга мышей, находившихся в 30-суточном космическом полете на биоспутнике БИОН-М1. Взятие материала осуществлялось через 12 часов с момента посадки спутника, в течение которых животные находились в условиях силы тяжести Земли. Эксперименты выполнялись в соответствии с решением Комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ-ИМБП РАН (протокол № 319 от 04.04.2013 г.), одобряющее проведение исследования по проекту БИОН-М1.

Иммуногистохимическим методом исследовали экспрессию кальбиндина 28 кДа (КАБ) в интернейронах пластинок I и II Т3-Т5 сегментов СМ у самцов мышей С57/BL6. Анализировали площадь сечения тел иммунореактивных (ИР) нейронов и их абсолютное число на поперечных срезах серого вещества СМ толщиной 14 мкм.

У мышей, находящихся в стандартных условиях вивария (группа контроля, n=3) в ПОДР СМ располагались КАБ ИР интернейроны, которые имели преимущественно округлую форму, в латеральной части пластинки II - веретеновидную форму. Интернейроны имели яркую флюоресценцию, иммунореактивность проявляла только нейроплазма, отростки были иммунонегативными.

Клеточные тела ИР интернейронов были малых размеров, концентрация ИР клеток в пластинке I была меньшей, чем в пластинке II: при одинаковых размерах клеточных тел их количество было меньшим, чем в пластинке II.

У мышей полетной группы (n=3) на каждом срезе в ПОДР СМ располагались КАБ ИР интернейроны, которые имели преимущественно округлую форму. Флюоресценция в них обнаружена в нейроплазме и ядрах, которые, как правило, располагались центрально. Отростки клеток были КАБ иммунонегативными.

Число ИР интернейронов в полетной группе превышало таковое в контроле на 71% в пластинке I и на 62% в пластинке II. У мышей полетной группы средняя площадь сечения интернейронов пластинки I не отличалась от контрольных значений. Средние размеры КАБ ИР интернейронов в пластинке II были меньше контрольных показателей на 24%.

Результаты исследования грудных сегментов СМ мышей, находившихся в 30-суточном космическом полете на биоспутнике Бион-М1 показали, что в субпопуляциях КАБ ИР интернейронов ПОДР СМ происходят разнонаправленные изменения их количественных и размерных характеристик. Это проявляется увеличением количества КАБ ИР интернейронов в пластинках I и II, которые являются центрами термо- и ноцицепции; уменьшением средней площади сечения КАБ ИР интернейронов пластинки II.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ 1L1 В КЛЕТКАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И КРЫСЫ

Сухорукова Е.Г., Гусельникова В.В.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия. E-mail:
len48@inbox.ru

Сравнительное изучение распределения белков-маркеров различных клеточных популяций головного мозга человека и лабораторных животных является актуальным направлением фундаментальной нейробиологии, поскольку способствует унификации оценки результатов экспериментальных исследований. Одним из таких белков-маркеров является альдегиддегидрогеназа 1L1 – ключевой фермент катаболизма токсичного метаболита метанола – формеата. Считается, что этот маркер высоко специфичен для астроцитарной глии и в головном мозге экспрессируется повсеместно подавляющим большинством клеток этой популяции. Кроме того, утверждается, что альдегиддегидрогеназа 1L1 локализуется не в отдельном компартменте, а равномерно распределена по всей клетке, что позволяет выявлять как клеточное тело астроцита, так и его многочисленные отростки.

Цель настоящей работы состояла в сравнительном иммуногистохимическом исследовании распределения альдегиддегидрогеназы 1L1 в клетках коры головного мозга человека и крысы и определении пригодности этого маркера для изучения особенностей структурной организации астроцитов.

Материалом для исследования служили фрагменты коры большого мозга людей в возрасте от 20 до 89 лет (n=20) и головной мозг половозрелых крыс-самцов линии Вистар (n=10). Иммуноцитохимические реакции проводили с использованием мышинных моноклональных (клон YU8) антител к альдегиддегидрогеназе 1L1.

