

ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

Устные доклады

Антиоксидантные ферменты у природно-адаптированных к гипоксии-реоксигенации млекопитающих

Антонова Екатерина Петровна, Хижкин Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН), Россия, г.

Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, antoonkina@rambler.ru

Одним из перспективных направлений в изучении физиологической роли антиоксидантных ферментов является сравнительный анализ их активности в тканях животных различных экологических и систематических групп. По проблеме адаптации к гипоксии накоплен большой теоретический, экспериментальный и клинический материал. Вместе с тем, в биологическом исследовании основное внимание уделяется морским млекопитающим, которые подвергаются длительной гипоксии-реоксигенации во время ныряния, в то время как мелкие млекопитающие со сходной экологической специализацией практически не изучались.

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение состояния ферментативного звена антиоксидантной системы в печени, почках и сердце у представителей двух отрядов млекопитающих – Насекомоядные (водяная кутора, крот, обыкновенная бурозубка) и Грызуны (ондатра, водяная полевка, рыжая полевка, полевка-экономка, лесная мышовка, крыса), различающихся по экологическим условиям существования.

В результате исследования была выявлена ткане- и видоспецифичность активности антиоксидантных ферментов. В сердце максимальной активностью изучаемых ферментов (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза) обладала бурозубка обыкновенная, имеющая уровень метаболизма в 2-3 раза выше, чем другие млекопитающие того же размера. Наибольшая активность СОД наблюдалась в печени полуводного вида ондатры, минимальная активность данного фермента обнаружена в почках и сердце полевки-экономки. По результатам кластерного анализа наибольшее сходство по исследуемым показателям в сердце имели виды, испытывающие функциональную нагрузку на организм, связанную с дефицитом кислорода, это полуводные виды – ондатра, водяная полевка и кутора, а также крот, ведущий подземно-роющий образ жизни и лесная мышовка, обладающая способностью впадать в зимнюю спячку. Таким образом, активность антиоксидантных ферментов может существенно различается даже у таксономически близких видов млекопитающих и определяется, прежде всего, их экологическими особенностями и адаптацией животных к гипоксии-реоксигенации.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента НШ-1410.2014.4, РФФИ (№ 12-04-31368), программы «УМНИК-2013» и программы стратегического развития ПетрГУ с использованием оборудования Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН.

Сравнительный анализ цитопротекторного действия APC и нового пептида-агониста PAR1 на активированные тучные клетки и гиппокампальные нейроны при кокультивировании

Бабкина Ирина Игоревна

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, irinababkina92@gmail.com

В воспалении важная роль принадлежит ключевым протеиназам гемостаза, тромбину и активированному протеину С (APC), и их эффекторным тучным клеткам (ТК), которые участвуют в развитии быстрого ответа при воспалении. При активации ТК секретируют протеиназы, медиаторы воспаления, в том числе, гистамин, воздействующий на другие клетки в

очаге повреждения. Гистамин - нейротоксический фактор. При инсультах происходит активация ТК мозга, что приводит к разрушению ГЭБ и дополнительно стимулирует гибель нейронов. В очаге поражения появляются про- и анти-коагулянтные протеиназы гемостаза и развивается процесс тромбообразования.

Сейчас актуален поиск триггеров развития воспаления после травматического повреждения тканей мозга и создание синтетических аналогов эндогенных регуляторов с целью разработки способов их быстрого и эффективного восстановления. К ним относятся агонисты PAR1 рецептора, в том числе APC с цитопротекторной и противовоспалительной активностью.

В нашей работе проведено сравнительное исследование влияния APC (10nM) и нового синтетического агониста PAR 1 – пептида (Pep)9(10μM), на активацию ТК, вызванную предобработкой клеток LPS (1 μg/ml) и TNFα (50ng/ml); и на выживаемость гиппокампальных нейронов при ко-культивировании с ТК.

В ходе исследования для создания модели инсульта использовали ко-культуру 10DIV гиппокампальных нейронов, полученных от новорожденных крысят, с предобработанными ТК. ТК выделяли из перитонеальной полости самцов крыс линии Вистар. Оценку функционального состояния нейронов при ко-культивировании с «воспаленными»ТК проводили с помощью флуоресцентных красителей (Hoechst, Syto13, этидий бромид), а цитологический состав - иммуноцитохимическим окрашиванием клеток.

Мы обнаружили, что Pep9 (10μM), подобно APC, индуцировал снижение секреции гистамина «воспаленными» ТК, что свидетельствует о стабилизации ТК. Показано, что предобработка ТК Pep9, так же как APC, вызывает повышение выживаемости нейронов и снижение апоптоза клеток по сравнению с группами без добавления этих протекторов.

Таким образом, было показано, что синтетический Pep9, подобно эндогенному регулятору APC, индуцирует снижение секреторной активности ТК; а также оказывает нейропротекторное действие. Полученные данные свидетельствуют о том, что Pep9 в перспективе может быть использован как стабилизатор ТК при нейродегенеративных процессах.

Исследование физиологических механизмов действия порошка куркумы длинной (*Curcuma longa*) на углеводный обмен при сахарном диабете у крыс

Гайдарова Анна Павловна

ФБГОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет; Институт естественных и социально-экономических наук, Новосибирск, Россия,

anna-gajdarova@yandex.ru

Для выявления влияния куркумы на углеводный обмен на фоне алаксановой модели сахарного диабета был проведен эксперимент на крысах линии Wistar (n=81). Все животные были поделены на 4 группы: 1 (К) и 2 (К+К) группы – интактные крысы, животным 3 (СД) и 4 (СД+К) групп вводили 10% - ый раствор аллоксана (0,1 мл/100 г м.т.), при этом крысы 2 и 4 групп дополнительно получали с кормом порошок куркумы из расчета 2% от массы корма. В течение послеинъекционного периода у всех крыс на 1, 3 и 6 сутки для определения содержания сахара брали пробы крови объемом 0,2 мл путем надсечки хвоста. Исследование интенсивности всасывания глюкозы в кишечнике проводилось *in vivo* путем заполнения 2 мл 30% раствора глюкозы мобилизованного отрезка тонкой кишки длиной ~ 20 см, при сохранности его иннервации и кровоснабжения, в течение часа под наркозом барбиталом натрия из расчета 0,1 мл/100 г массы тела внутримышечно.

Концентрацию глюкозы в крови и перфузируемом растворе определяли пикриновым методом по интенсивности цветной реакции на спектрофотометре. Концентрации гормонов

(инсулина, С-пептида) определяли иммуноферментным методом с помощью стандартных наборов на планшетном спектрофотометре. Морфологическая структура поджелудочной железы изучалась методом световой микроскопии. Определение содержания гликогена в печени осуществлялось с помощью ШИК-реакции по Мак-Манусу с измерением интенсивности окрашивания на спектрофотометре. Статистический анализ результатов исследования проводили на основе определения средних арифметических (М) и их ошибок ($\pm m$). Расчеты производили по общепринятым формулам с использованием стандартных программ пакета Statistica 7.0.

Под влиянием приема порошка корневища растения куркумы длинной у крыс с сахарным диабетом по сравнению с аналогичными животными, находящимися на стандартном корме, наблюдалось менее выраженное повышение концентрации глюкозы в крови (К – $4,4 \pm 0,07$; К+К – $2,2 \pm 0,15^*$; СД – $16,1 \pm 0,30^*$; СД+К – $5,3 \pm 0,15^{*\Delta}$ ммоль/л), тенденция к уменьшению интенсивности всасывания глюкозы в тонком кишечнике (К – $40,2 \pm 8,8$; К+К – $25,6 \pm 7,1^*$; СД – $92,5 \pm 2,4^*$; СД+К – $86,2 \pm 4,1^*$ %), более высокая концентрация инсулина (К – $3,1 \pm 0,23$; К+К – $2,9 \pm 0,23$; СД – $1,9 \pm 0,18^*$; СД+К – $2,3 \pm 0,5$ мЕ/мл) и С-пептида (К – $3,2 \pm 0,33$; К+К – $2,6 \pm 0,15$; СД – $2,0 \pm 0,30^*$; СД+К – $2,3 \pm 0,26^*$ нг/мл) в плазме, а также достоверное увеличение уровня гликогена (К – $886,6 \pm 45,2$; К+К – $728,0 \pm 64,4^*$; СД – $457,6 \pm 33,9^*$; СД+К – $748,7 \pm 56,4^\Delta$ нг/мл) в печени. При изучении микроструктуры образцов ткани поджелудочной железы экспериментальных животных на фоне приема фитопрепарата отмечена большая сохранность островкового аппарата по сравнению с группой животных в условиях стандартного питания.

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии корневища растения куркумы длинной на гомеостатические механизмы регуляции углеводного обмена при аллоксан-индуцированном сахарном диабете.

Эндогенные АФК и кратковременная пластичность в нервно-мышечном синапсе лягушки

Гарифуллина Юлия Наилевна, Гиниатуллин А.Р.

*Казанский государственный медицинский университет, педиатрический факультет,
Казань, Россия, sulla80@mail.ru*

Ранее в экспериментах на изолированных нервно-мышечных препаратах портняжных мышц лягушек (*Rana Ridibunda*) было показано, что H_2O_2 в зависимости от концентрации, оказывает двунаправленный эффект на процесс секреции медиатора из двигательного нервного окончания. В физиологических, низких концентрациях ($\leq 1-50$ мкмоль/л), H_2O_2 усиливал секрецию ацетилхолина в ответ на низкочастотную стимуляцию двигательного нерва (0,05Гц), увеличивая амплитуду тока концевой пластинки (ТКП), тогда как более высокие концентрации (100-300 мкмоль/л), обратимо угнетали этот процесс, уменьшая амплитуду ТКП. H_2O_2 является одной из самых долгоживущих мембранно-проникающих активных форм кислорода (АФК), постоянно образуется в области нервно-мышечного синапса при активации пресинаптических P_2Y_{12} рецепторов. Учитывая это и ранее полученные нами данные о тоническом образовании АФК в мотонейроне, нам представилось интересным исследовать влияние низких физиологических концентраций H_2O_2 на один из типов кратковременной синаптической пластичности – фасилитацию (облегчение секреции медиатора) при парной стимуляции двигательного нерва с различными межимпульсными интервалами.

При низкой частоте (0,05Гц) стимуляции двигательного нерва, H_2O_2 в концентрации 3 мкмоль/л приводила к увеличению амплитуды ТКП и квантового состава, что согласовалось с ранее полученными нами данными. Амплитуда ТКП к 20 минуте аппликации H_2O_2 составляла

120±3,2% от контрольных значений (n=9; p<0.05). Эффект H₂O₂ имеет пресинаптическую природу, так как амплитудно-временные параметры миниатюрных ТКП достоверно не менялись.

При применении протокола парной стимуляции двигательного нерва с различными межимпульсными интервалами ($\Delta t=5, 7, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 500$ мс), в контроле наблюдалась значительная фасилитация амплитуды второго ТКП по сравнению с первым в паре, наиболее ярко выраженная при коротких межимпульсных интервалах, что согласуется с литературными данными. В экспериментах с аппликацией 3 мкМоль/л H₂O₂, двигательный нерв стимулировали с частотой 0,05Гц в течение 10-11 минут, наблюдая за развитием эффекта пероксида на амплитуду ТКП, а потом переходили на парную стимуляцию без отмывки препарата. Полученные результаты, позволяют говорить о том, что H₂O₂ достоверно уменьшает выраженность фасилитации – облегчения секреции медиатора при парной стимуляции. В дальнейшем было показано, что прооксидант FeSO₄ (100 мкМоль/л) и L-бутионин сульфоксмин (130 мкМоль/л) – снижающий уровень глутатиона клетки, достоверно уменьшали выраженность фасилитации. Инкубация нервно-мышечных препаратов в растворе Рингера содержащим паракват дихлорид (50-100 мкМ), также приводила к снижению выраженность фасилитации в парах. В основе биохимических изменений, возникающих под влиянием параквата, лежит катализируемая или одноэлектронная окислительно-восстановительная реакция, приводящая к истощению клеточного НАДФН /глутатиона и образованию потенциально токсичных форм кислорода (супероксидный радикал). Антиоксиданты каталаза, а так же ПЭГ каталаза (мембранно-проникающая форма фермента разрушающего эндогенную H₂O₂), не меняли или слегка увеличивали фасилитацию в парах. На основании результатов, полученных в данном исследовании, можно предположить, что эндогенная H₂O₂, в низких, физиологических, концентрациях снижает выраженность феномена фасилитации.

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-00106-а и 12-04-33195 мол_а_вед.

Исследование противосудорожного действия наносомальной формы карбамазепина и комплекса карбамазепин-циклодекстрин

¹Зыбина Анна Михайловна, ²Ашакова Анастасия Владимировна

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Россия, Москва, ancula888@gmail.com; ²ООО "НПК "Наносистема" и РХТУ им.

Д.И.Менделеева, Россия, Москва, anshakova_a@mail.ru

1. Карбамазепин (CBZ) является одним из антиэпилептических препаратов (АЭП) первого выбора, однако недостатком карбамазепина являются выраженные побочные эффекты, обусловленные применением высоких доз препарата и отсутствием внутривенной формы препарата, что ограничивает его применение в случаях обеспечения неотложной терапии карбамазепином. Таким образом, целью нашей работы является исследование новых внутривенных форм препарата: наносомальной (CBZ-NP) и комплекса CBZ- циклодекстрин (CBZ-CD).

2. В работе были использованы самцы крыс линии Wistar весом 200 гр. Определение противосудорожного действия различных форм CBZ проводился на изониазидовой модели эпилепсии (INH 300 мг/кг i.p.).

3. В работе было показано, что внутривенное введение CBZ-NP и CBZ-CD эффективно снижает тяжесть и продолжительность судорог. Эта эффективность соотносится с таблетированной формой препарата и с внутривенным введением субстанции карбамазепина.

Кроме того, показано снижение эффективной дозы препарата (1-5 мг/кг для CBZ-NP и CBZ-CD внутривенно) по сравнению с таблетками (300 мг/кг) и с введением субстанции CBZ внутривенно (30 мг/кг).

4. Снижение эффективной дозы CBZ в наносомальной форме и в комплексе с циклодекстрином при внутривенном введении по сравнению с другими формами этого препарата подтверждает актуальность создания альтернативных систем доставки лекарственных веществ. Можно полагать, что применение препарата в форме CBZ-NP и CBZ-CD позволит также снизить побочные эффекты препарата за счет снижения дозы, а также будет способствовать преодолению лекарственной резистентности.

Противо- и провоспалительное действие ацетил-пролил-глицил-пролина (AcPGR)

Куренкова Анастасия Дмитриевна

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,

n_kurenkova@mail.ru

Ранее было показано, что регуляторный пептид пролил-глицил-пролин (PGR), образующийся в очаге воспаления из коллагена, обладает противовоспалительным действием, снижая секрецию медиаторов воспаления тучными клетками. В организме при действии различных факторов PGR может ацетилироваться с N-конца, с образованием AcPGR. Обе формы пептида способны привлекать нейтрофилы в очаг воспаления, но AcPGR является значительно более сильным (в 30-40 раз) хемоаттрактантом, что позволяет рассматривать его как провоспалительный агент. Сведения о действии AcPGR на тучные клетки в литературе отсутствуют.

В связи с этим цель нашей работы - сравнить действие PGR и его ацетилированной формы AcPGR на секрецию гистамина изолированными тучными клетками, и на развитие отёка лапы крысы, вызванного подкожным введением гистамина.

Эксперименты *in vitro* проводили на изолированных перитонеальных тучных клетках крыс. Количество секретируемого гистамина определяли методом, основанным на реакции конденсации гистамина с ортофталевым альдегидом с образованием флуоресцентного комплекса. Тучные клетки ($2,25 \cdot 10^5$ кл/проба) инкубировали в течение 10 минут при 37°C с исследуемыми пептидами ($6 \cdot 10^{-5}$ М), а затем активировали аналогом АКТГ (1-24) – синактеном (20 мкМ). Установлено, что PGR и AcPGR достоверно ($p < 0,05$) снижали количество секретируемого гистамина на 65 и 45 % соответственно.

В экспериментах *in vivo* пептиды вводили внутримышечно за 15 минут до индукции воспаления. Показано, что PGR, проявляя своё противовоспалительное действие, уменьшал размеры отёка лапы. Через 0,5 часа измеряемые параметры - толщина, окружность и объём, уменьшались на 19, 23 и 24% соответственно, что согласуется с известными данными. Однако, ацетилированная форма пептида напротив значимо ($p < 0,05$) увеличивала отёк. Через 0,5 часа толщина, окружность и объём увеличивались по сравнению с контрольными значениями на 27, 30 и 16% соответственно.

Таким образом, ацетилированная форма пептида, несмотря на способность снижать секрецию тучными клетками провоспалительного медиатора гистамина, в условиях *in vivo* может проявлять провоспалительные свойства.

