

---

МЕЖДУНАРОДНАЯ АССОЦИАЦИЯ АКАДЕМИЙ НАУК (МААН)  
СОЮЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЩЕСТВ СТРАН СНГ  
ФЕДЕРАЦИЯ ЕВРОПЕЙСКИХ БИОХИМИЧЕСКИХ ОБЩЕСТВ (FEBS)  
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ  
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОНД  
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ  
ИНСТИТУТ ИММУНОФИЗИОЛОГИИ

---

# **НАУЧНЫЕ ТРУДЫ**

## **V СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ** ♦ **V СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ** ♦ **КОНФЕРЕНЦИЯ ADFLIM**

*Под редакцией*

*А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили*

*А.Г. Габимова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого*

**Сочи – Дагомыс, Россия**

**4–8 октября 2016**

УДК 612(06)  
ББК 28.707.3  
Н34



## НАУЧНЫЕ ТРУДЫ V Съезда физиологов СНГ V Съезда биохимиков России Конференции ADFLIM

Под редакцией

*А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили,  
А.Г. Габибова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого*

### Содержание

<b>Ю.В. Наточин</b> <i>Физиология и естествознание</i>	3
<b>Arieh Warshel</b> <i>How to model the action of complex biological systems and to advance molecular medicine</i>	4
<b>В.А. Ткачук</b> <i>Владимир Петрович Демихов – физиолог, трансплантолог, хирург</i>	5
<b>А.Д. Поздрачев</b> <i>Мембранное пищеварение глазами физиолога (к 90-летию со дня рождения А.М. Уголева)</i>	6
<b>Р.И. Сепиашвили</b> <i>50 лет открытия IgE: от гамма E и IgND до персонализированной таргетной анти-IgE терапии и молекулярной аллергологии</i>	10
<b>С.М. Деев</b> <i>Онкогераностика и физиология иммунной системы</i>	12
<b>R. Gerzer</b> <i>Learning from a pioneer: Physiology in the 21<sup>st</sup> Century</i>	14
<b>М.А. Островский, М.П. Кирпичников</b> <i>Оптогенетика и зрение</i>	14
<b>М.В. Угрюмов</b> <i>Представления о механизмах нейропластичности как основа для трансляционной медицины</i>	15
<b>Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук</b> <i>Физиологические механизмы участия стволовых клеток в регенерации тканей</i>	15
<b>I. Silman</b> <i>Acetylcholinesterase: How is its three-dimensional structure related to its function?</i>	16
<b>Ch. Contag</b> <i>Imaging biology in living animals and humans</i>	17
<b>С.А. Недоспасов</b> <i>Цитокины, обратная генетика и новые подходы к терапии аутоиммунных заболеваний</i>	18
<b>M. Caruthers</b> <i>Oligonucleotide synthesis interfaced with molecular biology</i>	18
<b>G. Michael Blackburn, Yi Jin, Robert Molt, Nigel G. Richards, Jon P. Waltho</b> <i>How do enzymes catalyze phosphate transfer? – It's H-bonds, Stupid!</i>	19
<b>В.Т. Иванов</b> <i>Пептидомика: современное состояние и вызовы</i>	21
<b>В.М. Говорун</b> <i>Пластичность метагенома человека – фактор персонифицированной медицины</i>	22
<b>Л.Г. Магазаник, А.В. Зайцев</b> <i>Изменения функционирования глутаматергической системы мозга при судорожных состояниях</i>	23
<b>М.Б. Штарк</b> <i>Нейрососудистое сцепление и фМРТ-ЭЭГ динамическое картирование мозга</i>	24
<b>В.Г. Скребицкий</b> <i>Нарушение синаптической пластичности в гиппокампе in vitro и пути ее восстановления</i>	24
<b>Ф.И. Фурдуй, В.К. Чокниэ, В.Ф. Фурдуй, В.Г. Врабие, А.Г. Глижин, Е.С. Березовская</b> <i>Направленное формирование здоровья человека – важнейшая задача физиологии и санокреатологии</i>	25
<b>С.Д. Варфоломеев</b> <i>Компьютерное моделирование в молекулярной медицине и конструировании лекарств</i>	25
<b>В.М. Покровский</b> <i>Развитие идей нобелевского лауреата Ивана Петровича Павлова о целостности организма на современном этапе физиологии</i>	26
<b>Тезисы докладов</b>	3
<b>Авторский указатель</b>	239

Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM. — АСТА NATURAE | СПЕЦВЫПУСК Том 1 — Под ред. А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили, А.Г. Габибова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого — 2016. — 244 с. — ISBN 978-5-9902238-4-4.

Сборник научных трудов включает материалы актовых и пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на V Съезде физиологов СНГ, V Съезде биохимиков России и Конференции ADFLIM, состоявшихся в рамках единого научного форума в Сочи-Дагомысе, 4-9 октября 2016 года.

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

ISBN 978-5-9902238-4-4

ББК 28.0707.3

© Союз физиологических обществ стран СНГ, 2016

© Российское общество биохимиков и молекулярных биологов

## ФИЗИОЛОГИЯ И ЕСТЕСТВОЗНАНИЕ

Ю.В. Наточин

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

Конгрессы физиологов, съезды Союза физиологических обществ стран СНГ дают возможность ощутить, понять состояние и тенденции развития физиологии как науки, по-иному взглянуть на область собственных научных интересов, увидеть коллег, обратиться к словам благодарности тем, кто осуществил возможность встречи. Еще совсем недавно физиологи республик СССР, ныне разных стран СНГ, были членами единого физиологического общества, у истоков создания которого в 1917 году был академик И.П. Павлов. Регулярно проводились съезды общества, физиологи встречались в Алма-Ате и Ереване, Минске и Тбилиси, Ленинграде и Киеве... Четверть века назад мир на территории нашей страны стал иным, появилось много новых государств, но сохранилось тяготение друг к другу физиологов этих стран. Была найдена новая организационная форма для объединения, предложенная академиком АН Грузии Р.И. Сепиашвили, что стало первым шагом в создании Союза физиологических обществ стран СНГ. Особенно велика роль в возникновении этого Союза президента Российского физиологического общества им. И.М. Сеченова, разностороннего физиолога, выдающегося организатора науки академика О.Г. Газенко, который был первым президентом Союза физиологических обществ стран СНГ. Формирование Союза проходило на моих глазах и памятно активное участие представителей физиологических обществ всех стран СНГ в создании эффективной научной организации.