Исследование срезов головного мозга крысы показало, что положительная иммунная реакция имеет разную интенсивность в различных слоях неокортекса. Так, наибольшая интенсивность окраски отмечается в области поверхностной глиальной пограничной мембраны, вокруг кровеносных сосудов и в субкортикальном белом веществе. Поверхностная глиальная пограничная мембрана представлена монослоем клеток клиновидной формы, широкое основание которых обращено в сторону поверхности, а от верхушки вглубь нервной ткани отходит небольшое число относительно длинных волнистых неветвящихся отростков. В средних и глубоких слоях коры положительная иммунная реакция наблюдается в концевых участках ножек астроцитов, формирующих периваскулярные глиальные пограничные мембраны. В субкортикальном белом веществе положительная иммунная реакция обнаруживается в перинуклеарной зоне звездчатых клеток и в начальных сегментах их крупных отростков.

У человека положительная иммунная реакция наблюдается преимущественно в округло-овальных, без различимых ядрышек, ядрах клеток, диффузно расположенных во всех слоях коры и субкортикальном белом веществе. Однако в срезах головного мозга людей старшего возраста положительная иммунная реакция выявляется также в средних и глубоких слоях коры в цитоплазме единичных клеток звездчатой формы с иммунонегативным ядром. Эти клетки обнаруживаются в составе компактных образований – «сенильных бляшек» и имеют радиально отходящие толстые извитые отростки, распадающихся на множество более мелких отростков.

Таким образом, полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о наличии существенных межвидовых различий в распределении альдегиддегидрогеназы 1L1 в клетках коры головного мозга, которые следует учитывать при интерпретации результатов экспериментальных исследований, проводимых на крысах и экстраполяции этих результатов на человека. При этом, альдегиддегидрогеназа 1L1 действительно является селективным маркером астроцитов коры головного мозга, однако характер распределения этого фермента в пределах клеток не позволяет детально изучать особенности их структурной организации.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 14-04-00071а).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВОЗОБНОВЛЯЮЩЕЙСЯ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ НА СЕРДЕЧНЫЙ РИТМ У КРЫС

Телушкин П.К., Фатеев М.М., Гуцин А.С., Белов П.В.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: fateev52@mail.ru

Исследовали вариабельность сердечного ритма (ВСР) у крыс в процессе развития гипогликемической комы (ГГК) и после купирования ее глюкозой. ЭКГ регистрировали до и через 15, 60, 90 и 120 минут (кома) после введения инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 минут после введения глюкозы (3 мл 40% раствора внутривенно) крысам, находившимся в состоянии ГГК. Затем эти животные перенесли серию из 8 ГГК с интервалом в 2 дня. В ходе развития последней комы и после ее купирования регистрацию ЭКГ повторяли по той же схеме.

ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении в течение 4-х минут у иммобилизованных крыс. Изучали показатели временного, геометрического и спектрального анализ ВСР. Исходная частота сердечных сокращений (ЧСС) составляла 481 ± 5 уд/мин, после введения инсулина она начинала уменьшаться и в состоянии ГГК снижалась до 331 ± 9 уд/мин. После введения глюкозы ЧСС начинала восстанавливаться и через 1 час составляла 423 ± 10 уд/мин. Анализ и других показателей ВСР показал, что у животных в состоянии ГГК происходит резкое увеличение тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы и относительно небольшое – симпатoadреналовой системы. Через час после введения