Семакс нормализует поведение крыс, нарушенное хроническим неонатальным введением флувоксамина

Мерчиева Светлана Анатольевна

*МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,
svetlanamerchieva@yandex.ru*

Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина – группа фармакологических препаратов, применяемых для лечения депрессии, в том числе у беременных и кормящих женщин. Флувоксамин (ФА) является представителем данного класса антидепрессантов. Целью работы явилось изучение отставленных эффектов хронического неонатального введения ФА детенышам белых крыс и оценка возможности их коррекции последующим введением препарата семакс.

Работа выполнена на детенышах нелинейных белых крыс. Крысят каждого выводка делили на 3 группы – контроль, ФА, ФА-сем. С 1 по 14 дни жизни животным групп ФА и ФА-сем внутрибрюшинно вводили ФА (10 мг/кг/день), контрольные крысы получали инъекции растворителя. С 15 по 28 дни жизни крысам группы ФА-сем интраназально вводили семакс (0.05 мг/кг/день), остальным животным - растворитель. Уровень тревожности крыс оценивали в тестах приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) (31 и 60 дни жизни) и 0-образный лабиринт (61 день жизни). Эксперименты в ПКЛ проводились в двух модификациях: в условиях низкой (однородное слабое освещение) или высокой стрессорной нагрузки (закрытые рукава затемнены, открытые – ярко освещены).

В условиях повышенной стрессорной нагрузки в тесте ПКЛ в возрасте 31 и 60 дней у животных, получавших ФА, наблюдалось достоверное снижение числа выходов и времени, проведенного на открытых рукавах, что свидетельствует о повышенном уровне тревожности крыс в стрессогенных условиях. В группе ФА-сем регистрируемые показатели были достоверно выше, чем в группе ФА и не отличались от контрольных значений.

В условиях низкой стрессорной нагрузки в ПКЛ на 31 день жизни в группе ФА отмечалось повышение количества стоек, свешиваний и времени, проведенного на открытых рукавах, что свидетельствует о снижении тревожности и усилении исследовательской активности. Введение семакса ослабляло эффекты ФА. В возрасте двух месяцев в тестах О-лабиринт и ПКЛ при однородном освещении не было выявлено достоверных отличий между группами крыс.

Можно заключить, что неонатальное введение ФА приводит к увеличению уровня тревожности в условиях, провоцирующих реакцию страха, также повышает исследовательскую активность в условиях низкой стрессорной нагрузки. Последующее введение семакса ослабляет отставленные эффекты флувоксамина.

Участие Src-киназы и тирозиновых фосфатаз в регуляции сокращения кровеносных сосудов в ответ на активацию серотониновых 5-HT_{2B} рецепторов

Миронова Галина Юрьевна

*Институт Биологии Развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия,
wereshelen@gmail.com*

Активация серотониновых рецепторов типа 2В (5-HT_{2B}) приводит к вазодилатации кровеносных сосудов в норме и к вазоконстрикции при некоторых патологических состояниях. Поскольку известно, что Src-киназа участвует в проявлении вазоконстрикторного действия серотонина, мы решили проверить ее роль в сокращении сосудов при активации 5-HT_{2B} рецепторов. Физиологический эффект, опосредованный активацией Src-киназ, подавляется

тирозиновыми фосфатазами, поэтому для его усиления и выявления вазоконстрикторного действия 5-HT_{2B} рецепторов мы применили ингибитор тирозиновых фосфатаз ортованадат натрия (Na₃VO₄).

Объектом исследования была изолированная аорта крысы. Силу сокращения изолированных колец аорты регистрировали в изометрическом режиме на миографе фирмы ADInstruments (Австралия).

В ответ на добавление Na₃VO₄ до конечной концентрации 1 мМ наблюдался выраженный сократительный эффект с последующим расслаблением. Активацию 5-HT_{2B} рецепторов осуществляли при помощи селективного агониста. Добавление агониста 5-HT_{2B} рецепторов BW723C86 к сосуду, предсокращенному ортованадатом натрия, препятствовало расслаблению, тогда как в контроле наблюдалось практически полное расслабление сосудов. Данный эффект наблюдали при добавлении малых доз агониста 1-3 мкМ, в то время как дозы от 10 мкМ вызывают стойкое расслабление сосудов и, вероятно, действуют по другому механизму. На части препаратов аорты BW723C86 в концентрации 1 мкМ не только препятствовал расслаблению, но и вызывал дополнительное сокращение сосуда. Данные экспериментов были статистически обработаны с помощью программы GraphPad Prism 6. Различия между экспериментальными и контрольными данными достоверны.

Таким образом, мы демаскировали вазоконстрикторный эффект 5-HT_{2B} рецепторов. Наши данные свидетельствуют о том, что Src-киназа опосредует вазоконстрикторное действие 5-HT_{2B} рецепторов. При этом проявление вазоконстрикторного действия 5-HT_{2B} рецепторов при патологии, возможно, связано с нарушением баланса активностей тирозиновой киназы src и тирозиновых фосфатаз.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-0951.

Динамика продукции активных форм кислорода при активации бета-2-адренорецепторов

Одношивкина Юлия Геннадиевна, Петров А.М.

*Казанский государственный медицинский университет, Россия, Казань,
Odnoshivkina_Y@mail.ru*

В последнее время появляются данные об усилении образования активных форм кислорода (АФК) в кардиомиоцитах при активации бета-2-адренорецепторов. Однако источники АФК и временной ход образования АФК в этих условиях остаются не исследованными. В представленной работе мы изучили динамику АФК при активации бета-2-адренорецепторов кардиомиоцитов изолированных препаратов предсердий мыши агонистом фенотеролом (5 мкМ).

Уровень АФК детектировали с применением маркера DCF. Получили, что при 3-х мин воздействия агониста внутриклеточная продукция АФК не изменялась, однако ее возрастание происходило в период после удаления фенотерола из среды. Ингибирование одного из главных АФК-продуцирующих энзимов, НАДФН-оксидазы, апоцинином предотвращало увеличение флуоресценции DCF.

НАДФН-оксидаза продуцирует пероксид водорода (H₂O₂), который является основной «физиологической» формой АФК. Для оценки внутриклеточного уровня пероксида применяли спектрофотометрический метод. Показали, что после удаления фенотерола происходило увеличение цитоплазматической концентрации H₂O₂.

Для оценки внеклеточного уровня H₂O₂ применяли AmplexRed реагент и пероксидазу хрена. 3-х мин инкубация препарата в указанных реагентах приводила к появлению

флуоресценции, соответствующей фоновой продукции H_2O_2 . 3-х мин обработка препарата фенотеролом приводила к увеличению флуоресценции, и отражала увеличение продукции H_2O_2 . После удаления фенотерола флуоресценция возвращалась к исходному уровню. Применение блокатора НАДФН-оксидазы также предотвращало увеличение флуоресценции, вызванное фенотеролом.

Динамику продукции АФК в митохондриях оценивали с использованием маркера MitoSoX. Оказалось, что на протяжении 3 мин аппликации фенотерола, и в первые минуты после удаления агониста изменений флуоресценции маркера, отличных от наблюдаемых в контроле не происходило. Однако через 15 минут после отмывки наблюдалось значительное увеличение флуоресценции. Блокирование I комплекса митохондрий ротеноном устраняло прирост флуоресценции маркера.

Таким образом, в течение активации бета-2-адренорецепторов фенотеролом уровень пероксида водорода увеличивается избирательно во внеклеточной среде, а после удаления агониста содержание пероксида увеличивается во внутриклеточной среде. При этом продукция H_2O_2 определяется преимущественно активностью НАДФН-оксидазы и в меньшей степени связана с деятельностью митохондрий.

Работа поддержана грантами РФФИ №14-04-00312-а и МК-108.2013.4.

Механизмы действия внеклеточного никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) на биоэлектрическую активность сердца крысы

Пустовит Ксения Борисовна

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,

k_pustovit@mail.ru

В настоящее время показано, что внеклеточный никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) может выполнять роль нейротрансмиттера, паракринного фактора. Регуляторные свойства экзогенного НАД⁺ малоизучены. Практически отсутствуют сведения о влиянии внеклеточного НАД⁺ на работу сердца. Цель данного исследования – выяснение эффектов и механизмов действия внеклеточного НАД⁺ на биоэлектрическую активность сердца крысы.

В работе оценивали влияние НАД⁺ (в сравнении с аденозином, АТФ) на потенциалы действия (ПД) в изолированных многоклеточных препаратах левого предсердия крысы (самцы стока Wistar, 250-300 г). ПД регистрировали с помощью стандартной микроэлектродной техники. Определяли длительность ПД на уровне 90% реполяризации (ДПД). В ходе экспериментов были соблюдены все требования этических норм работы с лабораторными животными.

Впервые показано, что НАД⁺ (1-100 мкМ) вызывает снижение длительности потенциалов действия в предсердном миокарде крысы (от $45 \pm 0,82$ мс в контроле до $39 \pm 1,05$ (n=8) и 32 ± 2 (n=8) при действии 10 и 100 мкМ НАД⁺, соответственно). Снижение ДПД, наблюдаемое при действии НАД⁺, отличалось по величине от такового, вызванного аденозином, АТФ, не подавлялось теofilлином – блокатором P1-пуринорецепторов. После прекращения действия НАД⁺ (100 мкМ) наблюдали значительное увеличение ДПД (от $45 \pm 0,82$ мс до $74 \pm 1,89$ (n=8) мс). Подобного эффекта не наблюдали при действии аденозина, АТФ.

Высказано предположение, что действие НАД⁺ в сердце не связано с образованием его метаболитов (АМФ, аденозина, никотинамидмононуклеотида) и активацией P1-пуринорецепторов, и может быть обусловлено несколькими механизмами, включая активацию P2-пуринорецепторов, накопление в цитоплазме кардиомиоцитов цикло-АДФ-рибозы и IP₃.

В экспериментах с регистрацией ПД на фоне бария (50 мкМ, n=10) – блокатора каналов, переносящих токи аномального выпрямления ($I_{K,Ach}$, I_K , I_{ATP}) показано, что укорочение длительности ПД, вызванное НАД⁺ полностью нивелировалось ($p(T)<0.05$).

Можно предположить, что действие внеклеточного НАД⁺, в предсердном миокарде крысы, в конечном счете, связано с усилением токов - $I_{K,Ach}$, I_{K1} или, с наибольшей вероятностью, АТФ-зависимого калиевого тока - I_{ATP} . Остаются неизвестными внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к усилению вышеуказанных токов после активации P2- или иных рецепторов внеклеточным НАД⁺.

Мутация в гене белка пресенилин-1 приводит к увеличению активности кальциевых каналов L-типа

^{1,2}Скобелева Ксения Владимировна, ²Рязанцева Мария Андреевна

¹Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет, Санкт-Петербург, Россия, ²Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия, ks.skobeleva@ya.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) – основная причина старческого слабоумия. Прогрессирование заболевания связано с накоплением амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков в нервных тканях. Амилоидные бляшки образуются в результате накопления бета-амилоида, который отщепляется гамма-секретазой от предшественника. Каталитической субъединицей гамма-секретазы является белок пресенилин-1 (PS1). В 44% всех мутаций, связанных с наследственной БА, приходится на PS1. Одна из таких мутаций приводит к делеции 9-ого экзона гена PS1 (PS1 DE9).

Многочисленные исследования свидетельствуют о нарушении кальциевой сигнализации в нейронах при БА. Кальций – важный вторичный мессенджер, необходимый, в том числе, для проведения электрического сигнала нейронами. Для изучения входа кальция в нейронах мы создали клеточную модель наследственной БА на основе первичной культуры нейронов гиппокампа мыши. Для этого мы инфицировали культуру нейронов, выделенных из гиппокампа новорожденных мышей, ленти-вирусом с конструкцией, несущей мутантный ген PS1 и ген дикого типа. Мы измеряли концентрацию кальция в цитоплазме клеток с помощью флуоресцентного агента Fura2AM.

Мы выяснили, что у нейронов, экспрессирующих мутантный PS1 увеличен вход кальция в результате деполяризации по сравнению с нейронами, экспрессирующими PS1 дикого типа. Это увеличение входа кальция блокировалось аппликацией нифедипина – ингибитора кальциевых каналов L-типа. Чтобы проверить, действительно ли в клетках, экспрессирующих мутантную форму белка PS1, нарушена функция кальциевых каналов L-типа, мы создали модель БА на основе клеток нейробластомы мышей (Neuro-2a). Для создания такой модели клетки были трансфицированы конструкциями, несущими мутантную форму гена бека PS1 и гена белка дикого типа. Так как клетки Neuro-2a являются слабо электровозбудимыми, мы трансфицировали их конструкцией, несущей ген субъединицы кальциевого канала L-типа. Измерения концентрации кальция в цитоплазме клеток подтвердили, что в модельных клетках увеличен вход кальция в клетку через кальциевые каналы L-типа.

Таким образом, в ходе работы было выяснено, что в модели БА на основе первичной культуры нейронов повышена активность кальциевых каналов L-типа.

Работа поддержана грантами: РФФИ (12-04-33083 мол_a_вед, 13-04-01078, 14-04-31280 мол_a), Zeiss («ОПТЭК»), МКБ, стипендия Президента РФ СП-2492.2013.4, НШ-1721.2014.4., программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», ERA.Net-Rus.

Особенности реакции сердца новорожденных крысят на блокаду I_f-токов

Фасхутдинов Ленар Ильсурович

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, f.lenar89@mail.ru

В настоящее время значительное внимание в изучении физиологии сердца уделяется исследованию неселективных катионных входящих токов, активируемых при гиперполяризации. Показано их доминирующее значение в реализации фазы спонтанной диастолической деполяризации потенциала действия атипичных кардиомиоцитов. В клетках синусно-предсердного узла они обозначаются как I_f и получили название «пейсмекерные токи». Неселективные катионные токи (I_h) были обнаружены также и в изолированных интракардиальных нейронах. В последние годы было показано наличие I_f и в рабочих кардиомиоцитах. В связи с этим возникла идея о возможном участии токов, активируемых гиперполяризацией в реализации не только хронотропной, но и инотропной функции сердца.

Нами был проведен сравнительный анализ хронотропной (*in vivo*) и инотропной (*in vitro*) реакции сердца крыс 1-но недельного возраста на блокаду токов, активируемых гиперполяризацией (I_f) блокатором ZD 7288. В экспериментах *in vivo* исследовали дозозависимую реакцию ЧСС в ответ на введение блокатора. При введении ZD 7288 в дозе 0,007 мг/кг, наблюдалось плавное уменьшение ЧСС в течение получаса после введения препарата, значение X_{ср} возросло на 19% (p<0.05). При введении дозы 0,021 мг/кг наблюдалось еще более выраженное урежение, значение X_{ср} увеличилось на 54% (p<0.05). При введении ZD 7288 в дозе 0,07 мг/кг массы животного, наблюдался еще более выраженный эффект урежения сердечной деятельности, значение X_{ср} увеличилось на 80,4%. При введении блокатора в дозе 0,7 мг/кг наблюдалось наибольшее увеличение значения X_{ср} (224%).

In vitro изучалось влияние ZD 7288 в концентрации 0,2 моль/л на силу сокращения полосок миокарда предсердий и желудочков. Добавление блокатора I_f вызывало увеличение силы сокращений полосок миокарда предсердий на 48% (p≤0,01), полосок миокарда желудочков - на 12% (p≤0,01).

Таким образом, введение блокатора ZD 7288 приводит к изменению хронотропии и инотропии сердца. Наблюдалось уменьшение ЧСС, которое наиболее выражено при максимальной дозе и увеличение силы сокращений миокарда предсердий и желудочков. Это, возможно, свидетельствует о том, что эти токи регулируют не только ритм, но и сократительную активность кардиоцитов у животных этого возраста.

Роль мускариновых и никотиновых рецепторов в реализации эффектов холиномиметиков на вход кальция в нервно-мышечном соединении лягушки

Хазиев Эдуард Фаритович

*Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра РАН, Казань, Россия, eduard.khaziev@gmail.com*

В нервно-мышечном соединении холоднокровных и теплокровных ацетилхолин является основным нейротрансмитером, ответственным за передачу сигнала между нервом и мышцей. Также ацетилхолин может оказывать модулирующую функцию на процесс нейросекреции посредством пресинаптических никотиновых и мускариновых ауторецепторов. Активация этих рецепторов может приводить к изменению кальциевого метаболизма в нервном окончании, что, в свою очередь, изменяет параметры нейросекреции. Нами было показано, что карбахолин (негидролизуемый аналог ацетилхолина) оказывает угнетающее действие на вход кальция. В данной работе проверяли гипотезу о связи эффектов холиномиметиков с модуляцией уровня концентрации ионов кальция в нервном окончании лягушки. Изучали действие специфических

антагонистов никотиновых и мускариновых рецепторов на относительное изменение уровня Ca^{2+} (Ca^{2+} -транзистент) в ответ на нервный импульс в нервной терминали изолированного нервно-мышечного препарата *m.cutaneus pectoris* озёрной лягушки *Rana ridibunda*. Ca^{2+} -транзистент в пресинаптическом нервном окончании измеряли при помощи Ca^{2+} -чувствительного флуоресцентного красителя Oregon Green Bapta 1 (50 мМ) и производили оптическую регистрацию сигналов фотодиодом.