Несколько мыслей о науке, которая нас объединяет. Физиология, сформировавшаяся в XVII веке, явилась крупным шагом на пути развития естествознания. Предшествовавшие этому этапу исследования касались строения, анатомии органов, с изобретением микроскопа появилась гистология. Физиологическое направление в естествознании стало развиваться в Германии, Франции, в XVIII веке были выполнены первые физиологические исследования в России. Развитие физиологии в XIX–XX вв. шло по пути более глубокого проникновения в механизмы физиологических функций, успехи физики и химии помогли понять логику формирования функций, взаимоотношения структуры и функции. Естественный ход научного исследования привел к необходимости анализа физико-химических основ явлений жизни, пришло «время разбрасывать камни», в недрах физиологии формируется физиологическая химия, биологическая физика, функциональная морфология. Все более дробится некогда единое древо физиологии, бурно развивающаяся физиологическая химия становится биологической химией, оформляется биофизика. Всем известно революционное значение появления в середине XX века молекулярной биологии. Возникает физиологическая генетика.

К концу XX века все значительнее становится финансирование новых направлений естествознания, но не физиологии. Это вскоре находит отражение в резком увеличении числа публикаций, количества журналов и грантов, кафедр и институтов по новым направлениям наук о жизни. Достигнуты впечатляющие успехи в понимании отдельных сторон жизненных явлений. В середине 90-х гг. XX века во время Международного физиологического конгресса в Глазго меня поразила смысловая точность китайских иероглифов, обозначающих физиологию – Логика жизни. В этом ключе возникает естественный вопрос, что ждет физиологию в XXI веке. Несколько лет назад после лекции в Пекинском университете я обсуждал эту проблему, исходя из языкового и смыслового значения физиологии. В оценке многих явлений жизни оттачиваемый в миллионах умов язык народа передает в оттенках значений слов новые возможности формулировки мысли, отшлифовывает их. Примеры этому можно найти при чтении классиков, носителей языка, глубокого проникновения в тайны словарей. Поэтому такое значение имеет словарный запас человека. Оттенки мысли находят отражение в многозначности слов, они ярко высвечиваются в переводах даже одного и того же стихотворения, текста на русский язык. Достаточно сопоставить переводы сонетов Шекспира, выполненные Б. Пастернаком, Т. Щепкиной-Куперник, М. Чайковским, Н. Гербелем, С. Маршаком, или стихотворения Г. Гейне «Ein Fichtenbaum steht einsam», которое можно найти у М. Лермонтова, И. Павлова, М. Михайлова.

Какое отношение это имеет к развитию физиологии? Есть генетически заданная структура и её функция, но существует огромный пласт явлений, касающихся модуляции, адаптации функции к сиюминутной ситуации. Это ясно выражается и в языке. Многозначность слов позволяет точнее выразить мысль в предложении, многоликость мельчайших изменений одного и того же белка при действии регуляторных факторов в клетке, в целостном организме находит отражение в разных формах его участия в одной и той же функции. Даже однойцывые близнецы при практически полном генетическом сходстве несколько разнятся в своих функциональных отправлениях. Из сказанного и многих иных фактов следует, что неисчислимы функциональные реакции одних и тех же макромолекул в зависимости от влияния на них регуляторных молекул в мозаике функций целостного организма.

Великие достижения молекулярной биологии наших дней выявили фантастические ее возможности в анализе природы биологических процессов, это предъявляет новые требования к изучению механизма физиологических функций в конструкциях целостных организмов. Только сочетание этих подходов с исследованиями *in vivo* позволит установить, воссоздать недостающие звенья образа регуляции функций, обеспечить возможность следующего шага в познании истинной природы физиологического процесса и его регуляции, но обязательно *in vivo* и *in corpore*. Появляются новые методические приемы для функциональных исследований *in vivo*, все более широкие возможности дает техника визуализации, например, применение прижизненной мультифотонной микроскопии или технология ПЭТ. Эти подходы, знания служат шагом в развитии физиологии и как фундаментальной науки, и безусловно необходимы для широкого прикладного использования достижений физиологии в медицине, ветеринарии, спорте.

Можно надеяться, что усиление интегративного подхода для понимания сути явлений в организме живых существ, осмысление невероятного большинства массивов новых фактов при решении физиологических задач поможет осознанию роли каждого компонента системы в физиологической функции. Это предопределяет необходимость нового этапа в развитии физиологии, где на смену эпохи дифференциации наук идет время консолидации, «время собирать камни», объединения в едином мире Физиологии достижений нейронаук, физиологии висцеральных систем, физиологии иммунной системы, физиологии развития и физиологии движений. Для построения единой Физиологии необходимы знания о взаимодействии функций макро- и микроорганизмов, микробиома, сравнительной физиологии, в том числе особенностей функций у разных групп

животного мира – рыб, насекомых, растений, развития гравитационной и эволюционной физиологии... Задача в том, чтобы способствовать тенденциям нашего времени в совокупном использовании широкого круга подходов, информационных технологий, достижений новых наук для развития физиологии во имя ее главной цели – глубокого проникновения в природу физиологических явлений в механизмах осуществления функций, а в итоге приложения этих данных для развития человека и его творческих возможностей. Достижения физиологии могут быть использованы для разработки новых технологических решений на основе смыслов, найденных природой и понятых физиологами.

Физиология относится к числу наук, которые будут развиваться, впитывая новые технологические решения для разного понимания функций живых организмов. Проблемы физиологии столь же неисчерпаемы, как сама жизнь. Несоответствие результатов опыта предполагаемой схеме в уме исследователя дарует возможность открытия нового, недостающего звена в последовательности регуляторных процессов. Не поддаются пока объяснению, решению проблемы появления Человека, Сознания, Козволюции, многих кажущихся аномальными явлений в реализации физиологических функций, развития некоторых патологических состояний. Естествознание, и Физиология, как его важная часть, безусловно необходимы в системе школьного и университетского образования.