глюкозы не происходит полного восстановления показателей ВСР. Все показатели временного, геометрического и спектрального анализов ВСР уже достоверно отличаются от этих же показателей у животных, находящихся в состоянии комы, но также и от показателей при исходном состоянии. При этом наблюдается резкое уменьшение мощностей спектрального диапазона: мощностей волн низкой частоты (HF), высокой частоты (LF) и общей мощности спектра (TP) с 0.94 ± 0.620 , 2.24 ± 0.456 и 3.18 ± 0.903 мс² соответственно в исходном состоянии до 0.12 ± 0.039 , 0.07 ± 0.025 и 0.19 ± 0.064 мс² соответственно через час после введения глюкозы ($p < 0.05$), что свидетельствует об уменьшении адаптационных возможностей организма. У этих же крыс, перенесших серию ГГК, анализ ВСР показал практически ту же динамику изменений в показателях, как и при первой регистрации, однако несколько менее выраженную. Так, исходная ЧСС у них составляла 490 ± 9 уд/мин, после введения инсулина она также начала снижаться и в состоянии ГГК составила 316 ± 18 уд/мин, а последующее купирование ГГК глюкозой привело к увеличению ЧСС через час до 406 ± 11 уд/мин. Достоверные отличия наблюдались только в показателях ВСР временного и геометрического анализов у животных в состоянии ГГК по сравнению с исходным состоянием, а через час после введения глюкозы достоверные отличия наблюдались только в показателях временного анализа ВСР по сравнению с исходным состоянием. Показатели спектрального анализа практически не изменялись в ходе эксперимента. Сравнение динамики изменения показателей ВСР при первой ГГК и после серии ГГК с последней ГГК показало, что существенные отличия имеются через 15 минут после введения глюкозы только в показателях спектрального анализа, а через 1 час после введения глюкозы в большем количестве показателей временного, геометрического и спектрального анализов.

Таким образом, многократная ГГК привела к адаптации организма к данным стрессорным воздействиям, к увеличению его адаптационного потенциала. Об этом свидетельствуют данные спектрального анализа, которые после многократной ГГК не претерпели существенных изменений по сравнению с исходным состоянием.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОМАТОТИПА

Уварова Ю.Е., Аминова О.С., Тятенкова Н.Н.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль,
Россия.

E-mail: olya.kool@rambler.ru

К настоящему времени накоплен обширный материал, свидетельствующий о конституционально-генетической предрасположенности человека к некоторым заболеваниям, о специфике клинической картины в зависимости от типа конституции человека и особенностях протекания адаптационного процесса. Изучение адаптации осуществляется с учетом активности вегетативных регуляторных систем организма, поэтому цель проделанной работы состояла в выявлении особенностей вегетативной

регуляции сердечно-сосудистой системы в зависимости от уровня габаритного варьирования.

В ходе работы произведено соматофизиологическое обследование 200 относительно здоровых девушек-студенток, средний возраст которых составил $19,6 \pm 1,6$ лет. Все измерения проводились с информационного согласия испытуемых в осеннее-весенний период.

Исследование включало в себя измерение и оценку основных соматометрических и функциональных показателей по стандартным методикам. Уровень габаритного варьирования (соматотип) определяли с использованием индекса Пинье. Для оценки типа регуляции сердечной деятельности рассчитывали вегетативный индекс Кердо (ВИК). Статистическая обработка материала осуществлялась с использованием программных продуктов Statistica 10.0 и Microsoft Excel 2010.

Результаты исследования показали, что 50% обследованных девушек принадлежат к нормостеническому типу телосложения, 36% - к астеническому и 14% - к гиперстеническому. В среднем для выборки значение ВИК составило $1,3 \pm 19,7$. Этот показатель достоверно отличался у астеников ($4,7 \pm 18,0$) и гиперстеников ($-6,4 \pm 13,7$). Выявлено, что симпатотонический тип вегетативной регуляции встречался в 26,5% случаев, эйтонический – в 52%, парасимпатический – в 21% случаев. Имеется индивидуально-типологическая изменчивость на уровне вегетативной регуляции: в группе астеников 35,6% симпатикотоников и 19,2% ваготоников, у гиперстеников – 7,1% и 39,9% соответственно.