Выявляли подтипы мускариновых рецепторов, задействованных в реализации угнетающего действия карбахолина на Ca^{2+} -транзистент. Метакрамин (10 нМ), блокатор m2/m4-подтипов мускариновых рецепторов, снимал угнетающее действие мускарина, агониста мускариновых рецепторов. В присутствии пирензепина (100 нМ), блокатора m1/m3-подтипов, мускарин по-прежнему снижал Ca^{2+} -транзистент, как и в отсутствии блокатора. Можно заключить, что действие холинергических агентов на Ca^{2+} -транзистент связано с активацией никотиновых рецепторов и мускариновых рецепторов m2/m4-подтипа.

Далее применяли блокаторы никотиновых рецепторов MLA и мекамиламин. MLA в концентрации 10 мМ блокирует $\alpha 7$ -подтип. Известно, что мекамиламин в концентрациях 640 нМ, 2,5 мМ, 3,6 мМ, 6,9 мМ блокирует, соответственно, $\alpha 3\beta 4$ -, $\alpha 4\beta 2$ -, $\alpha 3\beta 2$ -, $\alpha 7$ -подтипы никотиновых рецепторов. Эксперименты показали, что антагонисты MLA и мекамиламин не устраняют угнетающего действия никотина на Ca^{2+} -транзистент.

В следующей серии экспериментов изучали действие α -бунгаротоксина (20 мМ), блокирующего постсинаптические никотиновые рецепторы. α -бунгаротоксин снижал Ca^{2+} -транзистент на $10 \pm 6\%$. При этом применение α -бунгаротоксина устраняло действие никотина.

По результатам проведенных экспериментов можно заключить, что действие холиномиметиков опосредовано пресинаптическими мускариновыми рецепторами m2/m4-подтипа и постсинаптическими никотиновыми рецепторами.

Работа поддержана грантами РФФИ-13-04-00886 и «Ведущая научная школа».

Роль β -казоморфина-7 в коррекции нарушений материнского поведения крыс, вызванных пренатальным воздействием вальпроата натрия

Хачева Кристина Константиновна, Гедзун В.Р., Рогозинская Э.Я., Танаева К.К.

Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия,

christina.khacheva@gmail.com

Пренатальное воздействие вальпроевой кислоты описано как модель нарушения зоосоциального взаимодействия у крыс, в том числе и как модель материнской депрессии. Введение β -казоморфина-7 в ранний постнатальный период стимулирует поведенческую активность детенышей, а также их способность к обучению и стремление к взаимодействию с самкой. В данной работе исследованы эффекты сочетания этих двух воздействий.

Самкам линии Wistar однократно вводили внутривентриально вальпроат натрия в дозе 600 мг/кг на 13 день беременности. Родившихся детенышей разделили на две группы. Группе I (n=4) с 1 по 14 дни жизни вводили внутривентриально β -казоморфин-7 (YPFVEPI) в дозе 1 мг/кг. Животным группы II (n=11) вводили воду для инъекций в том же объеме. Крысы контрольной группы (группа III, n=5) получали инъекции воды как в пре-, так и в постнатальном периоде. Детенышей (самок) дорастивали до взрослого возраста и, после родов, использовали для тестирования материнского поведения.

Оценка материнских реакций проводилась на 4, 5, 6 послеродовые дни в арене открытого поля, в центре которого располагались три детеныша. Оценивали параметры материнского

поведения (латентный период первого подхода к чашке, общее число таких подходов, число переносов и латентный период переноса каждого детеныша) при красном и ярком освещении.

По результатам работы, на 4 день после родов достоверных отличий материнского поведения самок групп I и II не наблюдалось. Однако на 5 и 6 дни у крыс, получавших β -казоморфин-7, наблюдалось достоверное увеличение количества подходов к детенышам при красном свете, а также тенденции к увеличению числа переносов при красном освещении, подходов и переносов детенышей при ярком освещении по сравнению с группой II.

При сравнении групп I и III в первый день тестирования число подходов при красном свете было достоверно больше ($p < 0.05$) в группе контроля, но к 5-6 дням различия материнского поведения самок этих двух групп сокращались ($p > 0.6$).

Таким образом, реакции самок, получавших вальпроат пренатально и β -казоморфин-7 после рождения, в первый день тестирования практически не отличались от поведения крыс, которым вводили только вальпроевую кислоту. На 5 и 6 дни после родов их материнское поведение приблизилось к контрольному уровню.

Следовательно, корректирующее действие β -казоморфина-7 проявляется не столько за счет повышения базового уровня материнской мотивации, сколько путем активации процессов обучения, происходящих на ее основе.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00756а.

Изучение экспрессии генов белков, функционально связанных с мембранным сенсором щёлочи IRR

^{1,2}*Шаяхметова Динара Маратовна, ¹ Горшкова М.В., ¹ Радионов Н.В., ¹ Деев И.Е., ³ Эладари Д., ¹ Петренко А.Г.*

1. Федеральное государственное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; 2. ФГБОУ ВПО Российский Государственный Аграрный университет - МСХА им.К.А. Тимирязева, Москва; 3. Университет Декарта, Париж, E-mail: dinara903@yahoo.com

В отличие от своих близких гомологов, которые присутствуют в широком спектре тканей и клеток, IRR синтезируется только в определенных тканях и в небольших популяциях клеток. Наибольшее количество IRR выявлено в почках, где он находится лишь в β -вставочных клетках (beta-intercalated cells), субпопуляции эпителиальных клеток, выстилающих дистальные каналцы. Эти клетки контактируют с почечным фильтратом, pH которого, в отличие от крови, может существенно изменяться, в том числе и в щелочную сторону. Было обнаружено, что IRR, в отличие от его гомологов, способен активироваться при $pH > 8.0$ и является клеточным сенсором слабощелочной внеклеточной среды. IRR – это рецепторная тирозинкиназа, принадлежащая к мини-семейству инсулинового рецептора, в которое входят рецепторы инсулина и инсулиноподобного фактора роста.

Цель исследования — анализ изменения экспрессии генов у мышей, нокаутных по гену рецептора IRR и выявление роли белков в регуляции кислотно-щелочного равновесия. Для исследования роли рецептора IRR в регуляции гомеостаза в живом организме, мы провели сравнение транскриптомов из почек littermates мышей дикого типа и мышей, нокаутных по гену *insrr*. Мы обнаружили изменение уровня экспрессии ряда генов в почках мышей, нокаутных по гену *insrr*. Анализ экспрессии этих генов проводился с использованием метода высокопроизводительного параллельного секвенирования библиотек кДНК на платформе Illumina. Наиболее интересными нам показались гены, которые мы разделили на 3 класса. К первому классу относятся гены, кодирующие белки, необходимые для функционирования

почек, выполняющие обмен ионов: Pendrin – Na-независимый хлорид/йодид транспортер, Aquaporin-2 – белок собирательных трубочек почек, формирующий поры для переноса воды в мембранах клеток. Ко второму классу относятся гены, кодирующие белки, участвующие в процессе эритропоэза: 40 S рибосомальный белок, Hemoglobin alpha, Hemoglobin subunit beta-1, рецептор эритропоэтина (Erythropoietin receptor). Эритропоэтин является одним из гормонов почек, стимулирующим эритропоэз. Он активирует созревание эритроцитов из клеток-предшественников эритроцитарного ряда. К третьему классу относятся гены, кодирующие белки, участвующие в реакциях сигнального каскада рецептора инсулина: ген *igfbp2*, кодирующий белок Insulin-like growth factor-binding protein 2, наличие которого оказывает стимулирующее воздействие на межклеточные связи и механизмы, лежащие в основе долговременного запоминания, ген *irs 3*, кодирующий белок Insulin receptor substrate 3, ген *igf2*, кодирующий белок Insulin-like growth factor II.

Анализ экспрессии генов *pds* и *aqp2* с использованием метода Taqman Real Time PCR показал, что экспрессия гена *pds* у мышей, нокаутных по гену *insrr* в 1,7 раз меньше, чем у мышей дикого типа, а экспрессия гена *aqp2* в 3 раза выше у мышей, нокаутных по гену *insrr*, по сравнению с мышами дикого типа. Для подтверждения изменения уровня экспрессии белков Pendrin и Aquaporin-2 в почках, мы сделали окрашивание одинаковых количеств тотального лизата из почек мышей дикого типа и мышей, нокаутных по гену *insrr*, антителами, специфичными к этим белкам и подтвердили аналогичное изменение экспрессии на уровне белков. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 12-04-91054-НЦНИ_а, 13-04-90481-Укр_ф_а, 13-04-01359_а), Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки - медицине».*

АМФ-активируемая протеинкиназа регулирует активность пути эндотелиального гиперполяризующего фактора в артериях брыжейки крысы

Швецова Анастасия Алексеевна, Моргунова Галина Васильевна

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия, shvecova92@mail.ru

Активация АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК) с помощью вещества АICAR (5-аминоимдазол-4-карбоксимид-рибонуклеозид) приводит к расслаблению гладкой мышцы артерий. В артериях резистивного типа влияние АICAR исчезает после удаления эндотелия, тогда как блокада путей NO и простаглицлина лишь уменьшает эффект активации АМПК, но не устраняет его. Целью работы было проверить гипотезу о том, что релаксирующее влияние АМПК в артериях связано с повышением активности еще одного механизма эндотелий-зависимой регуляции - пути эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF).

В работе использовали самцов крыс Вистар с массой тела 325–472 г. Из артерий брыжейки вырезали сегменты длиной 2 мм и закрепляли их в миографе для регистрации реакций в изометрическом режиме (wire myograph, DMT A/S). Исследовали эффекты активации АМПК с помощью вещества АICAR (100 мкМ, инкубация в течение 60 мин) на сокращение артерий, вызванное агонистом α_1 -адренорецепторов метоксамином (МХ).

Для подавления активности EDHF-пути на уровне эндотелия мы проводили блокаду кальций-зависимых калиевых каналов малой (SK_{Ca} , UCL1684, 10^{-7} М) и средней (IK_{Ca} , TRAM-34, 10^{-6} М) проводимости, которые локализованы в эндотелиальных клетках; это приводило к выраженному уменьшению релаксирующего влияния АICAR. Для подавления активности EDHF-пути на уровне гладкой мышцы проводили блокаду Na^+/K^+ АТФазы (уабаин, 10^{-5} М) и калиевых каналов входящего выпрямления (Ba^{2+} , $3 \cdot 10^{-5}$ М); это приводило к практически полному устранению эффекта АICAR – статистически значимого уменьшения сократительного

ответа артерий на метоксамин не наблюдали. Одним из кандидатов на роль EDHF является монооксид углерода (CO), который может синтезироваться в ткани артерий ферментом гемоксигеназой. Однако в нашей работе блокада гемоксигеназы (Sn-протопорфирин, 10^{-5} М) не привела к уменьшению релаксирующего эффекта AICAR.

Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что вазорелаксирующее влияние АМПК связано с активацией EDHF пути. Расслабление артерий под действием AICAR не связано с активацией гемоксигеназы и продукцией CO.

Стеновые доклады

Effect of *Stevia rebaudiana* Bertoni and *Cichorium intybus* L. on the progression of Diabetes induced by a High-Fructose Diet in Rats

¹*K. V. Simonyan, ²M.A. Babakhanyan, ¹V. A. Chavushyan, ¹K.O. Nahapetyan, ²L.E. Hovhannisyanyan, ²H.Yu. Hovsepyan*

¹*Orbeli Institute of Physiology, NAS RA; ²G.S.Davtyan Institute of Hydroponics Problems, NAS RA*

Natural remedies from medicinal plants are considered to be effective and safe alternatives to treat diabetes mellitus. *Stevia rebaudiana* Bertoni commonly known as sweet leaf is a perennial shrub and is a member of Asteraceae family. Its medicinal use includes regulating blood sugar, preventing hypertension, treatment of skin disorder, and prevention of tooth decay. The extracts of Stevioside *rebaudiana* could decrease the blood glucose level in diabetic rats in time dependent manner. *Cichorium intybus* L., commonly known as Chicory or Kasni (among Iranian folk), has been used in traditional medicine to treat a variety of diseases including high blood sugar. The purpose of this study was to study the effect of *Stevia* and *Cichorium* tablets on fructose-induced diabetes rats. The present study was designed to investigate the hypoglycemic properties of hydroponic *Cichorium* and *Stevia* (enriched by endemic microelements iodine and zinc) dry extract which are widely used as a traditional treatment for diabetes mellitus.

Methods: Blood glucose was determined before and 3 weeks after administration of herbal preparation. Ten Albino rats were randomly divided into three groups. The results were expressed as mean±standard deviation. In the present study, we tested the effect of *Chicorium*+ *Stevia* tablets (0.25+0.25 g/kg) *Chicorium*+ *Stevia* tablets (0.4+0.1g/kg) and in rats fed on an fructose-rich diet (10%, w/v) for 3 weeks. The accumulating epidemiological evidence, direct clinical evidence, and the evidence suggesting plausible mechanisms support a role for fructose in the epidemics of metabolic syndrome. The blood glucose concentrations of the animals were measured at the beginning of the study and the measurements were repeated on 21rd, 42th days and compared with Glibenclamide group.

Results: Compared to control group (initial mean 91.2 mg/dL, 87.8 mg/dL), daily administration of fructose was associated with significant increase in blood glucose (149.4 mg/dL, 139.2 mg/dL). Rats treated with *Chicorium*+*Stevia* (0.4+0.1g) for 21 days showed decrease in blood glucose level (85.6 mg/dL), *Chicorium*+*Stevia* (0.25+0.25g) (85.6 mg/dL). Diabetic rats given Glibenclamide (10 mg/kg/day) for 21 days orally showed decrease in blood glucose level (79.6 mg/dL, initial 81.4 mg/dL, after 3 weeks of fructose administration -170.6 mg/dL).

Conclusion: Thus, the results show that *Stevia* and *Chicorium* possess an antihyperglycemic activity and provide evidence for traditional usage in the control of diabetes and metabolic syndrome and could ameliorate diabetic state.

Создание новой модели экспериментального аутоиммунного увеита

¹Аверина Ольга Александровна, ²Ганчарова О.С., ³Манских В.Н.

1МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия; 2 НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; 3 ООО «НИИ Митоинженерии МГУ», Москва, Россия, averina.msu.biophys@gmail.com

Увеит – это общий термин, обозначающий воспаление сосудистой оболочки глаза. В настоящее время проблема лечения увеитов является одной из важнейших в офтальмологии во всем мире. Пациенты с увеитами и их осложнениями составляют от 5 до 18 % больных глазных стационаров. В настоящее время для лечения увеита используют кортикостероиды, нестероидные противовоспалительные препараты и иммунодепрессанты. К сожалению, ряд препаратов, активно используемых в практике, имеет много противопоказаний. Поэтому поиск новых средств для лечения увеитов относится к числу актуальных проблем офтальмологии во всем мире.

Традиционно, для изучения терапевтической эффективности препаратов для лечения глазных заболеваний в фармакологических исследованиях используют кроликов. Это вызвано тем, что по своим анатомическим свойствам глаз кролика близок к человеческому, что позволяет уже на стадии доклинических испытаний подобрать оптимальную дозу лекарственного препарата. В настоящее время в литературе описаны многочисленные экспериментальные модели целого ряда глазных заболеваний. Однако в настоящее время какой-либо информации о модели аутоиммунного увеита кроликах в литературе отсутствует.

Целью настоящей работы стало создание экспериментальной модели аутоиммунного увеита у кроликов, отличающуюся простотой моделирования, выраженной и длительной воспалительной реакцией и высокой воспроизводимостью.

Восемь кроликов породы «Шиншилла» были подкожно иммунизированы суспензией, содержащей 1 мл полного адьюванта Фрейнда и 1 мл раствора рековерина (1 мг/мл) на фосфатном буфере. Иммунизация по этой схеме проводилась дважды – на 1 и 31 день эксперимента. Глазные яблоки опытных животных фиксировали в 10% формалине. Глаза разделяли по сагиттальной оси на две половины. С залитых в парафин блоков изготавливали срезы толщиной по 3 мкм, которые окрашивали гематоксилином Карацци и эозином по общепринятому протоколу. Препараты анализировали с помощью микроскопа Axio Scope A1 («Carl Zeiss»), микрофотографирование осуществляли камерой высокого разрешения MRc.5 («Carl Zeiss»), морфометрические процедуры выполняли с помощью программы AxioVision 4.8.