*АКТОВАЯ ЛЕКЦИЯ ЛАУРЕАТА НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ*

**HOW TO MODEL THE ACTION OF COMPLEX BIOLOGICAL SYSTEMS AND TO ADVANCE MOLECULAR MEDICINE**

**Arieh Warshel**

*University of Southern California, USA*

The understanding of biological systems has progress enormously due to the progress in structural and biochemical research. However, we are frequently left without a well-defined structure function correlation and cannot fully describe how different systems actually work. Obviously such a description will help to advance medical research. The attempt to describe quantitatively the action of biological systems presents a major challenge for computer modeling approaches that are aimed at a realistic simulation of the functions of such systems. The unresolved questions range from the elucidation of the basis for enzyme action to the understanding of the directional motion of complex molecular motors. The current lecture will consider the simulations of different biological systems. This will start with a review the progress in simulating biological functions, starting with the development of QM/MM approaches for simulations of enzymatic reactions [1]. We provide overwhelming support to the idea that enzyme catalysis is due to electrostatic preorganization. We will also consider the fundamental problems with some of the traditional proposals for the origin of enzyme catalysis including the popular dynamics proposal. After describing problems that can be model by direct all atom simulations we will move to the challenge of modeling very large systems and longtime processes. We will describe the renormalization approaches aimed at modeling long time processes, demonstrating that dynamical effects cannot change the rate of the chemical steps in enzymes [2]. Next we will describe the use our electrostatic augmented coarse grained (CG) model [2] and the renormalization method to simulate the action of different challenging complex systems. It will be shown that our CG model produces, for the first time, realistic landscapes for vectorial process such as the actions of F1 ATPase [3, 4], F0 ATPase [5] and myosin V [6]. It will also be shown that such machines are working by exploiting free energy gradients and cannot just use Brownian motions as the vectorial driving force. Significantly, at present, to the best of our knowledge, our studies are the only studies that reproduced consistently (rather than assumed) a structure based vectorial action of molecular motors. We also describe a breakthrough in CG modeling of voltage activated ion channels [7] and outline a recent simulation of the tag of war between stalled elongated peptide in the ribosome and the translocon as an illustration of the power of our CG approach [8]. It will be concluded that the emerging finding from all of our simulations has been that electrostatic effects are the key to generating functional free energy landscapes. Finally, we will present some thought on the future of the field, taking drug resistance as an example [9].

**References**

1. Electrostatic Basis for Enzyme Catalysis, A. Warshel, P. K. Sharma, M. Kato, Y. Xiang, H. Liu and M. H. M. Olsson, Chem. Rev., 106, 3210 (2006).
2. Coarse-Grained (Multiscale) Simulations in Studies of Biophysical and Chemical Systems, S. C. L. Kamerlin, S. Vicatos, A. Dryga and A. Warshel, , Ann. Rev. Phys. Chem. 62,41 (2011).
3. Electrostatic Origin of The Mechanochemical Rotary Mechanism And The Catalytic Dwell of F1-ATPase, S. Mukherjee and A. Warshel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA ,108, 20550 (2011).
4. Torque, chemistry and efficiency in molecular motors: a study of the rotary–chemical coupling in F1-ATPase, S. Mukherjee, R. B. Prasad and A. Warshel, QRB, Discovery, 48, 395–403 (2015).
5. Realistic simulations of the coupling between the protomotive force and the mechanical rotation of the F0-ATPase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 109,14876 (2012).
6. Electrostatic origin of the unidirectionality of walking myosin V motors, S. Mukherjee and A. Warshel , Proc. Natl. Acad. Sci. USA, ,110 , 17326-17331 (2013).
7. Converting Structural Information Into an Allosteric-Energy-Based Picture for Elongation Factor Tu Activation by The Ribosome, A. J. Adamezyk and A. Warshel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA ,108 ,9827 (2011).
8. Simulating the pulling of stalled elongated peptide from the ribosome by the translocon, A. Rychkova, S. Mukherjee, R. P. Bora, and A. Warshel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA ,110, 10195-10200 (2013) .
9. Prediction of Drug Resistance mutation of HIV Protease, H. Ishikita and A. Warshel, Angew. Chem. Int. Ed., 47,697-700 (2008).

*АКТОВАЯ ЛЕКЦИЯ им. И.П. ПАВЛОВА*

**ВЛАДИМИР ПЕТРОВИЧ ДЕМИХОВ – ФИЗИОЛОГ, ТРАНСПЛАНТОЛОГ, ХИРУРГ**

**В.А. Ткачук**

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

Владимир Петрович Демихов родился 18 июля 1916 года на хуторе Кулики на территории современной Волгоградской области в семье крестьянина. Отец Петр Яковлевич погиб во время гражданской войны, в 1919 году, мать Домника Александровна одна вырастила троих детей, все они получили высшее образование. Владимир учился в ремесленном училище, работал на заводе, а в 1935 году был отправлен на учебу на биофак Воронежского университета, где учился до 1939 года.

В эти годы, проводя операции на собаках, он сумел имплантировать автожектор Брюхоненко в тело собаки. Это событие отмечено в западных источниках как первое создание искусственного сердца. Случилось это в 1937 году. Профессор С.С. Брюхоненко настоял на переводе 21-летнего студента на кафедру физиологии животных МГУ, которую он успешно закончил в 1940 году. Талантливый парень так проникся опытами И.В. Мичурина, который вегетативно скрещивая разные виды растений, создал десятки видов морозоустойчивых растений, что решил добиться того же, пересаживая органы и ткани у животных. К сожалению, опыты Мичурина стали флагом учения Лысенко–Лепешинской и других идеологов преобразования природы. Началась борьба с генетиками, которая завершилась их разгромом на сессии ВАСХНИЛ и совместной сессии АН и АМН СССР в 1950 году.

В.П. Демихов не участвовал в этих дискуссиях, но его опыты противоречили многим теориям того времени (да и сейчас не находят полного объяснения). К сожалению, в «респектабельных» академических кругах он приобрел репутацию шарлатана-мичуринца. К 1947 году он сделал 94 трансплантации сердца собакам, успешно пересаживал комплексы сердце–легкие. Собаки жили в течение недели, позже они будут жить месяцами. В 1948 году он занялся пересадкой печени, собаки жили до 9 суток. Совместно с А.В. Вишневым проводил пересадку почки, а совместно с В.М. Горайновым в 1954 году осуществил пересадку собаке второй головы. Собаки, составленные из двух половин, жили до 6 дней.

С каждым годом трансплантация органов от одного животного другому сопровождалась менее острыми реакциями отторжения, а гибель животного наступала позднее. По мнению Демихова, это происходило благодаря тому, что перед трансплантацией он проводил перекрестное кровообращение двух собак или же выделял из собаки комплекс висцеральных органов – сердце, легкие, органы брюшной полости и переносил их в стерильных условиях в термостат с температурой 38–39°C с искусственной вентиляцией легких, а также введением питательных веществ через пищевод в желудок. В таком состоянии висцеральные органы функционировали много часов и после этого годились для трансплантации и не вызывали быстрой реакции отторжения.

В 1953 году В.П. Демихов выполнил маммаро-коронарное шунтирование сердца, после чего собаки прожили более двух лет, одна из собак – семь лет. Демихов не имел диплома врача, так как в 1930 году медицинский факультет был выведен из состава МГУ (и из всех других классических университетов), и поэтому человек, которого Запад называет величайшим хирургом XX века, в СССР мог проводить операцию коронарного шунтирования только на сердце умерших людей. По какой-то причине (может быть, из-за того, что у него была репутация шарлатана-мичуринца) хирурги-современники (А.А. Вишневский, Б.В. Петровский, А.Н. Бакулев и др.), присутствовавшие на его операциях и убеждавшиеся в их успешности, не торопились повторять эти операции в клинике, но хирурги других стран, не знавшие о научных разногласиях в нашем обществе, приезжали в СССР специально, чтобы посмотреть его операции и перенять опыт, после чего приобретали заслуженную репутацию великих хирургов.