Таким образом, по мере увеличения крепости телосложения усиливается влияние парасимпатического отдела нервной системы. У девушек астенического телосложения преобладание тонуса симпатического отдела ВНС может указывать на напряженное состояние регуляторных систем гомеостаза и признаки напряжения в сбалансированности работ отдельных систем. Преобладание тонуса парасимпатического отдела ВНС у гиперстеников свидетельствует о развитии более благоприятного анаболического варианта метаболизма и экономного режима функционирования организма, что приводит к удовлетворительному течению адаптивных процессов в организме.

Работа выполнена при поддержке проекта № 544 в рамках базовой части государственного задания на НИР Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова.

СВЕРХМЕДЛЕННЫЕ КОЛЕБАНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА: ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Филиппов И.В., Пугачев К.С., Зеленцов Е.А., Зюзин Е.В., Кребс А.А., Малеванный А.О., Красотин Я.Н.

Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль.

E-mail: filippov@yuma.ac.ru

В последнее десятилетие отмечается значительный рост интереса к крайне медленным формам биоэлектрической активности головного мозга с частотами менее 0,5 Гц. Подобное внимание, очевидно, связано с перспективным характером

использования анализа сверхмедленных феноменов ЦНС в экспериментально-клинических исследованиях. Однако одним из факторов, ограничивающих широкое изучение использования сверхмедленных колебаний потенциалов (СМКП) как в экспериментальной, так и в клинической нейрофизиологии, является открытый вопрос о происхождении сверхмедленной активности ЦНС, что и послужило стимулом для выполнения настоящей работы.

Цель работы – выявить, проанализировать и сопоставить фоновые СМКП головного мозга на примере фронтального неокортекса (ФН) крыс *in vivo* в диапазоне частот 0,001-0,5 Гц со спонтанными медленными флюктуациями изменений спектральной мощности различных ритмов электрокортикограммы (ЭКоГ), а также с соответствующими по своим периодам флюктуациями содержания метаболитов (глюкоза, лактат) и нейротрансмиттеров (глутамат) в микрообъемах ФН.

Работа проведена с соблюдением биоэтических правил на 15 самцах взрослых крыс-альбиносов (n=60 наблюдений), под уретановой анестезией (1,5 г/кг, внутривенная инъекция) в условиях острого эксперимента. Многоканальная внеклеточная регистрация спонтанных СМКП, ЭКоГ, а также амперометрический биоэлектрохимический мониторинг изменения содержания метаболитов и нейротрансмиттеров в микрообъемах ФН у животных осуществлялись в условиях максимальной изоляции крыс от действия сенсорных стимулов. Для регистрации указанных процессов использовали универсальную нейрофизиологическую компьютерную электрофизиологическую установку (AlphaOmega AlphaLab SnR, Израиль) и биоэлектрохимическую станцию (EA164 и ED821, eDAQ, Австралия). Полученные файлы при помощи программного обеспечения (CED Spike2 8.07, Великобритания и DataWave SciWorks Experimenter Analysis 8.3, США) подвергались цифровой фильтрации и математической обработке.

Анализ полученных данных показал среднюю положительную степень линейной корреляционной зависимости ($0,74 > r > 0,52$) между динамикой многосекундных СМКП и квазипериодическими изменениями частоты преимущественно тета-диапазона ЭКоГ в ФН. Установлено, что для области ФН было характерно присутствие циклических фоновых флюктуаций содержания глюкозы, лактата, ацетилхолина и глутамата. Оценка длительных записей многосекундного диапазона СМКП позволила выявить его преимущественную связь с изменениями уровня содержания ацетилхолина и глутамата, а динамика минутных волн СМКП отражала уровень содержания метаболитов в ткани фронтального неокортекса, что подтверждается средними положительными значениями линейной корреляции изученных феноменов.

Полученные данные объяснимы с позиций нашей гипотезы о том, что многосекундные СМКП неокортекса, вероятно, связаны с колебаниями уровня возбудимости, т.е. специфической/неспецифической активацией неокортекса вследствие периодических изменений содержания нейромедиаторов/нейромодуляторов, тогда как минутные колебания потенциалов имеют в своей основе имеют метаболические процессы, происходящие в неокортексе.