Обнаруженные явления инфильтрации сетчатки и стекловидного тела, атрофии фоторецепторов, формирования узелков Далена-Фукса, соответствуют картине Th1-зависимого хронического аутоиммунного увеоретинита. В контрольных препаратах глаз сетчатка и хориоидея интактны, стекловидное тело демонстрирует нормальное количество мононуклеарных клеток – гиалоцитов. Среди опытных случаев встречаются глаза как со слабовыраженным и умеренно выраженным, так и с резко выраженным увеоретинитом, в его наиболее тяжелых случаях сетчатка субтотально атрофируется. С тяжестью поражения растет также и площадь вовлечения тканей глаза в него: в случае слабого увеоретинита инфильтрации подвергаются единичные участки сетчатки и стекловидного тела, тогда как в тяжелых случаях заболеванию подвержено более 50 процентов площади исследованных тканей.

Выводы: впервые создана экспериментальная модель аутоиммунного увеита у кроликов. Разработанная модель может послужить основой для изучения молекулярных механизмов развития аутоиммунного увеита и тестирования потенциальных лекарственных препаратов для лечения этого заболевания.

Влияние митохондриально-направленного антиоксиданта SKQ1 на поведение при острой алкогольной интоксикации у рыб *Brachydanio rerio*

Аверина О.А., Горелова А.А., Павшинцев Всеволод Вячеславович

МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1/12,

vsevolodpav@mail.ru

Алкогольная интоксикация вызывает окислительный стресс, изменение активности медиаторных систем (в частности, биоаминов и глутамата) и параметров поведения. Антиоксиданты широко используются в качестве протекторов при интоксикации, однако их общим недостатком является невозможность создания их высоких концентраций непосредственно в зоне поражения (митохондрии мозга, печени). Антиоксидант SkQ1, состоящий из пластохинона, а также «молекулы-электровоза» (гидрофобного катиона трифенилфосфония), обладает уникальной способностью проникать и накапливаться в митохондриях, а также является антиоксидантом многократного действия (так как способен восстанавливаться в дыхательной цепи), что делает его перспективным компонентом терапии острой алкогольной интоксикации.

Целью работы являлось исследование влияния курсового введения SKQ1 на параметры поведения лабораторных рыб *Brachydanio rerio* на фоне этанола. Использование рыб *Brachydanio rerio* обусловлено возможностью поддерживать заданный уровень этанола в крови в течение необходимого времени. Выбор дозы антиоксиданта в области наномолярных концентраций обусловлен высокой проникающей способностью SkQ1. Показано, что диапазон наиболее эффективных концентраций вещества лежит в наномолярной области (от 0,2 до 20 нМ для клеточных культур), при этом повышение концентраций SkQ1 в среде до миллимолярных, напротив, может привести к проявлению прооксидантного действия вещества.

Опыт поставлен на 4-х группах по 10 особей: «Интakтный контроль» (вода), «Этанол» (инкубация в 0,5% растворе этанола в течение часа до опыта и в экспериментальных камерах), «SkQ1» (10нМ раствор SkQ1 предварительно, ежедневно, 7 суток, а также в течение часа до опыта), «SkQ1+этанол» (10нМ раствор SkQ1 в том же режиме + 0,5% раствор этанола, аналогично группе «Этанол»). Поведение оценивали при помощи видеосистемы «Noldus Ethovision» в тестах: «открытое поле» (бюкс 9x24x18 см, освещенность 400 лк), «светло-тёмная камера» (бюкс 9x24x18 см из двух отсеков: освещенного и закрытого черной пленкой со всех сторон), «стайный рефлекс» (бюкс 15x21x11 см, разделенный на две равные части: одна для экспериментального животного, другая содержит группу из 6 рыб).

Этанол увеличивает среднюю скорость и длину пути (на 34% и 35%, $p < 0,05$), а также на 71% ($p < 0,01$) снижает время, проведенное вблизи стай, увеличивает число выходов на свет на 50% ($p < 0,05$), что говорит о гиперактивности и снижении чувствительности рыб к стрессирующим стимулам. Хотя SkQ1 сам по себе также увеличивает скорость и длину пути (на 39% и 59% , $p < 0,05$), снижает тревожность (число отходов от дна 310% к контролю, $p < 0,05$), однако в сочетании этанолом он предотвращает развитие гиперактивности и возвращает стрессируемость к значениям интактного контроля.

Неселективность действия блокатора $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника KB-R7943

Алексеева Евгения Искандеровна

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,

sella2003@mail.ru

Несмотря на очевидное значение тока $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника (NCX) в обеспечении электрической активности кардиомиоцитов, долгое время в распоряжении исследователей отсутствовали селективные блокаторы NCX. Вещество KB-R7943 (2-[2-[4-(4-нитробензилокси)фенил]этил]изотиомочевина) было предложено как селективный ингибитор NCX для экспериментального и терапевтического применения. Однако в последнее время было установлено, что к действию KB-R7943 чувствителен не только ток $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника (I_{NCX}), но и быстрый калиевый ток задержанного выпрямления. В данной работе мы исследовали чувствительность токов входящего выпрямления: фонового (I_{K1}) и ацетилхолинзависимого (I_{KAch}) к KB-R7943.

Работа проводилась стандартным методом *patch clamp* в конфигурации *whole cell* на предсердных и желудочковых кардиомиоцитах. Поскольку в последнее время рыбы приобретают все большее значение в качестве модели для скрининга кардиоактивных соединений, то помимо крысы (*Rattus norvegicus*) эксперименты проводились на золотом карасе (*Carassius carassius*). Регистрация токов входящего выпрямления осуществлялась в присутствии селективных блокаторов прочих ионных токов.

Было показано, что ток I_{KAch} как у крысы, так и у карася еще более чувствителен к действию KB-R7943, чем ток I_{NCX} , т.е. подавляется при более низких концентрациях блокатора. Концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) для I_{KAch} составляют $6,2 \times 10^{-7}$ М и $2,5 \times 10^{-7}$ М для кардиомиоцитов крысы и карася соответственно, когда для I_{NCX} IC_{50} имеет на порядок большее значение ($1,9-3 \times 10^{-6}$ М). В свою очередь базальный ток I_{K1} желудочковых кардиомиоцитов обладает чувствительностью к KB-R7943 того же порядка, что и I_{NCX} : $4,6 \times 10^{-6}$ М и $3,5 \times 10^{-6}$ М для крысы и карася соответственно.

Таким образом, I_{KAch} является наиболее чувствительным током к KB-R7943. Чувствительность исследуемых токов повышается в следующем порядке $I_{\text{K1}} \sim I_{\text{NCX}} < I_{\text{KAch}}$. Полученные данные следует учитывать при интерпретации результатов, основанных на использовании KB-R7943 в качестве селективного блокатора NCX.

Роль P2Y – рецепторов в регуляции сократительной активности миокарда крыс в постнатальном онтогенезе

Анисимова Ирина Николаевна

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия,

irina171185@rambler.ru

Внутриклеточные пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды (АТФ и УТФ) выполняют роль источника энергии, участвуют в биосинтезе рибонуклеиновых кислот, обеспечивая жизнедеятельность клетки. Установлено, что АТФ и УТФ находятся в везикулах вместе с основным медиатором и участвуют в передаче нервных импульсов, выполняя функции котрансмиттера. Интерес изучения влияния УТФ на деятельность сердца основывается на различных, нередко противоположных результатах.

Методами иммуногистохимии и ПЦР показано присутствие метаботропных P2Y_{1,2,4,6,11,13,14} подтипов рецепторов в целом сердце, на кардиомиоцитах, сердечных миофибробластах; эндотелии и гладкомышечных стенках сосудов. Присутствие внеклеточной УТФ считается доказанным, и P2Y_{2,4,6} подтипы рецепторов активируются УТФ. Целью нашего исследования

явилось определение подтипов P2Y-рецепторов, участвующих в регуляции сократительной активности миокарда в постнатальном онтогенезе. Изометрическое сокращение полосок миокарда предсердий и желудочков крыс 7- (ранний молочный период), 21 - (средний молочный период) и 100 - суточного (половозрелые крысы) возраста регистрировали на установке «PowerLab» с соблюдением биоэтических правил.

Для определения подтипа рецепторов, участвующих в ингибирующих эффектах УТФ провели серии экспериментов по изучению влияния УТФ при блокаде P2Y₄ подтипа рецептора реактивом голубым-2. У 7-, 21- и 100- суточных животных после инкубации миокарда с реактивом голубым-2 отрицательный инотропный эффект УТФ не сохраняется. Следовательно, реализация ингибирующего эффекта УТФ осуществляется через P2Y₄-подтип рецепторов. Однако у 100-суточных животных функциональная активность P2Y₄-подтипа рецепторов выражена в большей степени.

Таким образом, реализация ингибирующего эффекта УТФ в сократимости миокарда осуществляется через P2Y₄-подтип рецепторов у крыс 7-, 21- и 100-суточного возраста. У 100-суточных животных преобладают влияния УТФ реализующиеся через P2Y₄ подтипов рецепторов.

Особую благодарность за помощь в написание данной работы выражаю своему научному руководителю – д.б.н., профессору Аникиной Татьяне Андреевне.

Двухфотонный кальциевый имиджинг *in vivo* в мозге новорожденной мыши с использованием индикатора кальция GCaMP6m

²*Ахметшина Динара Рустемовна, ¹Виллет В., ¹Трессард Т., ¹Мальваче А., ^{1,2}Хазипов Р., ¹Коссар Р.*

¹*INSERM U901 – INMED, Франция, Марсель; ²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, dinara_ah15@mail.ru*

Кальций является универсальным передатчиком, регулирующим распространение импульсов во многих тканях и органах. В нервной системе генерация потенциалов действия запускает значительные и кратковременные изменения свободной концентрации кальция в цитоплазме нейронов. Генетически кодируемые индикаторы кальция многократно усовершенствовались и теперь становятся все более пригодными для имиджинга активности популяций нейронов *in vivo*. Среди них GCaMP6m недавно был введен как ультрачувствительный кальциевый сенсор в экспериментах *in vivo*. Однако остается неизвестным, можно ли использовать генетически кодируемые индикаторы кальция в исследованиях ранних паттернов активности развивающейся коры головного мозга. В наших экспериментах мы использовали методику двухфотонного кальциевого имиджинга *in vivo* и кальциевый сенсор GCaMP6m, чтобы охарактеризовать популяции нейронов на ранних этапах развития мозга новорожденных мышей. Изначально проводилась инъекция вируса индикатора кальция GCaMP6m, опосредованная введением аденоассоциированного вируса, в область баррел кортекса (область представительства вибрисс) первичной соматосенсорной коры мозга новорожденных мышей на возрасте P0-1 (постнатальные дни). Через три дня после инъекции вируса в нейронах была отмечена флуоресцентная маркировка цитоплазмы, дендритов и аксонов. Мы пришли к выводу, что кальциевый сенсор GCaMP6m экспрессируется в коре головного мозга в течение 3-5 дней после введения вируса, и что возможна регистрация интенсивности флуоресценции спонтанных и сенсорно-вызванных кальциевых переходов в области баррел кортекса неповрежденной первичной соматосенсорной коры *in vivo*. Таким образом, введя вирус в кору в период первых дней после рождения, возможно исследование

нейрональных популяций в области баррел кортекса первичной соматосенсорной коры мозга новорожденных мышей *in vivo* на возрасте P5-7.

Работа поддержана грантом FP7-ERC "GABA Networks" №242842 и грантом Правительства РФ ведущим ученым №11.G34.31.0075.

Изменение электрофоретической подвижности изолированных эритроцитов и содержание в них органических фосфатов при действии инсулина

Баринова Ольга Юрьевна, Дерюгина Анна Вячеславовна

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, биологический факультет, Нижний Новгород, Россия, Barinova.Olga11@yandex.ru

Реакция на действие различных экзогенных факторов в условиях целостного организма реализуется опосредованно – через мембранные системы клеток и следует ожидать, что введение биологически активных соединений, гормонов и др. регуляторных веществ наряду с системным действием отразится на состоянии клеток [2]. Наиболее удобным объектом исследования являются клетки крови, а именно эритроциты, играющие ключевую роль в энергетическом и метаболическом обеспечении организма. Целью работы ставилось исследование действия инсулина на ЭФПЭ и концентрацию АТФ и ДФГ при действии инсулина в опытах *in vitro*.

В работе было проведено 2 серии по 12 повторов. В первой серии исследовалось действие инсулина ($1 \cdot 10^{-7}$ г/мл) на ЭФПЭ. Во второй серии измерялась концентрация АТФ и 2,3-ДФГ. Регистрировалось изменение динамики данных показателей через 15, 30, 60 и 120 минут. Измерения ЭФПЭ проводили методом микроэлектрофореза [3], концентрацию АТФ и 2,3ДФГ - по содержанию неорганического фосфата в клетке [1].

Проведенное исследование показало, что инкубация эритроцитов с инсулином вызывала рост ЭФПЭ на 11% и 14,5% к 60 и к 120 минутам относительно контроля. Введение инсулина также привело к повышению концентрации 2,3-ДФГ с максимальным ростом на 60 минуте на 57% и повышению концентрации АТФ на начальном этапе исследования с максимальным ростом показателя на 25% к 120 мин.

Анализ полученных результатов показал, что инсулин при действии на изолированные эритроциты приводит к повышению ЭФПЭ, отражая повышение отрицательного поверхностного заряда клеток и тем самым косвенно свидетельствуя, что действие инсулина может вызывать улучшение реологических показателей крови. Кроме того, действие инсулина определяет повышение количества АТФ и 2,3-ДФГ, и следовательно, усиление энергетического обмена эритроцитов. 2,3-ДФГ служит важным аллостерическим регулятором связывания кислорода с гемоглобином, и увеличение продукции 2,3-ДФГ в эритроцитах облегчает высвобождение кислорода в тканях, что способствует поддержанию pO_2 в крови и тканях на достаточном уровне.

Исследования безопасности комбинации кандесартана и ресвератрола

Беляева Александра Викторовна

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Беларусь, Минск, Aleksandra447@yandex.ru

В настоящее время частота сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) возросла в несколько раз. В связи с этим разработка новых методов диагностики и лечения данных патологий, а также создание эффективных комбинаций препаратов является актуальным.

В данной работе изучена безопасность композиции кандесартана и ресвератрола, обладающей способностью к мобилизации эндогенных предшественников клеток эндотелия при ССЗ.

Были взяты половозрелые мыши C57Bl/6 (самцы) и ICR (самцы и самки), которым вводили перорально кандесартан и ресвератрол в различных дозировках и комбинациях. С помощью проточной цитометрии изучали влияние выбранных субстанций на пролиферативные процессы в костном мозге и периферической крови мышей, а также был проведен эксперимент по исследованию острой токсичности выбранной комбинации.

Использование кандесартана привело к увеличению уровня апоптоза и микроядер в костном мозге животных по сравнению с контролем, также наблюдался цитотоксический эффект в клеточной популяции крови, что проявлялось накоплением клеток на стадии G_0/G_1 и снижением доли клеток в S и G_2/M фазах. При введении комбинации кандесартана с ресвератролом наблюдалось восстановление изучаемых параметров.

В ходе выполнения данного эксперимента было установлено, что пероральное введение исследуемой комбинации субстанций в дозе 2,0 г/кг не приводило к гибели мышей; наблюдение за животными не выявило изменений в поведении, потреблении пищи и воды.

При патологоанатомическом вскрытии видимых изменений в макроскопической картине не наблюдалось. В ходе проведения исследования не обнаружено влияние выбранных субстанций на внутренние органы мышей опытных групп по сравнению с контрольными животными. Данные результаты позволяют сделать вывод, что выбранная комбинация субстанций является малотоксичной.

Исследование безопасности комбинации кандесартана и ресвератрола показало, что выбранная композиция субстанций малотоксичная. Полученные результаты позволяют использовать изучаемый комплекс субстанций в дальнейших исследованиях при разработке инновационного комбинированного препарата для лечения ССЗ.

Влияние эмоционального стресса различного генеза на временные характеристики принудительного плавания

Богданова Светлана Александровна, Фролова Галина Александровна, Ананченко Ярослав Александрович

*Донецкий национальный университет, биологический факультет, г. Донецк, Украина,
bogdsvetlana@mail.ru*

Влияние стресса на организм по сей день остается одной из актуальных проблем физиологии и медицины. Следует отметить, что стресс является одним из пусковых факторов в индукции депрессивно-подобных расстройств. Одной из наиболее часто используемых в доклинических исследованиях для установления уровня депрессивности животных является методика принудительного плавания, имеющая определенную временную структуру, позволяющую оценить влияние воздействий на данный психоэмоциональный показатель.

Целью представленного фрагмента работы является изучение и оценка влияния различных моделей эмоционального стресса на структуру принудительного плавания.

Эксперимент проводился на 40 беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. В качестве моделей стресса использовались: 72-х часовая социальная изоляция и 2-х часовая в течение 10 суток иммобилизация.

В результате проведенных исследований выявлено, что социальная изоляция достоверно увеличила время неподвижности на $62,8 \pm 9,42\%$ ($p_u < 0,01$) и общее количество периодов зависаний на $21,6 \pm 4,07\%$ ($p_u < 0,05$). Такое увеличение суммарного количества актов

неподвижности обусловлено ростом числа замираний длительностью от 18 до 36 секунд на $13,3 \pm 0,84\%$ ($p_u < 0,05$) и периодов длительностью более 36 секунд (на $50,0 \pm 1,076\%$, $p_u < 0,01$).