Так, Кристин Бернар, хирург их ЮАР, трижды посещал лабораторию Демихова, после чего сумел пересадить сердце человеку, за что получил Нобелевскую премию. В нобелевской речи он назвал Демихова своим учителем и специально приехал в Москву, чтобы поблагодарить его, но обнаружил его все в том же холодном темном подвале, где Демихов в одиночку продолжал операции на собаках. Майкл Дебейки, прочитав о маммаро-коронарном шунтировании, приехал для стажировки к Демихову и спустя несколько месяцев провел такую же операцию на сердце человека, после чего был назван журналом Тайм «человеком года». Он до последних своих дней (а умер он за полгода до столетия) говорил, что своей карьерой и славой обязан двум людям – своей маме и Демихову.

В 1963 году Демихову разрешили защитить кандидатскую диссертацию на биофаке МГУ. Официальный оппонент Ф.И. Андросов написал в отзыве, что эта кандидатская диссертация потянула бы на 6 докторских диссертаций. Демихову присвоили звание доктора биологических наук, но тут снова вмешалась политика. В 1964 году Н.С. Хрущев, поддерживавший Т.Д. Лысенко, был смещен и учение генетики в СССР было возвращено в лоно официальной науки. Но оказалось, что многие из генетиков проявляют такую же нетерпимость к научным противникам, как и их прежние гонители. Демихов не получил лаборатории, не стал профессором. Никого из ученых не заинтересовали методы преодоления реакции отторжения чужеродных органов, применявшиеся им в течение десятилетий, во времена, когда вообще не существовало иммуносупрессоров...

Не знаю и сейчас тех хирургов, иммунологов или биологов, которые бы пытались продолжить или объяснить физиологические феномены, описанные Демиховым, например, оживление сердца через 3–6 часов после смерти человека, или же функционирование «висцерального органа» в течение 7 дней вне организма собаки. Что происходило с процессами гистосовместимости и реакциями отторжения в этих органах, со всей иммунной системой, в результате чего органы приживались и функционировали в течение недель и месяцев без дополнительных фармакологических воздействий?

На медицинских факультетах ведущих университетов Запады существуют специальные курсы, на которых рассказывают об опытах Демихова, пишут о нем статьи и диссертации. Рассказывают также о его друзьях, соратниках, участвовавших в опытах по трансплантации и в результате тоже сделавших великие открытия. Так, В.А. Неговский создал науку реаниматологию, Н.Л. Гурвич создал первый дефибрилятор. Имена этих людей знают западные ученые, но их редко упоминают в отечественных курсах истории медицины.

Отечественная медицина потеряла приоритет, с опозданием приняв на вооружение методы трансплантологии, созданные Демиховым, спустя десятилетия после того, как они были внедрены в медицину западными учеными. Отечественные имму-

нологи, физиологи, биохимики также не обратили внимания на то, что наш соотечественник еще полстолетия назад создал методы, позволяющие преодолевать иммунологические реакции. Не только вопросы нравственности, но и интересы нашей науки требуют, чтобы мы помнили имена не только тех ученых, которые увенчаны лавровыми венками, но и тех, к которым слава пока не пришла, или достижения которых мы все еще не в состоянии осознать и объяснить. Таким человеком был В.П. Демихов, великий хирург-физиолог, создатель науки трансплантологии.

*АКТОВАЯ ЛЕКЦИЯ*

## **МЕМБРАННОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ ГЛАЗАМИ ФИЗИОЛОГА**

**(к 90-летию со дня рождения А.М. Уголева)**

**А.Д. Ноздрачев**

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

В своём историческом завещании Альфред Нобель не случайно указал, что премию по физиологии или медицине следует присуждать за открытие. Будучи сам изобретателем, получившим более 350 патентов, он понимал особую ценность открытия и широту оказываемого им влияния. Открытие, о котором пойдёт речь в настоящей лекции, заставило пересмотреть классическую схему эволюции пищеварительного процесса. Однако его автор, академик Александр Михайлович Уголев, Нобелевской премии не получил, хотя неоднократно номинировался на ее присуждение.

Прошло более 60 лет, как было открыто мембранное пищеварение. В течение этого периода гипотеза, первоначально вызвавшая дискуссии, получила признание, обрела статус теории, были исследованы многие ее аспекты. Доказана исключительная важность мембранного пищеварения для ассимиляции пищи и, следовательно, для организма в целом. Его существование было установлено у организмов различных классов от простейших до млекопитающих. Более того, обнаружено, что мембранное пищеварение – основной механизм пищеварения у растений, грибов и бактерий. Это позволяет считать мембранное пищеварение универсальным во всех пяти царствах жизни.

К середине XX столетия считалось общепринятым, что пищеварение в тонкой кишке высших организмов протекает исключительно в полости кишки под действием ферментов, которые поступают в нее с секретами основных пищеварительных желез. Согласно этой схеме, сложные пищевые вещества, поступающие в желудочно-кишечный тракт, полностью гидролизуются до элементов, способных к всасыванию благодаря ферментам, действующим в пищеварительных полостях. Этот тип пищеварения у высших животных и человека стал обозначаться термином полостное (люминальное) пищеварение. Стенка тонкой кишки рассматривалась просто как барьер между просветом кишки и внутренней средой организма. Позже полостное пищеварение исследовалось целым рядом гениальных ученых, включая Клода Бернара, Гейденгайна, Людвиг и др. Важнейшее место в этом созвездии ярчайших ученых занимает И.П. Павлов, который считается создателем новой физиологии пищеварения. В 1904 году он стал первым лауреатом Нобелевской премии по физиологии, и соответственно России.

Магистральный путь развития направления ассоциировался с детальным изучением полостного, а также с открытием И.И. Мечниковым внутриклеточного пищеварения. Этот великий ученый предложил схему, которая просто и элегантно описывала эволюцию пищеварения от примитивного внутриклеточного, типичного для низших форм, до высокоорганизованного полостного пищеварения у высших организмов. В 1908 году эта выдающаяся работа также была удостоена Нобелевской премии. До середины XX столетия учебники и руководства рассматривали пищеварение в тонкой кишке лишь как процесс, протекающий в ее полости. Следовательно, была принята двухзвенная картина ассимиляции пищи: полостное пищеварение – всасывание.

К середине минувшего столетия было установлено, что углеводы и белки поступают во внутреннюю среду организма в виде простых элементов, мономеров (первые – в форме моносахаридов, таких как глюкоза, галактоза и др., вторые – в виде аминокислот). Кроме того, имелось важное свидетельство отсутствия ряда пищеварительных ферментов в содержимом кишечника. Сопоставление этих данных послужило основанием полагать, что между полостью тонкой кишки и сосудистой системой локализован механизм, осуществляющий заключительный гидролиз полимеров до мономеров, доступных к всасыванию и ассимиляции. Чтобы преодолеть существующие противоречия, была выдвинута концепция внутриклеточного пищеварения, которая получила широкое распространение, особенно за рубежом.