Данное исследование проведено при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты № 14-04-00028, № 16-36-00038 и № 16-34-50072).

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГАБАЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В NUCLEUS RAPHE OBSCURUS У КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ СЕРОТОНИНА

Хожай Л.И., *Ильичева Н.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; *Санкт-Петербургский государственный технологический институт, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: astarta0505@mail.ru

Установлено, что nucleus raphe obscurus является самым значительным по количеству входящих в его состав серотонинсинтезирующих нейронов. Нисходящие проекции нейронов nucleus raphe obscurus достигают многих структур продолговатого мозга и представляют основной источник серотонинсодержащих терминалей, выявленных в ядре солитарного тракта и дорсальном ядре вагуса, которые, являясь важными вегетативными центрами моторной и висцеральной чувствительности, образуют важнейшие системы иннервации внутренних органов. Проекция нейронов nucleus raphe obscurus к ядрам респираторного и сосудодвигательного центров позволяет рассматривать серотонин как один из важных факторов, контролирующей деятельность респираторной и сердечнососудистой систем. Вместе с тем, регуляция деятельности нейронов nucleus raphe obscurus коррелируется тормозной ГАБАергической системой.

В работе изучали динамику распределения ГАБАергических нейронов в nucleus raphe obscurus в ранний постнатальный период в норме и при пренатальном дефиците серотонина. Снижение уровня эндогенного серотонина у плодов вызывали введением ПХФА в ранние сроки пренатального развития. Для визуализации нейронов, экспрессирующих ГАБА использовали кроличьи поликлональные антитела к GAD-67 (Spring Bioscience, США). Показано, что у контрольных животных в течение первых трех постнатальных недель численность нейронов, экспрессирующих ГАБА, постепенно сокращается. У подопытных животных число ГАБАергических нейронов в первую постнатальную неделю в 2 раза меньше, чем в контроле и их численность сохраняется на протяжении всего срока исследования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что недостаток серотонина в пренатальный период может вызывать снижение тормозной иннервации nucleus raphe obscurus в ранний постнатальный период, сокращение числа ГАБАергических нейронов, терминалей и синаптических структур, содержащих ГАБА. Нарушение взаимодействия этих медиаторных систем (ГАБАергической и серотонинергической), обеспечивающих контролируемые механизмы кардиореспираторных центров может являться прямой причиной вегетативной недостаточности, нарушения функций кардиоваскулярной и респираторной систем.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-02167.

ОЦЕНКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ШОВНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ МИКРОХИРУРГИЧЕСКОГО ШВА НЕРВА

Цыганова У.Е., Лебедев П.В., Румянцева Т.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: tsiganovauliana@mail.ru

Известно, что причиной невозможности прорастания нервных волокон после оперативного вмешательства на нерве является формирование рубца. Рубец – результат пролиферации гистиоцитов в последней фазе воспаления. Кроме того, рана – хорошая среда для размножения бактерий, а значит, и продолжения острой фазы воспаления (пролиферации). С учетом этого были созданы нити с противовоспалительной активностью (полипропилен 10/0) с адгезией на них молекул НПВС (диклофенак) и антибиотика-цефалоспорины (цефтриаксон).

Цели исследования: апробировать шовный материал в эксперименте на крысах, оценить выраженность воспалительного процесса при использовании обычного и модифицированного шовных материалов, сравнить эффективность новых материалов.

Животные были разделены на 3 группы: контрольную (10 животных) и 2 экспериментальных (по 10 животных) №1 и №2. Была создана модель послеоперационной раны, аналогичная таковой при оперативных вмешательствах на нервах: седалищный нерв крысы прошивался шовным материалом – полипропиленом 10/0 и полипропиленом 10/0 с обработкой диклофенаком (№1) и с обработкой цефтриаксоном (№2). Производили забор исследуемой среды (прошитая часть нерва) через 1 месяц после наложения микрохирургического шва нерва. Оценивались зоны инфильтрации лимфоцитами и пролиферации гистиоцитов вокруг шовного материала.