Иммобилизационный стресс не оказал существенных влияний на общее время неподвижности в используемом тесте, хотя увеличил суммарное количество замираний почти в 2 раза ($p_u < 0,01$). Кроме того, иммобилизация изменила количество замираний по всем устанавливаемым временным диапазонам – $t < 6$, $6 < t < 18$, $18 < t < 36$ и $t > 36$ секунд. Количество первых двух возросло на $115,8 \pm 9,37\%$ ($p_u < 0,01$) и $27,8 \pm 1,44\%$ ($p_u < 0,05$) соответственно. Число актов неподвижности длительностью $18 < t < 36$ и $t > 36$ секунд сократилось на $13,3 \pm 0,97\%$ ($p_u < 0,05$) и $52,7 \pm 3,71\%$ ($p_u < 0,05$) соответственно.

Таким образом, установлено, что социальная изоляция и иммобилизационный стресс влияют на внутреннюю структуру принудительного плавания. Определено, что социальный стресс увеличил время неподвижности и долю периодов замираний средней продолжительности. Выявлено, что обе используемые модели эмоционального стресса угнетают проявления эмоциональности.

Бактериальный липополисахарид влияет на продукцию мРНК субъединиц NMDA-рецепторов в клетках структур мозга неполовозрелых крыс

Вениаминова Екатерина Андреевна, Ротов Александр Юрьевич

СПбГПУ, ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Россия, Санкт-Петербург,

katya.veniaminova@gmail.com

Доказано, что инфекционные заболевания, перенесенные в критические периоды раннего онтогенеза, могут повреждать формирование мозговых механизмов нейропластичности, обучения и памяти, однако механизмы этих нарушений остаются практически неисследованными. Целью данной работы являлось изучение отсроченных эффектов введения бактериального липополисахарида (ЛПС) крысам в раннем постнатальном онтогенезе на исследовательское поведение и экспрессию генов NR1, NR2A, NR2B, NR2C и NR2D субъединиц NMDA-глутаматных рецепторов в клетках структур мозга крыс, вовлеченных в регуляцию когнитивных функций.

ЛПС вводили крысам-самцам Wistar внутрибрюшинно на 14, 16 и 18-е сутки жизни в умеренно пирогенной дозе 25 мкг/кг. Период введения выбран как критический для формирования NMDA рецепторов. В качестве контроля использовались животные, которым вводили апириогенный физиологический раствор, и интактные крысы. На 22-е сутки жизни тестировали поведение животных в «Открытом поле». В возрасте 23-х суток осуществлялся забор структур мозга (вентрального и дорсального гиппокампа, миндалина и медиальной префронтальной коры), затем методом ОТ-ПЦР в реальном времени проводился анализ содержания в их клетках мРНК субъединиц NMDA-рецепторов.

Показано, что крысы, которым в течение 3-й недели жизни вводили ЛПС, отличаются нарушением исследовательского поведения – уменьшением общего времени обследования норки и времени обследования одной норки в тесте «Открытое поле». Кроме того, по сравнению с интактными животными выявлено снижение продукции мРНК NR1 в миндалине, NR2B и NR2C в дорзальном и вентральном гиппокампе и коре и повышение уровня мРНК NR2D в дорзальном гиппокампе. В клетках дорсального гиппокампа экспериментальных крыс обнаружено уменьшение соотношения уровня мРНК NR2B/NR2A по сравнению с интактными и контрольными (физиологический раствор) животными.

Выявленные изменения позволяют предположить связь ЛПС-индуцированных нарушений поведения с возможными перестройками NMDA-рецепторов. Результаты проведенного

исследования могут быть положены в основу разработки методов превентивного лечения когнитивного дефицита, связанного с действием инфекционных агентов на формирование функций мозга в раннем возрасте.

Действие ферментов-антиоксидантов на эпителий трахеи крысы после химического ожога

Волкова Анастасия Геннадьевна, Шаранов Марс Галиевич, Новосёлов Владимир Иванович

Институт биофизики клетки, РФ, Пущино, agvolkova33@gmail.com

Химический ожог – одна из наиболее распространённых разновидностей ингаляционных травм. Такого типа травмы сопровождаются массовой гибелью эпителиальных клеток дыхательных путей и вызывают мощный окислительный стресс органов дыхания.

В качестве модели повреждения эпителия трахеи был использован химический ожог верхних дыхательных путей парами соляной кислоты. С целью возможной нейтрализации окислительного стресса нами была использована аппликация экзогенных ферментов-антиоксидантов непосредственно в трахею крысы после ожога. Так как основными типами АФК являются супероксидрадикалы и неорганические и органические гидропероксиды, в наших экспериментах в качестве ферментов-антиоксидантов были использованы Mn-супероксиддисмутаза – Mn-SOD (нейтрализация супероксидрадикалов), пероксиредоксин - Ptx6 (нейтрализация как неорганических, так и органических гидропероксидов) и химерный белок-фермент PSH, совмещающий супероксиддисмутазную и пероксидазную активности.

Аппликация Mn-SOD в обожжённую трахею в концентрации 1 мг/мл через 30 минут после ожога привела к быстрому полному разрушению эпителия трахеи, которое сопровождалось сильным кровотечением из гортани крысы с последующей смертью животного. При уменьшении концентрации Mn-SOD (0,1 мг/мл) животные не погибали, однако эпителий трахеи был существенно разрушен.

Принципиально другие результаты были получены после аппликации в обожжённую трахею пероксиредоксина 6 (Ptx6) и химерного белка PSH. Морфологический анализ структуры эпителия трахеи, полученный через сутки после ожога и аппликации обоих белков показал, что эпителий трахеи в значительной степени сохранен. Морфологический анализ структуры эпителия трахеи, проведенный через трое суток показал сходную картину, но с еще более сохраненным эпителием трахеи, что свидетельствует о интенсивных регенеративных процессах в трахее при аппликации данных белков.

Исследование поперечных срезов трахей экспериментальных животных показало, что при химическом ожоге происходит практически полное уничтожение ресничатых эпителиальных клеток. На третий день наблюдается частичное восстановление, а спустя семь дней - почти полное восстановление. Вливание пероксиредоксина и гибридного белка вызывает существенное уменьшение повреждений на первый день и значительно ускоряет заживление. Вливание отдельно взятой супероксиддисмутазы не даёт положительного эффекта, а приводит к ещё более сильному разрушению эпителиальной ткани.

Гранты: Фесенко Е.Е. Программа Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», Фесенко Е.Е. Поддержка ведущих научных школ (НШ-1853.2012.4), Новоселов В.И. РФФИ 13-04-00537а.

Локальная экспрессия Igf-связывающих белков в процессе развития химически индуцированной гепатоцеллюлярной карциномы мыши

Гончарова Наталья Олеговна

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия,
goncharovan22@gmail.com*

Белки, связывающие инсулиноподобные факторы роста (Igfbps), выполняют функции депонирования, ингибирования и транспортировки ростовых факторов. Известно, что Igfbp-1 и Igfbp-3, наряду с инсулиноподобными факторами роста, могут служить диагностическими и прогностическими маркерами гепатоцеллюлярной карциномы (ГК) как у человека, так и у мыши. В настоящее время в семействе Igfbps у мыши описано семь белков.

Недавно в диспластических узелках печени мыши были идентифицированы клетки-предшественники ГК. Для прогрессии опухолевого роста необходимо определенное изменение в окружении клеток-предшественников ГК. Роль Igfbps при инициации и прогрессии опухолевого роста и локальная активность в канцерогенезе печени изучены недостаточно, в то время как ГК является широко распространенным заболеванием, которое характеризуется низким процентом выживаемости и плохо поддается терапии.

Целью данной работы было описание динамики экспрессии Igf-связывающих белков на разных стадиях ГК как в опухоли, так и в окружающей ее ткани.

Была выбрана модель ГК мыши, химически индуцированной диэтилнитрозамином, которая позволяет получить 100% встречаемость опухоли и полностью соответствует ГК человека.

Из ткани печени выделяли тотРНК (с помощью TriReagent, Sigma Alrich, США), обратную транскрипцию проводили с использованием олиго-dT праймеров («Силекс», Россия). Для количественного анализа экспрессии генов проводили ПЦР в реальном времени с использованием SYBR green (Evrogen, Россия) и специфических праймеров:

GAPDH (housekeeping) прямой (5'-3') AGGTCGGTGTGAACGGATTTG, обратный (5'-3') TGTAGACCATGTAGTTGGAGGTCA, Igfbp-1 – прямой CCATCCTGTGGAACGCCATC, обратный TCTTGTTGCAGTTTGGCAGATA, Igfbp-2 прямой CAGACGCTACGCTGCTATCC, обратный CCCTCAGAGTGGTCGTCATCA, Igfbp-3 прямой CCAGGAQAACATCAGTGAGTCC, обратный GGATGGAACCTTGAATCGGTCA, Igfbp-4 прямой AGAAGCCCCTGCGTACATTG, обратный TGTCCCCACGATCTTCATCTT, Igfbp-5 прямой CCCTGCGACGAGAAAGCTC, обратный GCTCTTTTCGTTGAGGCAAACC, Igfbp-6 прямой GCTGСТААТGCTGTTGTTCCG, обратный GCACTTAGGGCTGTAGACCC, Igfbp-7 прямой CTGGTGCCAAGGTCTTCTTGA, обратный CTCCAGAGTGATCCCTTTTACC.

Была описана динамика экспрессии генов Igf-связывающих белков на разных стадиях ГК. В частности, было показано локальное возрастание Igfbp2 в окружающей опухоль ткани по сравнению с опухолевой и контрольной тканью печени, а также активация экспрессии Igfbp1 в опухоли на поздних стадиях развития ГК.

Таким образом, мы выявили локальную экспрессию Igf-связывающих белков, что может свидетельствовать о вовлечении данных белков в Igf-1 сигнальный каскад при развитии гепатоцеллюлярной карциномы мыши.

Работа поддержана РФФИ (№ 13-04-01459).

Изучение механизмов автоматической активности сердца трески.

Данилина Татьяна Игоревна

*МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва,
danilina.tatyana2010@yandex.ru)*

Механизм генерации сердечного ритма до сих пор остается спорным. Многочисленные эксперименты, проведенные на млекопитающих, привели к возникновению двух гипотез: мембранных и кальциевых часов. Согласно гипотезе мембранных часов главенствующая роль в спонтанном возбуждении пейсмекерных клеток принадлежит входящему току I_f , активирующемуся при гиперполяризации мембраны и доводящему мембранный потенциал до порогового значения активации кальциевых каналов L-типа. Возникающий кальциевый ток формирует передний фронт потенциала действия (ПД). Гипотеза кальциевых часов предполагает наличие периодических локальных выбросов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, инициирующих входящий ток Na/Ca-обменника (NCX), деполяризующий мембрану до порога активации кальциевых каналов L-типа.

В отличие от млекопитающих, в миокарде холоднокровных животных механизмы пейсмекерной активности практически не изучены, поэтому целью данной работы было выяснение относительного вклада механизмов мембранных и кальциевых часов в генерацию автоматической активности сердца трески. Эксперименты проводились на изолированном предсердии трески, работающем в синусном ритме. Потенциалы действия (ПД) регистрировались внутриклеточно в рабочем миокарде предсердия с помощью стеклянных микроэлектродов. Блокаторы NCX KB-R7943, бензамил и SN6 в концентрациях 10^{-6} – $5 \cdot 10^{-5}$ М не оказали достоверного воздействия на электрическую активность миокарда предсердия трески. ВАРТА-АМ, хелатор Ca^{2+} , способный проникать внутрь кардиомиоцитов, в концентрации 10^{-5} М снижал частоту следования ПД, однако изменения также не были статистически значимыми. Селективные блокаторы тока I_f ивабрадин (10^{-5} М) и Cs^{2+} (2 мМ) статистически значимо тормозили автоматическую активность и увеличивали длительность ПД. При длительном воздействии ионов цезия ритмическая активность миокарда становилась нерегулярной. Таким образом, блокаторы механизма мембранных часов оказывают значительное влияние на генерацию возбуждения в сердце трески, а блокаторы механизма кальциевых часов не дают практически никакого эффекта. Данные результаты могут быть обусловлены незначительной ролью кальциевых часов в формировании сердечной автоматии рыб, либо худшей проницаемостью миокарда рыб для данных веществ по сравнению с миокардом млекопитающих. Для более точного ответа на этот вопрос требуются дальнейшие исследования с применением других методов.

Влияние неонатального хронического интраназального введения АВП(6-9) на поведение белых крыс

Дударёнок Алёна Петровна

*МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва,
alena.biology@gmail.com*

Аргинин-вазопрессин(АВП) – один из регуляторных пептидов, способных модифицировать процесс обучения. Его С-концевая последовательность – функционально важный участок для проявления поведенческих эффектов.

В данной работе исследовалось влияние интраназального введения АВП(6-9) детенышам белых крыс на уровень ориентировочно-исследовательской реакции(ОИР) и тревожности, а также на обучение с положительным и отрицательным подкреплением. Животным опытных

групп вводили тетрапептид в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг, контрольным – эквивалентный объем растворителя (дистиллированной воды). Уровень ОИР исследовали в тестах «норковая камера»(НК) и «открытое поле» (ОП), уровень тревожности – в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»(ПКЛ), а влияние пептида на обучение с положительным и отрицательным подкреплением – с помощью методик «сложный пищевой лабиринт»(СПЛ) и «условная реакция активного избегания»(УРАИ) соответственно.

При тестировании крыс в препубертатном возрасте значимые изменения наблюдались только при введении АВП(6-9) в дозе 10,0 мкг/кг, но для других возрастных групп: животных в период полового созревания и половозрелых – получены изменения при введении обеих доз.

В НК наблюдалось увеличение двигательной активности и снижение грумминга, в тесте ПКЛ – увеличение латентного периода первого захода в закрытый рукав и суммарное время, проведенное на свету. В ОП выявлено увеличение двигательной активности и числа отходов от стенок.

В тесте СПЛ животные, получавшие пептид, быстрее выходили из первого отсека лабиринта в течение всего времени обучения и совершали меньше ошибок в день проверки.

При обучении с отрицательным подкреплением у крыс опытной группы выявлено увеличение выполненных реакций как на 3 и 4 дни обучения, так и в день проверки.

Наблюдаемые изменения свидетельствуют о повышении уровня ОИР, снижении тревожности, а также улучшении обучения как с положительным, так и с отрицательным подкреплением у крыс, получавших АВП(6-9) в дозе 10,0 мкг/кг (для первой возрастной группы) и в обеих дозах – для двух других возрастных групп (эффект более выражен при введении дозы 10,0 мкг/кг).

Влияние новых производных 1,5-бензодиазепина на электрическую активность нейронов *Helix Albescens* Rossm

Епишкин Игорь Владимирович

Крымский юридический институт Национального университета "Юридическая академия Украины им. Ярослава Мудрого", Симферополь, Украина, igor.epishkin2013@yandex.ua

В настоящее время кроме 1,4-бензодиазепинов уже синтезированы и ряд новых соединений класса 1,5-бензодиазепинов, среди которых выявлены вещества со свойствами транквилизаторов и анальгетиков. Известно, что скрининг новосинтезированных веществ обязательно включает этап доклинических исследований на животных с целью изучения общих свойств и механизма их действия. Целью нашей работы было изучить изменения электрофизиологических показателей функционального состояния нейронов моллюска при внеклеточной аппликации разных концентраций новых производных 1,5-бензодиазепина.

Нейрофизиологические эксперименты были проведены с помощью стандартной методики внутриклеточного отведения потенциалов и их электрического дифференцирования на идентифицированных и неидентифицированных нейронах подглоточного комплекса ганглиев улитки *Helix Albescens* Rossm., изучены амплитудно-временные параметры электрических потенциалов нейронов.

Выявлено, что пороговая концентрация для проявления нейротропных эффектов для всех тестируемых соединений составляет 10^{-5} М. В концентрации 10^{-4} М 1,5-бензодиазепин-2 обратимо подавляет, а его производные – активируют электрогенез нейронов улитки; в концентрациях 10^{-3} М все исследованные вещества, обратимо ингибируют активность нейронов; в концентрации 10^{-2} М все соединения оказывали резкое нейротоксическое, а в случае 4-метил-1,5-бензодиазепина-2 – даже летальное.

Установлено, что 1,5-бензодиазепинон-2 в концентрации 10^{-4} М подавляет скорость трансмембранных ионных токов, а его производные (4-метил-1,5-бензодиазепинон-2, 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2 и 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинон-2) – увеличивают. Установлено, что в концентрации 10^{-3} М 1,5-бензодиазепинон-2 и 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинон-2, наоборот, увеличивает скорость выходящих ионных токов, 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2 ингибирует входящие и увеличивает выходящие трансмембранные ионные токи, а 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2 увеличивает скорость трансмембранных ионных токов. Все тестируемые соединения в концентрации 10^{-2} М оказывают нейротоксическое действие за счет неселективного необратимого блокирования трансмембранных ионных токов. Выявлено, что направленность эффектов определяется как химическим строением исследуемых соединений, так и их концентрацией.