Современная трехзвенная схема ассимиляции пищевых веществ (полостное пищеварение – мембранное пищеварение – всасывание), восходит к концу 1950-х – началу 1960-х годов. Молекулярные механизмы взаимоотношения ферментных и транспортных систем мембраны кишечных клеток стали понятными еще позднее и даже к настоящему времени не полностью решены. Чтобы получить представление о происхождении концепции мембранного пищеварения следует принять во внимание несколько факторов первостепенной важности. Самая древняя форма пищеварения – внутриклеточное. Оно распространено у простейших и примитивных многоклеточных животных. У высших оно выполняет главным образом защитные функции типа фагоцитоза. Существует два вида внутриклеточного пищеварения. Один связан с транспортом через клеточную мембрану небольших молекул с последующим их расщеплением ферментами цитоплазмы клетки, в основе другого лежит захват пищевых частиц клеточной мембраной, перемещение их в цитоплазму, где с участием различных гидролаз и происходит их расщепление.

Что же касается открытого Уголевым мембранного, или пристеночного, пищеварения, то оно занимает промежуточное положение между внеклеточным и внутриклеточным типами [1]. У высших позвоночных животных мембранное пищеварение происходит на внешней, или апикальной, поверхности эпителиальных клеток, обращенной в просвет кишки. За счёт микроворсинок (3–4 тыс. на каждой клетке) на этой поверхности образуется своеобразная щётчатая кайма – именно та структура, где осуществляется мембранное пищеварение и всасывание продуктов гидролиза. На мембране кишечной эпителиальной клетки экспериментально установлено присутствие около трёх десятков ферментов и двух десятков локусов, связанных с транспортной функцией. Каталитические центры ферментов, участвующих в мембранном пищеварении, ориенти-

рованы преимущественно в направлении водной фазы, а их свободная ориентация по отношению к субстратам, в отличие от внеклеточного пищеварения, невозможна. Из-за этого, в частности, мембранное пищеварение мало эффективно при расщеплении надмолекулярных структур и крупных молекул, которые не могут проникнуть в зону щёточной каймы и полимеризуются только при полостном пищеварении. В процессе расщепления пищевых веществ активное участие принимают и собственно кишечные ферменты клеточной мембраны или их производные. Для лучшего понимания существа открытого Уголевым мембранного пищеварения представляется необходимым в нескольких словах рассказать ещё об одном образовании кишечной эпителиальной клетки – гликокаликсе, играющем заметную роль в механизме мембранного пищеварения. Это не что иное, как среда, через которую происходит общение клетки с пищевыми веществами. Гликокаликс покрывает наружную поверхность плазматической мембраны большинства клеток, включая кишечный эпителий. На свободной поверхности эпителиальной клетки, обращённой в просвет кишки, гликокаликс образует войлочный гликопротеиновый слой. Толщина его на микроворсинках составляет не более 0,5 мкм. Гликопротеиновый слой придает механическую прочность мембране, а также участвует, как показал Уголев, в ионном обмене, выполняя функцию трёхмерной сети. Это своеобразное «молекулярное сито», обладающее значительной гидрофильностью, сортирует молекулы по величине и заряду, придавая процессам их переноса векторный и селективный характер. Быстрое обновление гликокаликса создаёт условия для эффективного функционирования щёточной каймы как пористого реактора. Регулярное сбрасывание «зрелого» гликокаликса способствует очистке пространства между ворсинками.

Уже в своих первых работах А.М. Уголев показал, что мембранный гидролиз, вносящий наибольший вклад во всасывание продуктов, происходит непосредственно на поверхности микроворсинок. Это создает особенно благоприятные условия для всасывания. Проведенные расчеты продемонстрировали, что концентрация продуктов гидролиза крахмала в непосредственной близости к кишечной слизистой оболочке должна быть многократно выше, чем таковая в химусе. Он предположил, что всасывание определяется не градиентом химус – кровь, а градиентом премембранный слой – кровь. Таким образом, уже с первых своих работ Уголев развивал фундаментальные концепции мембранного пищеварения.

Исследования, результатом которых явилось открытие мембранного пищеварения, Уголев проводил один. Его небольшая группа была занята другими проблемами, поскольку исследование мембранного пищеварения казалось ему слишком рискованным предприятием. Но он постоянно обсуждал свои данные с коллегами и друзьями. Уже в 1958 году Уголев докладывал о результатах исследований своим учителям академиком В.Н. Черниговскому и Е.А. Браунштейну и получил их полную поддержку. По мнению Черниговского, эта проблема заслуживала серьезнейшего внимания, а Браунштейн лукаво заметил, что в двадцатом веке «великие открытия не могут лежать на поверхности», имея в виду, что мембранное пищеварение это поверхностный процесс. В то же время Браунштейн добавил, что если бы данные подтвердились в ходе дальнейших строгих экспериментов, он был бы склонен в них поверить. Для этого Браунштейн передал Уголеву японский препарат очищенной амилазы, с использованием которого были воспроизведены те же эффекты. Это сделало Браунштейна верным сторонником мембранного пищеварения.

Первая работа, посвященная мембранному пищеварению, была сделана в 1957–1958 годах, статья направлена в «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины» в январе 1960 года. В ней Уголев писал: «Наши данные показывают, что полостное пищеварение во всей массе химуса – не единственный и не главный механизм, осуществляющий расщепление и ассимиляцию пищи, и что наряду с этим механизмом функционирует система некоторых очень важных, но еще не вполне ясных процессов, которые мы объединили под названием мембранное или контактное пищеварение» (Уголев, 1960, стр. 12–13). Вторая статья была опубликована в том же году в трудах конференции в Иваново (Уголев, 1960).

После всеобщего признания мембранного пищеварения Крейн (Crane) (1975) сделал заявление о своем приоритете в открытии этого механизма ассимиляции пищи. Он указывал, что сожалеет о неадекватности названия своей статьи, написанной в соавторстве с Миллером (Miller) в 1961 году (“The Digestive Function of the Epithelium of the Small Intestine. I. An Intracellular Locus of Disaccharide and Sugar Phosphate Esters Hydrolysis”) и что в ней доказывалась скорее мембранная, чем внутриклеточная локализация гидролаз. В действительности, когда формулировалась концепция мембранного пищеварения, Крейн (Crane) был ее стойким оппонентом.