Установлено, что зона пролиферации в контрольной группе составляет 92,1-197,6 мкм (x 40) (в среднем 144,85 мкм); в экспериментальной группе №1 – 47,0-86,3 мкм (в среднем 66,65 мкм); в экспериментальной группе №2 – 31,0-50,8 мкм (в среднем 40,9 мкм). Инфильтрации выявлено не было.

Достоверно установлено, что зона пролиферации через 1 месяц после забора материала больше в контрольной группе (при использовании обычной нити), чем в обеих экспериментальных (нити с покрытием). Это доказывает местный противовоспалительный эффект обоих модифицированных шовных материалов. Вместе с тем, как показал расчет средних размеров пролиферации гистиоцитов, большей противовоспалительной активностью обладает шовный материал, модифицированный цефтриаксоном.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ СТРУКТУР В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: iemmorphol@yandex.ru

Вопрос о мере участия различных отделов автономной нервной системы (парасимпатического и симпатического, их ганглиев и постганглионарных волокон) в

регуляции эндокринной функции поджелудочной железы (ПЖ) является дискуссионным. В связи с этим проблема изучения симпатической иннервации тканей ПЖ в онтогенезе остается актуальной. Целью настоящего исследования явилось изучение морфологических особенностей симпатических нервных структур в поджелудочной железе новорожденных крыс. Структуры симпатической нервной системы в ПЖ крыс выявляли с помощью иммуногистохимической реакции на тирозингидроксилазу (ТГ), которую проводили на парафиновых срезах. Для идентификации ТГ-содержащих (ТГ+) структур применяли поликлональные кроличьи антитела (1: 1000, Abscam, Великобритания).

Показано, что в ПЖ новорожденных крыс обнаруживаются нервные стволики и пучки различного диаметра (2-15 мкм). Большая часть из них следует вдоль крупных, средних и мелких артериальных сосудов во внутريدольковой соединительной ткани. Вместе с сосудами они образуют широкопетлистое нервно-сосудистое сплетение, кроме того, они встречаются вблизи островков Лангерганса и выводных протоков. В настоящей работе были выявлены ТГ+ симпатические нервные окончания в парасимпатических микроганглиях ПЖ. Нейробласты и молодые нейроны немногочисленных интрамуральных парасимпатических ганглиев новорожденных крыс являются ТГ-иммунонегативными. Установлено, что тонкие пучки ТГ+ аксонов подходят к ганглию и проникают в него через тонкую соединительнотканную капсулу. Внутри ганглия ТГ+ аксоны ветвятся и формируют вокруг перикарионов молодых нейронов и дифференцирующихся нейробластов тончайшие концевые волокна, которые являются фрагментами так называемого «перицеллюлярного нервного аппарата». Вдоль терминальных веточек аксонов можно видеть расширенные участки аксоплазмы (варикозности), а на концах некоторых из них колбочки, колечки или петельки. Показано, что в ПЖ новорожденных животных встречаются мелкие (6-9 мкм) ТГ+ клетки. Они имеют разнообразную (шаровидную, овальную, веретеновидную) форму и немногочисленные короткие отростки. В их цитоплазме и в отростках определяется мелкая диффузная ТГ+ зернистость, ядро светлое с несколькими (1-2) ядрышками. Эти клетки локализуются вблизи нервных сплетений, а также внутри или вблизи парасимпатических микроганглиев. По своим морфологическим признакам, форме, размерам, специфической окраске на катехоламины и топографии эти клетки сходны с хромаффинными клетками параганглиев и с SIF-клетками.