Результаты исследования эффектов новых производных 1,5-бензодиазепинов при внутриклеточном отведении биопотенциалов нейронов улитки и их трансмембранных ионных токов показали перспективность создания на их основе психоактивных и биологически активных веществ и их дальнейшего исследования в экспериментальной фармакологии.

Динамика экспрессии HLA-DR НК-клетками периферической крови человека в присутствии IL-2 и/или мембраносвязанного IL-21

Ерохина Софья Алексеевна

*МГУ имени М.Ю.Ломоносова; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук, Москва, sonya.erokhina@gmail.com*

Известно, что в периферической крови человека имеется минорная субпопуляция НК-клеток, экспрессирующих поверхностную молекулу HLA-DR, а также что *in vitro* доля HLA-DR-позитивных НК-клеток возрастает под действием некоторых цитокинов и в присутствии клеток-мишеней. Целью нашей работы было проследить динамику экспрессии HLA-DR на поверхности НК-клеток, стимулированных IL-2, мембраносвязанным IL-21 (на поверхности клеток линии K562) и их комбинацией. Наш интерес обусловлен тем, что эти интерлейкины часто используются для активации и наращивания популяций НК-клеток в целях иммунотерапии.

НК-клетки выделяли из периферических мононуклеаров здоровых доноров методом магнитной сепарации, затем инкубировали с IL-2 (100 U/ml), с облученными клетками K562, экспрессирующими мембраносвязанный IL-21 (так называемый фидер, в соотношении 1:1), или с тем, и с другим в течение двух недель. Количество HLA-DR-позитивных НК-клеток определяли цитометрически на каждый третий день; одновременно оценивали экспрессию молекул CD56 и CD57. Аналогичный эксперимент провели на НК-клетках, предварительно отсортированных на HLA-DR⁺ и HLA-DR⁻ субпопуляции.

Доля HLA-DR-позитивных НК-клеток заметно увеличивалась при всех вариантах стимуляции, начиная с 6-ого дня, и затем продолжала расти как в исходной популяции, так и в отсортированных HLA-DR⁺ и HLA-DR⁻ субпопуляциях. Наибольший эффект наблюдался на 9-й день в образцах с IL-2 и фидером вместе (до 75% HLA-DR⁺ клеток) и только с фидером (до 70% HLA-DR⁺ клеток). Однако, количество живых клеток в целом в образцах с чистым фидером было значительно ниже, поэтому высокий процент можно объяснить преимущественным выживанием в присутствии IL-21 именно активированных HLA-DR⁺ клеток. Одновременно на клетках значительно возросла экспрессия CD56, что соответствует активации НК-клеток, а также снижалась доля CD57⁺ клеток.

Продолжительное воздействие IL-2 и мембраносвязанного IL-21, а также их комбинации, приводит к активации NK-клеток и к значительному увеличению доли клеток, экспрессирующих HLA-DR. Такой сильный эффект фидерных клеток можно объяснить наличием на их поверхности не только IL-21, но и других стимулирующих молекул. Возрастание количества HLA-DR-позитивных NK-клеток в отсортированной HLA-DR-негативной субпопуляции говорит о том, что HLA-DR появляется на поверхности клеток как результат активации, а не пролиферации изначально позитивных по этому маркеру клонов. Функциональная значимость наблюдаемого эффекта нуждается в дополнительном исследовании.

Влияние октанола на хронотопографию возбуждения предсердного миокарда и миокарда легочных вен крысы

Каримова Виктория Маратовна

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,

vm-karimova@yandex.ru

Миокардиальная обкладка легочных вен (ЛВ) играет существенную роль в формировании нарушений ритма сердца. Причины аритмогенности миокардиальной обкладки ЛВ до конца не выяснены. Для миокарда ЛВ характерна пониженная, по сравнению с предсердным уровнем, плотность щелевых контактов и, соответственно, электрическая связь кардиомиоцитов. Снижение электрической связи клеток в ткани способствует нарушению проведения (хронотопографии) волны возбуждения, создает благоприятные условия для циркуляции волны возбуждения. Нарушение и/или подавление проведения возбуждения тесно связано с возникновением аритмий.

Ухудшение проведения возбуждения происходит при снижении проводимости щелевых контактов в результате закисления цитоплазмы, понижения уровня АТФ, повышения уровня цитоплазматического Ca^{2+} . Данные факторы, вероятно, усиливают свою значимость при исходно низкой плотности щелевых контактов. Связь пониженной плотности щелевых контактов с нарушением хронотопографии и аритмогенностью миокарда ЛВ ранее исследована не была. Цель данной работы заключалась в оценке хронотопографии возбуждения предсердного миокарда (ЛП) и миокарда легочных вен в норме и при подавлении проводимости щелевых контактов.

Эксперименты выполнены на изолированных многоклеточных препаратах легочных вен (n=8) и участках левого предсердия крысы (n=6) (самцы Wistar, 200-250 г.), которые перфузировали по стандартной методике раствором Тироде, содержащим 1,6 мМ октанола - соединения, вызывающего подавление проводимости щелевых контактов.

Для определения скорости и характера распространения возбуждения использовали метод оптического картирования, принципы которого подробно описаны ранее. Оценивали снижение скорости проведения возбуждения (Θ , см/с), неоднородность и формирование блоков проведения, при действии октанола в ЛП и ЛВ.

Показано, что в контрольных условиях Θ не различается в ЛП и ЛВ (63,3±4,5 и 61,5±4,2 см/с, соответственно). После начала перфузии октанолом наблюдается быстрое снижение Θ , которая стабилизируется в течение 4-6 минут. Снижение Θ , вызванное октанолом (1,6 мМ), и в ЛП и в ЛВ является статистически значимым: до 28,4±2,9 (n=5, p(T)<0.05) в ЛП и 40,8±4,7 см/с (n=6, p(T)<0.05) в ЛВ (на 6-й минуте), соответственно. В легочных венах скорость проведения возбуждения, несмотря на меньшую плотность щелевых контактов, снижается в меньшей степени, чем в ЛП (p(U)<0.05).

В ЛП и ЛВ даже при длительном действии октанола не наблюдали формирования новых блоков проведения возбуждения. Неоднородность проведения возбуждения увеличивалась как в миокарде легочных вен, так и в предсердном миокарде.

Таким образом, исходная пониженная плотность щелевых контактов, а также дальнейшее снижение их проводимости при действии октанола не являются факторами, вносящими существенный вклад в нарушение хронотопографии возбуждения в миокарде легочных вен. Можно предположить, что значительную роль для поддержания скорости проведения в ЛВ играет, не только количество щелевых контактов, но и структурная организация миокардиальной ткани.

Особенности произвольного управления торакальными и абдоминальными дыхательными движениями при неосознаваемом добавочном сопротивлении

Кичатов Кирилл Германович

Тверской Государственный Университет, Россия, Тверь, nearf1988@gmail.com

Целью работы являлось изучение особенностей воспроизведения заданных дыхательных объемов посредством отдельных торакальных и абдоминальных движений без использования зрительного контроля при неосознаваемом добавочном сопротивлении. В исследовании приняли участие 10 женщин 18-22 лет, предварительно обученных дышать либо за счет грудных, либо брюшных движений. Исследование включало 2 серии. В 1 серии в положении стоя после регистрации исходных данных испытуемые в соответствии с инструкцией выполняли следующие задания по 10 дыхательных циклов в каждом: 1) дышали только за счет торакальных движений; затем воспроизводили заданное торакальное движение 2) со зрительным контролем, 3) без зрительного контроля, 4) без зрительного контроля при незаметно для них включенном неосознаваемом добавочном сопротивлении 8 ± 2 мм вод. ст. Во 2-ой серии испытуемые повторяли те же задания за счет абдоминального компонента аппарата дыхания. Использовался оригинальный компьютерный безмасочный пневмограф. На протяжении всех исследований осуществлялся капнографический и оксигеметрический контроль. Учитывались объемные, временные, скоростные параметры дыхания. Точность управления дыхательными движениями определялась по ошибкам с преувеличением и преуменьшением заданного объема.

Выявлено, что испытуемые лучше сдерживали торакальные движения при грудном дыхании, чем абдоминальные при брюшном. При воспроизведении заданного объема со зрительным контролем и без него точность торакальных и абдоминальных движений статистически значимо не различалась. Воспроизведение заданного объема на фоне неосознаваемого инспираторно-экспираторного сопротивления при отдельном грудном и брюшном дыхании сопровождалась уменьшением его глубины. В результате точность и торакальных и абдоминальных движений существенно снижалась за счет увеличения ошибки с преуменьшением дыхательного объема. Ошибки с преувеличением заданного объема в этих условиях отсутствовали. Характерно, что по словесным отчетам испытуемые уменьшение глубины дыхания не осознавали.

Факт успешного управления абдоминальными (диафрагмальными) движениями с учетом отсутствия в диафрагме проприоцепторов позволяет полагать об использовании в этих условиях сигналов от каких-то других рецепторных зон – по всей вероятности, от сухожильных проприоцепторов брюшных мышц-экспираторов, а также от тактильных рецепторов кожи живота.

Влияние активированного протеина С (АПС) и пептида-агониста PAR1 на пролиферацию и активацию астроцитов в культуре

Краснова Татьяна Станиславовна

*Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
tkrasnova24@mail.ru*

Активация астроцитов и астроглиозис сопровождают развитие нейродегенеративных процессов в мозге при черепно-мозговых травмах, ишемических повреждениях и ряде нейродегенеративных заболеваний. Сериновые протеиназы (тромбин и АПС), активируя PAR1 (рецепторы, активируемые протеиназами 1 типа), способны демонстрировать противоположное действие на функционирование клеток. Тромбин обладает токсическим и провоспалительным действием, АПС, напротив, – протекторным и противовоспалительным. Целью нашего исследования было оценить влияние АПС и его пептида - аналога привязанного лиганда PAR1 на пролиферацию и активацию астроцитов в культуре.

Работу проводили на первичной культуре астроцитов, полученных из новорожденных или однодневных крысят линии Вистар. Уровень пролиферации клеток оценивали с помощью МТТ-теста, оценку количества белка S100b осуществляли с помощью вестерн блота.

В ходе нашей работы мы оценивали влияние тромбина (50 nM), АПС (10 nM) и пептида-агониста PAR1 (20 mkM) на пролиферацию астроцитов в бессывороточной среде (через 24 ч). Нами было показано, что тромбин вызывал активацию астроцитов и приводил к повышению пролиферации. Предобработка культур астроцитов активированным протеином С и пептидом-агонистом перед добавлением тромбина вызывала снижение уровня пролиферации клеток. При этом при аппликации активированного протеина С или пептида в отсутствие тромбина уровень клеточной пролиферации был снижен. Далее мы оценивали уровень белка S100b, который является одним из маркеров активации астроцитов. Нами было выявлено, что тромбин повышает, а добавление к культуре астроцитов АПС или пептида перед аппликацией тромбина, напротив, снижает уровень белка S100b, детектируемого с помощью вестерн блота.

Таким образом, нами было показано, что на фоне действия тромбина АПС и пептид-аналог привязанного лиганда PAR1 обладают антипролиферативным эффектом и снижают уровень активации астроцитов в культуре. Однонаправленность действия АПС и пептида может быть обусловлена тем, что пептид является аналогом привязанного лиганда, формирующегося при неканоническом расщеплении под действием АПС N- конца PAR1. Таким образом, пептид, как и АПС может быть терминатором астроглиозиса при повреждениях головного мозга и нейропатологии.

Влияние электроактивированных водных растворов на некоторые гомеостатические показатели плазмы крыс с хронической почечной недостаточностью

Кудрявцева Наталья Анатольевна

*ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет», институт
естественных и социально экономических наук, Новосибирск, Россия, kubik-bublik@rambler.ru*

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) представляет собой актуальную проблему современной медицины в связи с полиэтиологичностью, прогрессирующим течением, отсутствием фармакотерапевтических средств, радикально улучшающих состояние больных и необходимостью проведения гемодиализа, являющегося высокочувствительным мероприятием. Одним из возможных способов решения данного вопроса является использование электроактивированных водных растворов (ЭВР), которые получают путем анодной или катодной активации технологического раствора в электроактиваторе.

Для выявления влияния ЭВР на функции почек на фоне ХПН были использованы крысы линии Wistar (n=28) массой 200-250 г. Все животные были поделены на 3 группы: 1) контроль + вода (К); 2) ХПН + вода; 3) ХПН + анолит (ЭВР-А). Модель экспериментальной ХПН создавали посредством субтотальной нефрэктомии. Концентрацию ионов Na⁺ и K⁺ в моче и плазме определяли методом пламенной фотометрии. Для определения осмотической концентрации мочи и плазмы крови использовали метод криоскопии. Парциальные функции почек рассчитывали по общепринятым формулам. Концентрацию креатинина и мочевины в моче определяли методом спектрофотокориметрии. Полученные результаты обработаны общепринятыми методами статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Различия показателей считались достоверными при p ≤ 0,05.

Анализ ионно-осмотических показателей плазмы крови не выявил достоверных различий в концентрации натрия (К-141,3±6,5; ХПН+вода – 140,3±5,0; ХПН+ЭВР-А – 141,1±7,5 ммоль/л) между животными разных групп, тогда как концентрация калия (К- 3,8±0,08; ХПН+вода – 4,8±0,50; ХПН+ЭВР-А – 4,5±0,04* ммоль/л) была выше у животных с ХПН, хотя и не превышала показателей нормы. В то же время у крыс 2-ой группы содержание креатинина (К – 1,09±0,05; ХПН+вода – 1,33±0,09*; ХПН+ЭВР-А - 1,17±0,02^Δ мг%) и мочевины (К- 34,0±9,0; ХПН+вода – 89,3±10,0*; ХПН+ЭВР-А – 71,6±9,0* мг%) было достоверно выше по сравнению с контролем. Полученные изменения совпадают с литературными данными и могут свидетельствовать о нарушении функционального состояния почек и развитие ХПН. При этом необходимо отметить, что у крыс 3-ей группы на фоне приема ЭВР-А все вышеперечисленные показатели были ниже, чем во 2-ой группе и приближались к значениям здоровых животных.

Таким образом, ЭВР-А у крыс 3-ей группы с экспериментальной моделью ХПН способствовал нормализации ионно-осмотических показателей плазмы крыс по сравнению со 2-ой экспериментальной группой.

Влияние фебрильных судорог на абсансную эпилепсию у крыс линии WAG/Rij

¹Куличенкова Ксения Николаевна, ²Гуляев Михаил Владимирович

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных., Российская Федерация, Москва, koulitchenkova@gmail.com; ² МГУ имени М.В.

Ломоносова, Центр магнитной томографии и спектроскопии, Москва, Россия, mihon-epsilon@yandex.ru

Эпилепсия является многофакторным заболеванием с различными наследственными и приобретенными компонентами, важными предрасполагающими факторами к которому являются пароксизмальные состояния в детском возрасте. Нередки и смешанные формы припадков: так, фебрильные приступы (ФП) чаще других генерализованных форм эпилепсии встречаются в анамнезе больных детской абсансной эпилепсией. Изучение смешанных форм припадков на сегодняшний день является актуальной проблемой. Нами была поставлена цель оценить структурные изменения мозга на разных линиях крыс, перенесших фебрильные приступы в раннем постнатальном возрасте, методом нейровизуализации.

В работе были использованы крысы линии WAG/Rij, выведенные на основе крыс линии Wistar, которые представляют признанную модель генерализованной абсансной эпилепсии. В качестве модели ФП были использованы гипертермически вызванные судороги, так же являющиеся широко используемой в экспериментальных условиях моделью. Структурные изменения мозга были визуализированы с помощью магнитно-резонансной томографии. Так же было проведено электроэнцефалографическое исследование и исследование на чувствительность к судорогам, вызванным пентилентетразолом.

Различий по времени наступления клонических судорог между крысятами обеих линий ни в 9-ти дневном, ни в 12-ти дневном возрасте не наблюдали. Было показано достоверное уменьшение объема гиппокампа у крыс обеих линий через 3 и 6 месяцев после гипертермии. Измерение T2 сигнала выявило связанные с гипертермией изменения мозга у обеих линий крыс, однако количество повреждённых лимбических и корковых структур у крыс линии Wistar было больше. Электроэнцефалографическое исследование выявило увеличение частоты и длительности пик-волновых разрядов у крыс линии WAG/Rij, а также патологическую высокоамплитудную активность у крыс линии Wistar.

Полученные нами результаты показывают, что лимбические структуры являются уязвимыми к инициальному повреждающему действию фебрильных приступов у обеих линий крыс. Однако на основе томографических исследований мы полагаем, что у крыс линии Wistar в эпилептогенез вовлечено большее количество структур мозга. Мы также продемонстрировали, что гипертермия в раннем постнатальном возрасте усугубляет течение абсансной эпилепсии и делает мозг более чувствительным к судорожным воздействиям.