Экспериментальные проверки и дальнейшие исследования свойств мембранного пищеварения проводились в Ленинграде в Институте физиологии им. И.П. Павлова АН СССР, где Уголев работал с декабря 1960 г. Кроме Уголева в группу по исследованию мембранного пищеварения входили Н.М. Тимофеева, Н.Н. Иезуитова и др. Был разработан ряд методологических подходов и специальных методов для исследования гидролиза полисахаридов, дисахаридов и дипептидов. К этому времени началось освоение критериев, которые позволили определять локализацию пищеварительных ферментов в кишечных клетках и, следовательно, дифференцировать внутриклеточное и мембранное пищеварение.

Данные ленинградской группы Уголева были доложены на Первом национальном биохимическом конгрессе в Ленинграде (Иезуитова, 1963, Тимофеева, 1963). Они касались роли мембранного пищеварения в ассимиляции некоторых поли- и олигосахаридов и дипептидов. Доказательство мембранного пищеварения названных субстратов было представлено также в статье, опубликованной в том же году в «Докладах Академии Наук», а затем год спустя в “Nature” (Ugolev et al., 1964). Эти работы касались влияния скорости перфузии сегмента тонкой кишки крыс на интенсивность гидролиза сахарозы, а также влияния перемешивания на гидролиз того же субстрата и некоторых дипептидов.

Путь, который проделал Уголев к открытию мембранного пищеварения, драматическим образом отличается от пути иностранных ученых. Большинство исследователей, которые пытались преодолеть противоречия, возникшие в гастроэнтерологии в конце 1950-х – начале 1960-х годов, были выдающимися специалистами в области всасывания. Следовательно, процессы транспорта были знакомы им значительно больше, нежели пищеварение. Уголев, напротив, изучал процессы пищеварения. Поэтому неудивительно, что он обладал наиболее полными знаниями о собственно пищеварении и энзимологии, тогда как всасывание он рассматривал как процесс, происходящий после пищеварения. Поскольку мембранное пищеварение это прежде всего пищеварение, в конечном счете сопряженное с всасыванием, первоначальное предположение давало Уголеву серьезные преимущества.

Следует также отметить, что открытие мембранного пищеварения имело большое прикладное значение, поскольку оно заставило пересмотреть многие представления об этиологии и патогенезе ряда желудочно-кишечных заболеваний. В частности, стало очевидным, что такие патологии, как малабсорбция, малнутриция, пищевые intolerance и т. д., происходят

от нарушения мембранного пищеварения. Стало ясно, что на основе одного только полостного пищеварения невозможно понять ряд важных явлений, например, полостное пищеварение не обеспечивало эффективного перехода от гидролиза пищевых веществ к их всасыванию.

Как было установлено Уголевым, кишечные эпителиальные клетки имеют собственную сократительную систему. С одной стороны, она служит опорой для щёточной каймы, с другой – регулирует подвижность клеточной мембраны. Благодаря этим структурам происходит сокращение и расслабление микроворсинок, что существенно влияет на скорость мембранного пищеварения и всасывания. Удалось выявить ещё одну функцию сократительного аппарата кишечных клеток – их контроль за слушиванием эпителия, что обеспечивает поддержание постоянства барьерных свойств эпителиального пласта.

Следовательно, мембранное пищеварение занимает промежуточное положение между полостным пищеварением (обеспечивает начальные этапы расщепления пищевых веществ) и всасыванием продуктов мембранного гидролиза во внутреннюю среду организма (в виде моносахаридов, аминокислот и частично ди- и трипептидов). Посредством мембранного пищеварения осуществляются промежуточные и заключительные стадии гидролиза пищевых веществ, а также сопряжение конечных этапов переваривания и начальных этапов всасывания. Это достигается, как экспериментально продемонстрировал Уголев, путём специальной организации пищеварительных и транспортных функций клеточной мембраны в виде своеобразного пищеварительно-транспортного "конвейера". Стало быть, полостное пищеварение без мембранного не может иметь существенного значения, поскольку всасывание большинства олигомеров без предварительного мембранного гидролиза просто невозможно. О важной физиологической значимости мембранного пищеварения свидетельствует уже то, что в его ходе расщепляется от 80 до 90% всех первичных химических связей пищевых биополимеров. Этот тип пищеварения свойственен всем млекопитающим, птицам, земноводным, рыбам, круглоротым и многим представителям беспозвоночных животных, включая насекомых, ракообразных, моллюсков, червей. Более того, все три типа пищеварения обнаружены у растений, особенно в их корнях, у простейших и грибов.

Вначале казалось, что мембранное пищеварение – характерная особенность лишь тонкой кишки. Но очень скоро в лаборатории Уголева было установлено наличие точно такого же механизма в толстой кишке, почках, печени, сердечно-сосудистой системе и ряде других непещеварительных органов. Однако функциональное значение подобных процессов за пределами пищеварительного аппарата во многом остаётся неясным и до сих пор.

Открытие мембранного пищеварения привело к коренному пересмотру многих классических представлений и разрешило серьёзные противоречия, существовавшие в физиологии этой висцеральной системы. С новых позиций удалось охарактеризовать, например, масштабы мембранного гидролиза и транспорта в условиях, приближающихся к физиологическим, рассмотреть молекулярную физиологию кишечных ферментов и оценить значение кишечного барьера в целом [2]. В ходе исследований, проведённых под руководством Уголева, были изучены уровни организации мембранного пищеварения, его пространственная топография вдоль тонкой кишки и в системе «крипта–ворсинка», организация и регуляция полисубстратных процессов. Благодаря открытию мембранного пищеварения стало возможным объяснение механизмов развития многих видов патологии желудочно-кишечного тракта

Среди научных достижений, связанных с открытием мембранного пищеварения, особо выделяются исследования кишечной гормональной системы и, в частности, непещеварительных эффектов интестинальных гормонов, названных Уголевым «энтеринами». Ещё в 1952 году ему впервые за всю историю физиологии удалось осуществить успешное удаление двенадцатиперстной кишки у кошек и собак. В результате был детально проанализирован развивающийся при этом синдром «дуоденальной недостаточности», характеризующийся крайним исхуданием, сменяющейся таким же крайним ожирением. Эти и многие другие наблюдения позволили Уголеву сделать принципиально важный вывод о том, что двенадцатиперстная кишка продуцирует гормоны, регулирующие деятельность не только пищеварения, как считалось ранее, но и других органов и систем. В дальнейшем он продемонстрировал существование специфических энтеро-адреналовой, энтеро-нейрональной, энтеро-гепатической и энтеро-тиреоидной осей и установил ещё одну исключительно важную закономерность, суть которой состоит в том, что кишечная гормональная система активно участвует в возникновении специфического динамического действия пищи и регуляции аппетита [3].