Таким образом, в ранний постнатальный период в ПЖ крысы отмечается активный рост постганглионарных симпатических волокон, устанавливается их связь с сосудами, с развивающимся эндокринным отделом ПЖ, наблюдается развитие парасимпатических ганглиев. В этот период выявляются мелкие ТГ+ клетки, синтезирующие катехоламины. Наконец, у новорожденных крыс уже формируется терминальное синаптическое сетевидное сплетение, которое представлено варикозными аксонами, выполняющими функции касательных синапсов (*en passant*) между интрамуральными парасимпатическими ганглиями ПЖ и экстрамуральными нейронами симпатического отдела нервной системы.

«ЧЕРНЫЕ ДЫРЫ» НЕЙРОМОРФОЛОГИИ, КОТОРЫЕ ТРЕБУЮТ РЕШЕНИЯ

Шилкин В.В., Порсева В.В., Абакшина М.Н.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

E-mail: shilkin39@mail.ru

В нейроморфологии до настоящего времени существуют феномены, неоднозначность которых заставляет одних морфологов делать вид, что они не существуют, как давно решенные, других – подавать свой голос, тщетно пытаясь, если не решить проблему, то хотя бы возродить интерес к нерешенным и спорным сторонам строения нервной системы.

Для иллюстрации существования проблемы авторы избрали те вопросы, по которым ими накоплен собственным материал. Речь не идет о правомочности употребления таких условных терминов как сегмент спинного мозга, ядро центральной нервной системы, рефлекторная дуга и некоторые другие: в докладе будут затронуты вопросы строения волокон и их окончаний –

- понятие «нервное волокно»,
- варикозное утолщение нервного волокна,
- феномен «самоампутации» нервного окончания,
- дискретность и континуитет терминалей нервных волокон,
- нодальный, аксональный, терминальный спраутинг, деление нервного волокна,
- замедление распада волокна и нейромышечного синапса после непосредственного шва нерва.

Не менее привлекательны, с точки зрения авторов:

- наличие «немых» нервных клеток в узлах и ядрах,
- обнаружение методами гистохимии и иммуногистохимии огромных нервных клеток, не выявляемых морфологическими методами,
- правомочность идентификации изменений структур нервной ткани, выявляемых методами гистохимии и иммуногистохимии, с проявлениями общепатологических процессов, описываемых морфологическими методами.
- универсальность структурно-функциональной организации органов нервной системы.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В ГИПОТАЛАМУСЕ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА И МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ИХ КОРРЕКЦИИ

Шпаков А.О.

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

Петербург, Россия. E-mail: alex_shpakov@list.ru

В мире насчитывается более 350 миллионов пациентов с сахарным диабетом (СД) 2-го типа и почти столько же пациентов с метаболическим синдромом (МС), и