Исследование реакции системы кровообращения на дыхание с добавочным инспираторным сопротивлением

Людоговская Дарья Евгеньевна

*Тверской государственный университет, биологический факультет, Тверь, Россия,
dawa1988@mail.ru*

Влияние дыхания на сердечную деятельность считается общепринятым фактом. Литературные сведения о возможных механизмах взаимодействия систем дыхания и кровообращения малочисленны и нередко противоречивы. Целью работы явилось исследование влияния дыхательных колебаний внутригрудного давления на объемно-временные характеристики сердечного цикла при дыхании с добавочным инспираторным сопротивлением.

У 10 мужчин 18-25 лет, привычных к экспериментальной обстановке, в положении стоя при спонтанном дыхании и на протяжении 3 мин дыхания с добавочным сопротивлением с использованием компьютерного безмасочного пневмографа и поликардиографического комплекса синхронно записывались пневмограмма, электрокардиограмма, сфигмограмма сонной артерии, что позволяло сравнивать объемные временные и скоростные параметры дыхательного и сердечного циклов на фазах вдоха и выдоха. Добавочное сопротивление потоку воздуха на вдохе (90+10 мм вод. ст.) создавалось приспособлением с системой клапанов с дыхательным отверстием диаметром 3 мм. Выдох был ненагруженным.

Корреляционный анализ между параметрами дыхания и кровообращения в исходном состоянии выявил следующее: чем глубже и с большей скоростью выполняется вдох, тем больше отрицательное внутригрудное давление и присасывающее действие грудной клетки, тем больше систолическое и диастолическое давление в плечевой артерии, тем больше сопротивление току крови из грудной клетки, меньше скорость изгнания крови, меньше систолический объем. При этом вследствие компенсаторного увеличения частоты сердечных сокращений минутный объем кровообращения сохраняется. Корреляции между параметрами дыхания и кровообращения на фазе выдоха менее выражены.

Сразу после переключения испытуемых на дыхание с добавочным сопротивлением увеличение объема вдоха сопровождается существенным увеличением отрицательного внутригрудного давления (присасывающего действия грудной клетки) и, как следствие – увеличением давления в плечевой артерии, особенно диастолического, увеличением

сопротивления току крови из грудной клетки, уменьшением скорости изгнания крови из левого желудочка, уменьшением систолического объема, которое компенсируется увеличением частоты сердечных сокращений. В результате минутный объем кровообращения и в этих условиях сохраняется. При этом отмеченные при свободном дыхании корреляционные связи между параметрами дыхания и кровообращения нарушаются.

Таким образом, можно полагать, что существенные дыхательные колебания внутригрудного давления (при увеличенном инспираторном сопротивлении) приводят к колебаниям ударного объема сердца. Собственные механизмы регуляции сердечной деятельности в каждый конкретный момент в соответствии с изменениями внутригрудной механики и степени заправки сердца кровью изменяют частоту сердечных сокращений, тем самым обеспечивая оптимальный для данных условий минутный объем кровообращения.

Влияние 3-суточной «сухой» иммерсии на NO-зависимые сигнальные пути в камбаловидной мышце человека

Мирзоев Тимур М., Вильчинская Н.А.

*ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, Москва,
tmirzoev@yandex.ru*

Метод «сухой» иммерсии представляет собой модель опорной разгрузки, которая позволяет изучать эффекты гипогравитации в земных условиях. Из литературных данных известно, что в начальный период гравитационной разгрузки в скелетных мышцах наблюдается накопление ионов кальция, в результате чего активируются кальций-зависимые протеазы – кальпаины. Эти ферменты играют ключевую роль в процессе деградации ряда цитоскелетных белков. В то же время известно, что скелетная мышца постоянно экспрессирует нейрональную NO-синтазу и продуцирует NO, который способен ингибировать активность кальпаинов и предотвращать атрофию скелетных мышц. Поэтому, цель исследования состояла в изучении NO-зависимых механизмов, регулирующих катаболические сигнальные пути в камбаловидной мышце человека на ранних сроках опорной разгрузки. В исследовании принимали участие 13 испытуемых-добровольцев в возрасте 20-26 лет, которые дали письменное согласие на участие в эксперименте. Длительность иммерсии составляла 3-е суток. Взятие проб мышечной ткани осуществлялось методом пункционной биопсии под местной анестезией. Программа эксперимента была одобрена комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН.

Содержание десмина, тотальной и фосфорилированной nNOS (нейрональная NO-синтаза), фосфорилированной АМРК (АМФ-активируемая протеинкиназа) определяли методом вестерн-блоттинга.

После 3-суточной «сухой» иммерсии в *m.soleus* наблюдалось достоверное снижение содержания цитоскелетного белка десмина на 10% ($p < 0,05$) относительно фонового значения. Также наблюдалось значительное снижение фосфорилированной nNOS на 43% ($p < 0,05$) относительно фоновых значений, при этом содержание тотальной nNOS снизилось на 26% ($p < 0,05$). Нами также отмечено, что в результате 3-суточной сухой иммерсии, происходит значительное снижение фосфорилированной АМРК на 36% ($p < 0,05$) относительно доиммерсионного уровня.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что происходит более быстрое, чем предполагалось ранее, развитие кальпаин-зависимых процессов в результате снижения уровня фосфорилирования АМРК, приводящего к снижению фосфорилирования nNOS и уменьшению продукции оксида азота. Следовательно, можно предположить, что именно эти процессы

позволяют активировать кальпаины и вызывать атрофические процессы в камбаловидной мышце.

Авторы признательны коллективу лаборатории под руководством проф. И.Б.Козловской за проведение иммерсионного эксперимента и взятие образцов мышечной ткани. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00888.

Влияние солнечной и геомагнитной активности на продолжительность жизни в высоких широтах

Михайлов Роман Егорович

Кольский научный центр Российской академии наук, отдел медико-биологических проблем адаптации человека в Арктике, Россия, г. Апатиты, rem_ksc_ras@mail.ru

В настоящее время признано влияние солнечной активности на самые разнообразные процессы в биосфере, включая состояние организма человека. Ведущим передаточным звеном между вспышечной активностью Солнца и состоянием живых систем являются вариации геомагнитного поля, амплитуда которых во время «солнечных бурь» может возрасти на несколько порядков. Именно резкие колебания геомагнитного поля и служат одной из причин ухудшения самочувствия определенных групп людей и возрастания риска летальных исходов.

В исследовании использованы медико-статистические данные, включающие даты рождения и смерти, а также причины смерти людей, проживающих в Областном психоневрологическом интернате в г. Апатиты Мурманской области, за период 1985 – 2009 гг. Для анализа связи частоты смертей с геофизическими агентами были привлечены данные, характеризующие солнечную и геомагнитную активность: числа Вольфа, параметры межпланетного магнитного поля, индексы геомагнитной активности.

В работе представлены результаты сравнительного анализа частоты смертей в двух группах людей, проживающих в Интернате, рожденных в годы высокой и низкой солнечной активности (СА). В результате исследований показано, что лица, рожденные в годы высокой СА имеют меньшую продолжительность жизни (на 8,4 года); также установлено, что возрастание смертности ассоциировано с периодами низкой солнечной и геомагнитной активности, и в периоды возрастания интенсивности космических лучей. На основе сравнительного анализа двух выборок испытуемых, было показано, что лица, рожденные в годы высокой СА, более уязвимы к воздействию вариаций геофизических агентов. Сравнение по половому признаку выявило большую чувствительность мужчин к вариациям геофизических агентов, для обеих групп.

Таким образом, было показано, что солнечная активность в год рождения детерминирует продолжительность жизни человека. Так как большинство смертей в интернате произошло из-за сердечно-сосудистой недостаточности, можно предположить, что высокая СА в период пренатального и постнатального развития «программирует» степень уязвимости сердечно-сосудистой системы. И как следствие создают предпосылки для её высокой чувствительности к гелиогеофизическим воздействиям, что в итоге, может вести к снижению продолжительности жизни.

Активность ацелилхолинестеразы и бутирилхолинестеразы в сыворотке крови новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития и диабетической фетопатией

Морозова Антонина Юрьевна, Андреева Н.Г.

ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта» СЗО РАМН, Россия, Санкт-Петербург, amor2703@gmail.com

Синдром задержки внутриутробного развития (ЗВУР) и диабетическая фетопатия (ДФ) приводят к нарушению функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) новорожденных детей, что указывает на необходимость изучения биохимических параметров, определяющих нарушение формирования функций ЦНС, возникающих в условиях хронической гипоксии. Из экспериментальных исследований известно, что пренатальная гипоксия приводит к изменениям холинергической медиации, которые отражаются на активности холинестераз и играют существенную роль в нарушении развития когнитивных функций в раннем онтогенезе. Целью данной работы явилось определение влияния ЗВУР и ДФ на активность ацелилхолинестеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) в сыворотке крови новорожденных на первые сутки их жизни. Активность ферментов оценивали методом Элмана, количество белка оценивалось методом Бредфорд. Полученные данные демонстрируют, что активность АХЭ в сыворотке здоровых детей составляет 0.0017 ± 0.0001 нмоль АТХ/ мг белка в мин. У новорожденных с ЗВУР активность данного фермента составляет $0,0012 \pm 0,0001$ нмоль АТХ/ мг белка в мин, т.е. в 1.5 раза ниже по сравнению с группой здоровых детей. У детей с ДФ активность АХЭ практически не изменяется и составляет $0,0020 \pm 0,0003$ нмоль АТХ/ мг белка в мин. Однако, активность БуХЭ у детей с ДФ снижается по сравнению с группой здоровых новорожденных в 1.4 раза и составляет $0,051 \pm 0,070$ нмоль БуТХ/ мг белка в мин. Аналогичные изменения наблюдаются у детей с ЗВУР, а именно, активность БуХЭ снижается в 1,6 раз по сравнению со здоровыми детьми. Таким образом, ЗВУР и ДФ приводит к повышению активности АХЭ и БуХЭ в сыворотке крови новорожденных детей на первые сутки их жизни, что свидетельствует о нарушении формирования холинергической системы при данных патологиях.

. Авторы выражают благодарность д.б.н., проф. Арутюняну А.В., д.б.н. Журавину И.А., д.м.н. Евсюковой И.И. за предоставленную возможность выполнения данного исследования, а также за помощь в проделанной работе.

Эффекты фрагмента обестатина 1-4 на массу тела, потребления пищи и воды, после хронического введения самкам белых крыс

Моторкина Екатерина Сергеевна, Хиразова Е.Э

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия, motorykina.katerina@gmail.com

Обестатин – пептид, образующийся во многих органах и тканях. В большом количестве работ был показан анорексигенный эффект обестатина на самцах белых крыс. Так же существуют данные, о схожем действии на массу тела N-концевых фрагментов обестатина. Однако не исследованным остаётся действие фрагментов обестатина на женский организм. Целью данного исследования являлся анализ изменения массы тела, потребления корма и воды после введения фрагмента обестатина 1-4 самкам крыс линии Вистар. Опытным животным интраназально вводили фрагмент 1-4 в дозе 300 нмоль/кг в течение 5 суток. Контрольные животные получали соответствующий объем физиологического раствора. Ежедневно, в течение 12 суток (включая время введения) производили измерение массы тела, количество съеденной

пищи и воды в условиях *ad libitum*. Внутри контрольной и опытной группы животные были разделены на три весовые группы: маленькие (200-230г), средние (231-260г), большие (261-280г). В результате было обнаружено, что введение фрагмента 1-4 не вызывало значимых изменений в динамике массы тела по сравнению с контролем. При этом наблюдалось значимое снижение потребления воды в группе со средним весом по сравнению с контролем (5-7 сутки регистрации). В этой же группе, было зафиксировано увеличение потребления корма на 6 и 7 день регистрации. Так же, крысы опытной группы с большим весом медленнее набирали вес по сравнению с опытными животными среднего веса (3-8 сутки регистрации) и животными той же группы малого веса (5 и 6 сутки регистрации).

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что введение фрагмента обестатина 1-4 оказывало разнонаправленное действие на потребление корма и воды самками крыс опытной и контрольной групп в разные точки регистрации. Так же, вероятно, что действие фрагмента связано с исходной массой тела исследуемых животных и в наибольшей степени выражено у более крупных особей женского пола.

Особенности внешнего дыхания у студентов с разными циркадианными биоритмами при умственной нагрузке

Павленко Снежанна Ивановна

*ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет», Россия, Самара,
pavlenko.snezhanina@mail.ru*

На современном этапе в условиях нерегулярности трудовых нагрузок актуальным является анализ особенностей вегетативных проявлений умственной деятельности у лиц с разными биоритмологическими типами при работе в разное время суток.

Были изучены изменения объемных и временных показателей внешнего дыхания при дозированной умственной нагрузке в течение учебного дня у студентов с разными циркадианными биоритмами, в т.ч. с утренним («жаворонки», 26 человек), дневным («голуби», 33 человека) и вечерним («совы», 41 человек) типами активности. Дыхание регистрировали на спирографе СМП-21/01-«Р-Д» до и сразу после умственной нагрузки утром с 7.30 до 9.00, днем с 13.00 до 15.00 и вечером с 18.00 до 19.00 часов.

Установлено, что у «жаворонков» изменения показателей спирограмм при нагрузке формировались чаще, чем у «голубей» и «сов». Наиболее существенно у «жаворонков» увеличивалась частота дыхания (ЧД) днем (на 22,6%; $p < 0,01$). Именно за счет ЧД у этих студентов при работе днем возрастал минутный объем дыхания (МОД) на 33% ($p < 0,01$). Утром и вечером МОД у них уменьшался в среднем на 12,2% ($p < 0,05$), причем за счет снижения дыхательного объема (ДО) на 8,5% ($p < 0,05$). Что касается «голубей», то у них МОД при нагрузках снижался в течение всего дня, однако более достоверно при работе в дневное время (на 14,2%; $p < 0,05$), что также было связано с преимущественным снижением ДО на 7,1% ($p < 0,05$). У «сов» изменения МОД отмечались в виде слабой тенденции уменьшения при работе утром и вечером. Ёмкость вдоха в течение дня менялась только у «жаворонков» при работе днем и вечером (на 13,5%; $p < 0,05$) и у «сов» вечером (на 11,4%; $p < 0,05$). Сравнение реакций на умственную нагрузку у представителей с разными циркадианными биоритмами показало, что наибольшая встречаемость различий в изменениях дыхания отмечалась в парах «жаворонки» – «голуби». Достоверная разница в парах «голуби» – «совы» и «жаворонки» – «совы», проявлялась гораздо реже.

Полученные данные свидетельствуют о зависимости реакций дыхания от характера циркадианных ритмов и могут быть обусловлены особенностями взаимосвязей эндогенных ритμοдавателей со структурами дыхательного центра.

Отставленные эффекты антенатального применения вальпроевой кислоты при МРТ диагностике

Петренко Анна Валерьевна

*МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,
neshapetrenko@gmail.com*

Вальпроевая кислота – один из самых широко используемых антиконвульсантов. ВПК обладает тератогенным эффектом. Остается мало изученным влияние ВПК на повреждения мозга при его антенатальном применении.

В эксперименте использовано 4 группы животных. Контрольная получала в/бр 1 мл NaCl 0,9% с 1го по 7й день беременности, группа ВПК - 300 мг/кг, животным из третьей группы на 3й и 7й дни вводили ПТЗ (до 75 мг/кг), 4-ой группе животных вводили ВПК с 1го по 7й день при введении ПТЗ на 3й и 7й день гестации. В возрасте 2-х месяцев у потомства всех 4-х групп была проведена МРТ-диагностика в режимах T2-RARE и T2-map.

При визуальной оценке обнаружено расширение желудочков только в группе «ВПК». Показано достоверное увеличение T2-сигнала в группе ВПК в СА1, СА3 полях гиппокампа правого полушария, в таламусе правого полушария, в миндалине и стриатуме обоих полушарий. Также была показана статистически значимая разница между группами ПТЗ и ВПА+ПТЗ в стриатуме, в группах ВПА и ПТЗ - в поле СА1 правого полушария, в правой миндалине и в правом стриатуме. Достоверное уменьшение объема гиппокампа обнаружено в группе ВПК и ПТЗ, в группе ПТЗ+ВПА-также достоверное уменьшение T2 сигнала.

Показано уменьшение объема гиппокампа во всех опытных группах, а именно эта структура ответственна за дефицит рабочей памяти, объективное и субъективное представление о мире через обработку внешних сигналов, уменьшение вербальной памяти, что является в диагностике признаками фетального вальпроатного синдрома и аутизма. Уменьшение T2-сигнала миндалины, структуры, ответственной за формирование эмоций, беспокойства и страха, сочетается со статистикой проявления у детей, подвергшихся *in utero* влиянию ВПК, синдромов аутизма.