Проведя исследование ферментативной активности и анализ локализации гидролитических процессов отдельных слоёв тонкой кишки, Уголев выдвинул исключительно интересное предположение о существовании своеобразного соединительнотканного пищеварения, связанного с клетками крови – лейкоцитами, фибробластами, а также эндотелием сосудов. Такое представление существенно расширяет известную эволюционную концепцию Мечникова, так как можно допустить, что в организме высших позвоночных животных лейкоциты выполняют не только иммунную, но и трофическую (питательную) функцию. Существование последней убедительно объясняет давно всем известное возникновение тотчас после приёма пищи так называемого пищевого лейкоцитоза, а также миграцию лейкоцитов в межклеточные пространства эпителиального слоя стенки пищеварительного тракта. Система соединительнотканного пищеварения распространена в животном мире достаточно широко, что было показано многими исследованиями на примере непещеварительных органов. Эта система повышает надёжность кишечного барьера, защищающего внутреннюю среду организма от агрессии пищевых, токсических и других веществ. Изучение свойств ферментативного барьера, наряду с иммунным и эпителиальным, может оказаться исключительно полезным, особенно при рассмотрении различных форм патологии пищеварительного тракта. Это интереснейшее и перспективное направление, к сожалению, осталось незавершённым.

Опираясь на открытия, тщательно проанализированные этапы и механизмы мембранного пищеварения, Уголев рассмотрел закономерности усвоения пищевых веществ на всех иерархических уровнях организации биологических систем: клетка – орган – организм – экосистема – биосфера с позиции созданной им же единой междисциплинарной науки – трофологии. Она включает целый комплекс самостоятельных направлений: клеточную и тканевую трофику, гастроэнтерологию, науку о питании (в том числе о свойствах пищи – диететику), иммунологию, экологию, ряд сельскохозяйственных, а также пограничных направлений – физиологию аппетита и функции депо, трофические функции нервной системы и т. д. В рамках трофологии Уголев разработал основные постулаты созданной им теории адекватного питания [4].

После открытия мембранного пищеварения Уголев особенно активно разрабатывал эволюционные аспекты ассимиляции пищи. Уже в первой своей монографии "Пищеварение и его приспособительная эволюция" (1961), Александр Михайлович рассмотрел вопросы преобразования секреторных процессов и сформулировал новую теорию общего эволюционного проис-



хождения внешней и внутренней секреции. Наиболее капитальным трудом, несомненно, стала книга «Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма» (1985). В ней изложена концепция универсальных функциональных блоков, согласно которой различные стороны деятельности клеток и органов реализуются путём набора стандартных функциональных блоков. Как позже оказалось, существование блоковой структуры – один из общих фундаментальных принципов организации биологических систем.

Принцип, имеющий, помимо фундаментальности, ещё и широкий спектр важных практических применений. Например, на основе концепции универсальных функциональных блоков находят объяснения побочные эффекты лекарственных веществ и трудности в создании препаратов, которые могли бы действовать избирательно на сорняки, насекомых-паразитов, вредителей сельскохозяйственных растений, не оказывая токсического влияния на человека [5]. Исключительно плодотворной оказалась деятельность Уголева в космической гастроэнтерологии. С 1960-х годов Александр Михайлович был ведущим консультантом в Институте медико-биологических проблем МЗ СССР по проблеме питания космонавтов [7].

Блестящее открытие А.М. Уголева перевернуло основные представления в области гастроэнтерологии, в том числе в области питания и пищеварения. На первый взгляд кажется, что факты, которые позволили сделать вывод о существовании мембранного пищеварения, были недостаточны для далеко идущих заключений. Но у великих учёных существует удивительное научное предвидение, своя логика, свои аналитические способности, позволяющие им часто сразу видеть и предсказывать то, что не дано «простым смертным» [8].

У человека, в той или иной мере знакомого с деятельностью академика Уголева, невольно возникает вопрос: что же способствовало достижению им столь выдающихся научных результатов? Безусловно и прежде всего, его исключительная природная одарённость: сочетание пытливого аналитического ума, богатого воображения, изобретательности, феноменальной памяти, потрясающей интуиции. Уголев имел ещё и удивительный талант экспериментатора. Он выражался в постоянном поиске новых, нестандартных подходов для решения задач и, что особенно ценно, в умении реализовать задуманное. Обладая Уголев и незаурядным даром хирурга. Он блестяще проводил сложные хирургические операции на различных животных (кошках, собаках, крысах) и даже на тараканах. Разработанная А.М. Уголевым с участием Б.З. Зарипова уникальная методика хронических экспериментов на мелких лабораторных животных позволила изучать процессы мембранного гидролиза и всасывания пищевых веществ в тонкой кишке в условиях, наиболее близких к физиологическим. Она вошла в золотой фонд физиологии пищеварения и получила мировую известность.

Рассматривая истоки научных достижений Уголева, нельзя не сказать о той значительной роли, которую сыграли в судьбе Александра Михайловича его учителя. Это прежде всего его воспитатель и наставник академики В.Н. Черниговский, А.Е. Браунштейн, член-корреспондент АМН СССР А.Г. Гинецинский, профессора А.Д. Слоним, Г.П. Конради и др. Не имея фронтных заслуг, «благоприятного анамнеза», каких-либо семейных связей и поддержки, Уголев находил опору лишь в собственной одарённости, напряжённой работе и справедливой оценке его таланта прежде всего учителями. Он всегда вспоминал о них с благодарностью и особой теплотой.

Все, кто знал Александра Михайловича, согласятся с тем, что без преувеличения выдающуюся роль в том, что он достиг столь блестящих научных результатов, сыграла его супруга Софья Владимировна Уголева – любимый человек, верный друг, надёжный помощник, не только умная и обаятельная женщина, но и состоявшийся научный работник, кандидат медицинских наук. В профессиональных кругах она известна как один из ведущих специалистов в лечении дородовой патологии, особенно у больных диабетом.

И ещё одна характерная черта Уголева-учёного. С первых дней работы на кафедре физиологии Военно-морской медицинской академии и позже в Институте нормальной и патологической физиологии АМН СССР отчётливо проявилась научная самостоятельность будущего выдающегося физиолога, который, как и его великие предшественники – И.М. Сеченов, И.П. Павлов, И.И. Мечников, А.А. Ухтомский, обладал самобытным талантом и сам разрабатывал свои собственные идеи. Он оказался человеком исключительной воли и целеустремленности, рано сумел осознать характер и масштабы своих способностей, выбрать соответствующий им путь в науке и далее решить многие поставленные задачи. Именно в лаборатории Черниговского Александр Михайлович, ещё курсантом академии, впервые провёл ряд самостоятельных работ.