большинство из них имеют тяжелые осложнения со стороны сердечно-сосудистой, эндокринной, нервной, выделительной и других систем организма. Важную роль в развитии как самих заболеваний, так и их осложнений играют патологические изменения в гипоталамических сигнальных системах, которые опосредуют центральную регуляцию энергетического гомеостаза в периферических органах и тканях, чувствительность тканей к инсулину, функционирование сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Дисфункции в гипоталамических системах также приводят к нарушению опосредуемой гипоталамическими нейронами регуляции функций ЦНС, опосредуемой периферическими гормонами и гуморальными факторами. Вследствие этого изучение функционального состояния гипоталамических сигнальных систем при метаболических расстройствах и разработка эффективных подходов для коррекции нарушений в этих системах являются одними из наиболее актуальных задач современной нейроэндокринологии и диабетологии. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в последние годы в изучении роли функциональных изменений в этиологии и патогенезе СД 2-го типа и МС, здесь по-прежнему остается много белых пятен и нерешенных вопросов. Установлено, что при СД 2-го типа и МС в гипоталамусе в значительной степени меняется функциональная активность инсулиновой, лептиновой и меланокортиновой сигнальных систем. Причиной этого являются как нарушения в гипоталамических сигнальных каскадах, регулируемых инсулином и лептином, что ведет к развитию центральной инсулиновой и лептиновой резистентности, так и снижение уровня гормонов в мозге вследствие нарушения их транспорта в ЦНС (инсулин) или продукции в гипоталамических нейронах (пептиды меланокортинового семейства). Однако в последние годы значительное внимание привлекают моноаминергические системы, функции которых нарушаются в условиях метаболических расстройств, а также гипоталамические сигнальные системы, регулируемые инкретинами и орексигенными факторами. Основными подходами для восстановления активности инсулиновой, лептиновой и меланокортиновой сигнальных систем гипоталамуса являются повышение концентрации гормонов в ЦНС (интраназально вводимый инсулин, агонисты меланокортиновых рецепторов 4-го типа, и др.) и стимуляция инсулиновых и лептиновых сигнальных путей с помощью специфичных ингибиторов фосфатаз, их негативных регуляторов. Перспективным является подход, основанный на использовании препаратов, которые активируют сигнальные системы мозга, функционально взаимодействующие с инсулиновой, лептиновой и меланокортиновой системами. Среди них устойчивые к деградации аналоги глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и ингибиторы дипептидилпептидазы-4, препятствующие гидролизу ГПП-1, которые активируют рецептор ГПП-1, а также агонисты дофаминовых рецепторов 2-го типа и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, восстанавливающие функции дофаминовой и серотониновой сигнальных систем мозга.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект 14-15-00413).

ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ЛИЧНОСТНЫХ КАЧЕСТВ СТУДЕНТОВ И ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНКЕТИРОВАНИЯ

Щербаков А.О., Барабошин А.Т.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

E-mail: mpm@yua.ac.ru

Эффективность процесса обучения зависит от взаимодействия обучаемого и обучающего. С помощью методики анонимного анкетного опроса получены ответы 53 преподавателей и 150 студентов 3-4 курсов медицинского университета. 1-я часть анкеты включала 10 качеств личности «идеального» преподавателя и «идеального» студента, которые должны присутствовать, а также по 10 негативных качеств, которые не должны иметь место. Во 2-й части респонденты указывали свойства личности «реальных» преподавателей и «реальных» студентов. В 3-й части они отвечали на вопрос, какими видят друг друга. В каждой части все качества расставлялись от более до менее значимых. Анализ анкеты выявил согласие преподавателей и студентов по значимым качествам личности «идеальный» преподаватель. Это «преподаватель-стандарт» (знает предмет, живет работой, труден в общении, упрям, высокого мнения о себе). Однако, оценивая нежелательные качества преподавателя, студенты на 1-е место поставили злобность и предвзятость, а не плохое знание предмета (как это сделали преподаватели). По значимости качеств личности мнение преподавателей об «идеальном» студенте можно выразить как «пусть глуповат и ленив, но нравственен и ответственен», т.е. удобный объект обучения. Сами студенты на 1-е место среди положительных качеств поставили целеустремленность и внимательность, а из отрицательных – лень («безнравственность» - на последнем месте). Анализ 2-й части выявил определенную идентичность ответов обеих групп респондентов. При этом качество «справедливость» студенты поставили на последнее место. Соответственно «предвзятость» среди отрицательных качеств оказалась на 1-м месте, а «злобность» и «безразличие» вошли в шестерку. Качества личности «реальных» студентов все респонденты оценили примерно одинаково.

Наше исследование показало, что преподаватели и студенты четко представляют, какими личностными качествами должен обладать «идеальный» преподаватель и «идеальный» студент, и какими не должен. Что очень важно: преподаватели и студенты знают друг про друга абсолютно всё (и сильные и слабые стороны личности). Если полученные результаты будут приняты к сведению, это может обеспечить улучшение взаимопонимания между преподавателями и студентами, что позволит повысить эффективность процесса обучения.

ДЛЯ ЗАМЕТОК И ЗАПИСЕЙ

ДЛЯ ЗАМЕТОК И ЗАПИСЕЙ