Уменьшение T2-сигнала в базальных ядрах, возможно, может влиять на состояние всей экстрапирамидальной системы, частью которой и являются стриатум и бледный шар. Можно ожидать изменение памяти и обучения, которые и наблюдаются у детей, *in utero* подвергшихся ВПК. Таким образом, показано, что ВПК вызывает редукцию гиппокампа и изменение T2-сигнала в гиппокампе, стриатуме, миндалине и таламусе.

Исследование «детского» поведения крыс с фетальным вальпроатным синдромом

Рогозинская Элина Ярославовна, Гедзун В.Р., Малышев А.В.

*МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, г. Москва,
elinamiss007@mail.ru*

Аутизм является одной из наиболее часто встречающихся форм нарушений нервно-психического развития ребенка, более чем в 80% случаев приводящей к тяжелой инвалидности. Существенную роль в развитии аутизма играет наследственный фактор, хотя серьёзное влияние оказывают и нарушения центральной нервной системы в период внутриутробного развития, при родах и в раннем детстве. Нередко эти факторы сочетаются. Причины аутизма не выявлены

до конца, поэтому изучение механизмов развития патологии, а также поиск путей коррекции заболевания, являются важной и актуальной задачей.

Первые попытки создания животной модели для изучения расстройств аутистического спектра были предприняты всего 10 лет назад. В рамках представленной работы мы успешно адаптировали модель дисфункции нервной системы при пренатальном введении высокой дозы вальпроевой кислоты. Вальпроевая кислота (ВПК) вводится внутривентрикулярно в дозе 600 мг/кг самке на 12,5 день беременности. Данная модель является самой новой и признана наиболее перспективной в мире. Параметры детско-материнского взаимодействия на данном модельном объекте ранее не изучались.

В представленной работе было использовано 36 контрольных крыс и 44 крысы с фетальным вальпроатным синдромом. С ними проводили ряд поведенческих тестов: определение двигательной активности детенышей крыс в возрасте 9 и 14 дней, а также тестирование «детского» (зависимого от матери) поведения на 10 и 15 дни. Данная методика позволяет оценить взаимодействие детеныша с наркотизированной самкой. Исследовались следующие показатели: изменение уровня тревожности и исследовательской активности, а также детской мотивации.

Нами показано, что у крыс с фетальным вальпроатным синдромом по сравнению с животными из контрольной группы изменены параметры детско-материнского взаимодействия – в частности, сильнее детская мотивация на фоне повышенной тревожности. Подобное патологическое повышение привязанности к матери наблюдается и у детей-аутистов. Результаты работы свидетельствуют о развитии патологических процессов у экспериментальных животных уже в раннем постнатальном периоде.

Детско-материнское взаимодействие является одним из важнейших факторов нормального развития детенышей. Изменения в детской привязанности, свидетельствующие о раннем развитии патологии, в дальнейшем могут стать одним из факторов развития патологического состояния, сходного с расстройствами аутистического спектра у людей. Проведение работ на базе этой модели позволит нам исследовать механизмы заболевания, а также предложить новые пути коррекции аутистических расстройств.

Сравнительная оценка функционального состояния митохондрий печени мышей после воздействия импульсно–периодического и непрерывного рентгеновского излучения при сопоставимых дозах

Рустамбек Урмат

*Сибирский государственный медицинский университет, Российская Федерация, г. Томск,
urmat.ru@gmail.com*

Актуальность изучения биологического действия импульсно-периодического рентгеновского излучения (ИПРИ) наносекундной длительности определяется особенностью данного вида излучения (высокие дозы в импульсе при малых средних дозах). В формировании биологических эффектов ИПРИ могут играть решающую роль митохондрии, что показано для непрерывного рентгеновского излучения [У. Кам, 2013, Князева И.Р., 2012]. Для понимания механизмов действия импульсного излучения необходимо сопоставить результаты влияния на митохондрии с эффектами действия непрерывного излучения сопоставимых доз. Цель работы: изучить влияние ИПРИ на дыхание митохондрий гепатоцитов и сопоставить полученные данные с эффектами действия непрерывного излучения.

Исследовалось влияние ИПРИ с частотой повторения импульсов в диапазоне 10–22 за секунду, дозой в импульсе $0.3–1.8 \times 10^{-6}$ Гр и суммарной поглощенной дозой за сеанс (4 000

импульсов) облучения до 7.2×10^{-3} Гр на функциональную активность митохондрий печени мышей по скорости потребления кислорода в различных метаболических состояниях по Чансу и по коэффициенту дыхательного контроля, отражающему степень сопряжения дыхания и фосфорилирования. В качестве источника ИПРИ использовалось тормозное излучение ускорителя Синус-150 (ИСЭ СО РАН).

ИПРИ с минимальной из использованных доз 0.3×10^{-6} Гр/имп. приводило к уменьшению уровня дыхательного коэффициента, в большей степени при крайних частотах 10 и 22 Гц. Воздействие ИПРИ с дозой 1.1×10^{-6} Гр/имп. эффективно снижало степень сопряжения окисления и фосфорилирования более чем в два раза только при частоте повторения 22 Гц. Облучение ИПРИ импульсами с максимальной из использованных доз приводило к снижению уровня дыхательного коэффициента при всех частотах повторения импульсов. При режимах воздействия ИПРИ со средней дозой 1.1×10^{-6} Гр/имп. с частотами 10, 13 и 16 Гц и минимальной из использованных доз 0.3×10^{-6} Гр/имп. и частотой 13 Гц. дыхательный коэффициент существенно не изменялся. Полученные результаты свидетельствуют о разобщающем действии ИПРИ на фоне угнетения дыхания в нефосфорилирующем и фосфорилирующем состояниях.

Литературные данные относительно действия непрерывного рентгеновского излучения с дозами сопоставимыми с используемыми в данной работе указывают либо на неэффективность этих излучений в отношении изменения функциональной активности митохондрий печени мышей, либо на гормезис [У. Кам, 2013]. Чуть большие дозы ионизирующего излучения от 0,005 до 5 Гр приводят к снижению митохондриального мембранного потенциала и увеличение потребления кислорода, в то время как уровни АТФ были неизменным [S.M. Nugent, 2007], а после 5 Гр гамма-облучения наблюдалось увеличение митохондрий АФК и последующего митохондриального окисления ДНК и ингибирование роста [Т. Yoshida, 2012], так же наблюдалось понижение уровня фосфорилирования на 20% до 12 часов после радиации [N. Aikun-Burns, 2011]. Таким образом, в сравнении с непрерывным излучением, импульсный режим рентгеновского излучения оказался более эффективным в отношении изменения функционального состояния митохондрий гепатоцитов. Результат облучения зависит от частоты повторения импульсов и величины поглощенной дозы.

Возрастные особенности стимуляции α_2 -адренорецепторов на регуляцию сердечной деятельности крыс

Хисамиева Луиза Ирековна

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань,

Khislamieva1988@mail.ru

α_2 -адренорецепторы (α_2 -АР) участвуют в регуляции кровяного давления, внутриглазного давления, оказывают седативный и обезболивающий эффект. Показано, наличие α_2 -АР в гладких мышцах сосудов, печени, тромбоцитах, кардиомиоцитах. Активация α_2 -АР снижает тонус симпатической нервной системы, понижает системное артериальное давление. Роль α_2 -АР в регуляции сердечной деятельности остается объектом дискуссий. Дальнейшие исследования α_2 -адренорецепторов помогут уточнить их роль в регуляции функций организма и позволят выработать правильную стратегию применения лекарственных препаратов блокирующих, либо активирующих разные подтипы α_2 -адренорецепторов. Целью данного исследования было изучение возрастных особенностей стимуляции α_2 -адренорецепторов на хронотропию сердца и артериального давления взрослых крыс. Работа выполнена на 33 белых беспородных крысах 1, 3, 6 и 20 недельного возраста. Наркотизированной крысе (уретан, 800

мг/кг на массу животного) агонист α_2 -АР клонидин (Sigma) в дозе 0,01мг/кг вводили в правую бедренную вену. В ходе эксперимента непрерывно регистрировали ЭКГ и систолическое давление животного. Внутривенное введение клонидина 20, 6, 3 и 1 недельным крысам приводило к урежению сердечной деятельности и понижению систолического давления взрослых животных. У 20 недельных животных к первой минуте после введения клонидина средний кардиоинтервал (Хср) увеличивался на $37\pm 6,1\%$ ($p<0,01$). Максимальный эффект достигался к 15 минуте записи и составлял $139\pm 5,3\%$ ($p<0,001$) от исходного значения. Хср постепенно возрастал у 6 и 3 недельных крыс в ответ на введение миметика до 40 минуты записи, достигнув, соответственно, максимального значения $147\pm 4,9\%$ и $156\pm 10,2\%$ ($p<0,01$) от исходного. В последующие минуты регистрации данных значения Хср начинали понижаться. У 1 недельных животных к 1 минуте записи Хср составило $119\pm 2,4\%$ ($p<0,01$) от исходного значения. На 7 минуте после введения клонидина показатель Хср возрастал на $24\pm 3,7\%$ ($p<0,01$). В последующие минуты записи существенных изменений Хср не наблюдалось.

При стимуляции α_2 -АР 1 недельных крыс отрицательный хронотропный эффект по сравнению с другими возрастными группами животных менее выражен. Клонидин в дозе 0,01мг/кг у 20 недельных животных вызывал сравнительно недолговременное урежение сердечной деятельности. Возрастные особенности влияния стимуляции α_2 -АР могут быть связаны, на наш взгляд, с различной экспрессией пост- и пресинаптических рецепторных белков в различные этапы постнатального онтогенеза и, соответственно, с превалированием влияния этих рецепторов на пре- и постсинаптической мембране.

Локализация Са, Р, Na, К в химусе мини-пигов

Шахмайкина Светлана Константиновна

*Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
Москва, Россия, semizzzvetik@gmail*

Функции минеральных элементов во внутренней среде известны достаточно хорошо, однако их роль в энтеральной среде практически не изучена. В связи с чем целью данной работы - экспериментальным путем определить места локализации таких минеральных элементов, как Са, Р, К, Na в химусе мини-пигов.

Химус каждого отдела кишечника мини-пигов 6-ти летнего возраста фракционировали на пищевые частицы (ПЧ), плотную эндогенную фракцию (ПЭФ) и растворимую фракцию (РФ), высушивали, озоляли и определяли концентрацию указанных элементов атомно-абсорбционным методом в расчете на сухое вещество.

Установлено, что у мини-пигов по мере эвакуации химуса из тонкого в толстый отдел кишечника концентрация Са, Р, Na, К возрастает в 2-3 раза. Наша методика разделения химуса на фракции позволила выявить локализацию минеральных элементов в химусе. Наименьшее содержание этих элементов обнаружено ПЧ на протяжении всего кишечника. Са преимущественно концентрируется в ПЭФ, где его концентрация в 2-5 раз выше, чем в ПЧ и в 5-10 раз выше, чем в слизистой оболочке. В противоположность кальцию, основными местами локализации Na и К является растворимая фракция, где их содержание в 10-300 раз выше, чем в ПЧ и в 2-3 раза выше, чем в слизистой оболочку. Отдельно следует выделить Р, в динамике концентрации которого была отмечена закономерность: в тонком отделе кишечника данный элемент в большей мере локализуется в ПЭФ, а в толстом – в РФ.

Таким образом, нами были выявлены места локализации изучаемых минеральных элементов во фракциях химуса. Такая закономерность не может быть случайной. Полученные данные позволяют нам предположить, что минеральные элементы, извлеченные из корма, не

только подвергаются абсорбции, но и, по-видимому, играют важную роль в структурировании и гомеостазировании химуса.

Исследование минеральных вод источников «Кислый» и «Хар-Бурук» на гомеостаз слизистой оболочки желудка при экспериментальных повреждениях у белых крыс

Эльбикова АЙСА Александровна

Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия, elbikova@yandex.ru

Благодаря активному изучению в последние годы роли физических, в том числе курортных факторов при лечении заболеваний органов пищеварения, получен ряд новых данных о влиянии питьевых минеральных вод, лечебных грязей, физиотерапевтических воздействий на структурно-морфологические и функциональные изменения желудка, печени, поджелудочной железы, кишечника.

Целью работы было исследование влияния минеральных вод Ремонтненского и Хар-Бурукского месторождения Республики Калмыкия на экспериментальное этаноловое язвообразование у крыс. В эксперименте были использованы самцы белых беспородных крыс массой 200-250 г. Животные предварительно были разделены на 3 группы: контроль, опыт 1 и опыт 2. Животные контрольной группы в течение 7 дней до начала эксперимента в качестве питья получали обычную питьевую воду. Крысы групп опыт 1 и опыт 2 выпаивались в течение аналогичного времени растворами минеральных вод источников «Кислый» (с. Ремонтное) и «Хар-Бурук» соответственно (минерализация вод 1 г/л). Вызов этаноловых язв проводили по стандартной методике. Площадь повреждений подсчитывали с помощью бинокулярной лупы с окулярмикрометром. Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTIKA 6.0 ($P < 0,05$).

Повреждения, возникающие на слизистой оболочки желудка при внутрижелудочном введении 96⁰ этанола, имеют вид обширных геморрагий, располагающихся, преимущественно на гребнях складок. Средняя площадь этаноловых повреждений у животных контрольной группы составила $79,2 \pm 12,64 \text{ мм}^2$ ($n=10$). 7-ми дневное поение животных в опытных группах минеральными водами источников «Кислый» и «Хар-Бурук» в лечебно-столовом разведении приводило к уменьшению площади этаноловых язв и составила $41,6 \pm 6,96 \text{ мм}^2$ ($n=10$) и $48,9 \pm 6,39 \text{ мм}^2$ ($n=10$) соответственно. Проведенный статистический анализ экспериментальных данных выявил достоверную значимость протекторных противоязвенных эффектов исследуемых минеральных вод на этаноловой модели язвообразования. Величина протекторного эффекта составила 48% и 39% для ремонтненской и хар-бурукской вод соответственно.

Таким образом, результаты исследования показывают, что минеральные воды источников «Кислый» и «Хар-Бурук» обладают высокой противоязвенной активностью, что, вероятно, объясняется их способностью стабилизировать нарушенный этанолом кровоток СОЖ.

Выражаю благодарность научному руководителю, профессору Калмыцкого госуниверситета, Абушиновой Надежде Норминовне за помощь в подготовке и написанию тезисов.

Работа выполнена при поддержке гранта АВЦП «Диверсификация природопользования как стратегия эффективного бальнеологического освоения республики Калмыкия с использованием инновационных технологий компьютерного и ГИС-моделирования».

**Показатели углеводного метаболизма у мышей с асцитной карциномой Эрлиха при
воздействии электромагнитного излучения СВЧ-диапазона**

Юшкова Елизавета Михайловна, Круглик Ольга Витальевна

*ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет»; ФГБУН «Красноярский научный
центр СО РАН», Красноярск, Россия, yus-elizaveta@mail.ru*

Расширение использования средств мобильной сотовой связи приводит к увеличению электромагнитной нагрузки и изменению электромагнитного фона в окружающей среде городов. Изменение привычного для организма диапазона действия фактора окружающей среды приводит к развитию стресс-реакции. В связи с этим является актуальным определение физиологических и биохимических пределов проявлений адаптации в изменяющихся условиях существования, особенно при патологических состояниях.

В работе исследовано влияние электромагнитного излучения СВЧ-диапазона на организм животного с асцитной карциномой Эрлиха.

Цель данной работы – выявление особенностей углеводного метаболизма у животных с асцитной карциномой Эрлиха под действием электромагнитного излучения СВЧ-диапазона.

В работе использовали лабораторных мышей-самцов ICR, полученных в питомнике ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», массой 20-25 г. Животных ежедневно на 1 час помещали в установку для облучения лабораторных животных, разработанную и собранную на кафедре радиотехники Института инженерной физики и радиоэлектроники СФУ (частота 1 ГГц, ППЭ 70 мкВт/см²). Облучение животных проводили в течение 11 суток. Пробы крови мышей забирали на 7, 9, 11 сутки роста опухоли.

В результате работы получены данные по динамике глюкозы, лактата и кислорода в крови мышей с асцитной карциномой Эрлиха.

Наблюдаемое снижение содержания глюкозы и лактата в периферической крови мышей с асцитной карциномой Эрлиха может быть связано с развитием опухоли в организме, т.к. известно, что клетки асцитной карциномы Эрлиха обладают мощной гликолитической активностью и их процессы дыхания не в состоянии «подавлять» гликолиз и тем самым уменьшать потребление глюкозы. Показано, что под действием электромагнитного излучения СВЧ-диапазона в процессе роста опухоли происходит одновременное повышение содержания глюкозы и лактата в периферической крови животных-опухоленосителей, которое может свидетельствовать об усилении рассогласования регуляции процессов аэробной и анаэробной утилизации глюкозы, подтверждаемое изменением активности ключевых дегидрогеназ, участвующих в переключении метаболических потоков между сопряженными метаболическими путями.