Открытие Александром Михайловичем Уголевым мембранного пищеварения – величайшее достижение второй половины XX столетия, равно которому трудно подыскать в физиологии или прилегающих сферах науки. Установленные в нём принципы характерны не только для пищеварения, но в известной мере и для мышечной, дыхательной, эндокринной, кровеносной и др. систем. Как в своё время «плёвая» павловская слюнная железа являлась превосходным инструментом в создании учения о высшей нервной деятельности, психофизиологии, висцеральной физиологии и т. д., так и мембранное пищеварение может иметь в науке будущего огромные перспективы.

На фасаде здания городской части Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, что на Стрелке Васильевского острова (наб. Макарова, 6), с 1996 года прикреплена мемориальная доска, посвященная А.М. Уголеву. Расположена она рядом с досками корифеев отечественной физиологии – И.П. Павлова, Л.А. Орбели, В.Н. Черниговского. Такое соседство является убедительным свидетельством роли А.М. Уголева в развитии мировой науки.

## Литература

1. Уголев А.М. Пристеночное (контактное) пищеварение. М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1963. 170 с.
2. Уголев А.М. Мембранное пищеварение: Полисубстратные процессы, организация и регуляция. Л.: Наука, 1972.
3. Уголев А.М. Энтеринная (кишечная гормональная) система: Трофические очерки. Л.: Наука, 1978.
4. Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология. Л.: Наука, 1991.
5. Ивашкин В.Т., Минасян Г.А., Уголев А.М. Теория функциональных блоков и проблемы клинической медицины. Л.: Наука, 1990.
6. Уголев А.М. Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения. Л.: Наука, 1967.
7. Смирнов К.В., Уголев А.М. Космическая гастроэнтерология. М.: Наука, 1981.
8. Иезуитова Н.Н., Тимофеева Н.М., Смирнов К.В. Академик А.М. Уголев. Развитие научных идей // Успехи физиологических наук. 1993. Т. 24. С. 3–24.
9. Иезуитова Н., Ярошевский М. «Membrane Digestion. New Facts and Concepts», ed. by A.M. Ugolev. Mir Publishers. Moscow. 1989, стр. 11–38
10. Клиорин А.И. А.М. Уголев и реализация таланта. Альманах воспоминаний выпускников Военно-морской медицинской академии 1940–1956. СПб., 2003.
11. Ноздрачев А.Д. Он с детства не любил овал, он с детства угол рисовал. К 50-летию открытия мембранного пищеварения. Вестн. РАН. 2008. – Т. 78. – № 9. – С. 820–829.

## 50 ЛЕТ ОТКРЫТИЯ IgE: ОТ ГАММА E И IgND ДО ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТАРГЕТНОЙ ANTI-IgE ТЕРАПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ АЛЛЕРГОЛОГИИ

**Р.И. Сепиашвили**

*Российский университет дружбы народов, Институт иммунофизиологии, Москва, Россия*

В следующем году мы будем отмечать 50 лет с момента открытия IgE, важность которого для современной науки и медицины неопределима и открытие которого стало настоящим прорывом в изучении патогенеза аллергических болезней, способствовало зарождению молекулярной аллергологии, разработке современных методов аллергодиагностики на молекулярном уровне и соответствующей анти-IgE терапии больных с аллергией. История открытия IgE является ярким примером неограниченных феноменальных возможностей человеческого ума.

Все началось еще в 1902 году, когда французские ученые – 52-летний профессор Парижского университета Поль Портье и 36-летний ассистент физиологической лаборатории Сорбонны Чарльз Рише – первыми указали на иммунологическую первооснову аллергических заболеваний. Совершая круиз по Средиземному морю на яхте «Принцесса Алиса II» по приглашению принца Монако Альберта I, они имели возможность изучать морских обитателей. Тогда они, исследуя яд медузы *Physalia*, выделили из нее активные соединения – «гипнотоксин», «антитоксин», – которые чрезвычайно токсичны для уток и кроликов.

Вернувшись во Францию, ученые продолжили свои исследования на шупальцах морской анемоны *Actinaria*. Полученные экстракты они вводили собакам, часть из которых продолжала жить более четырех дней. После выздоровления этих собак им повторно вводили ничтожно малые дозы экстракта. И здесь происходило неожиданное: через несколько минут собаки погибали. Это явление Портье и Рише назвали «анафилаксией» (от греческих слов *phylaxis* – охрана, *ana* – обратное, противоположное).

Ученые тогда и не подозревали о колоссальном значении полученных ими фактов. А вот медицинская общественность высоко оценила это открытие, и в 1913 году Чарльзу Рише была присуждена Нобелевская премия по медицине. По случаю 50-летия открытия анафилаксии княжество Монако выпустило в 1952 году марку номиналом 2 франка с изображением П. Портье, Ч. Рише, принца Альберта I и яхты, на которой они проводили свои испытания.

В 1903 году Аргюс доказал на морских свинках, что анафилаксия также вызывается повторными инъекциями веществ, которые при однократном введении нетоксичны. Истолкование выявленного феномена в дальнейшем дало начало целой науке – аллергологии (от греческих слов *allos* – другой, *ergon* – действие и *logos* – учение). Впервые термин «аллергия» применил в 1906 году австрийский ученый Пирке, который определил ее как специфическое изменение способности реагировать и относил к ней как гипер-, так и гипореактивность. Он же в 1906 году предложил использовать термин «гиперчувствительность без иммунитета» для описания состояния, которое сочетает в себе:

симптомы ингаляционной аллергии;

положительные результаты реакции немедленного типа при проведении кожных проб;

отрицательные результаты других иммунологических тестов (т. е. тестов на преципитин и фиксацию комплемента).

Тем самым встал вопрос о необходимости сывороточных тестов на гиперчувствительность. Позже Отто Праустниц и Хайнц Кюстнер начали поиск фактора или факторов, содержащихся в крови лиц с аллергией, которые могли бы вызвать кожную сенсibilизацию. В 1921 году они продемонстрировали, что инъекция сыворотки индивидуума с аллергией на рыбу (Кюстнер) индивидууму с аллергией только на пыльцу (Праустниц) способствует передаче специфической чувствительности. Такой перенос чувствительности получил название реакцией Праустница–Кюстнера. Эта проба широко использовалась для оценки чувствительности не только к стандартным аллергенам, но и к самым разным экстрактам (в частности, шистосом).

Затем Сооке и соавт. установили, что в сыворотке присутствуют и другие антитела, численность которых увеличивается на фоне десенсибилизирующего лечения. Эти антитела могут подавлять кожную сенсibilизацию. В 1950-ых гг. было доказано, что переносимая чувствительность специфична, ее можно титровать, а в зоне инъекции сыворотки кожная чувствительность сохраняется в течение нескольких дней и даже недель. Кроме того, выяснилось, что после умеренного нагревания сыворотка теряет способность вызывать кожную сенсibilизацию.

В 1962 году Kimishige Ishizaka приступил к выделению из крови пациентов с аллергией на пыльцу фактора, отвечающего за реакцию Праустница–Кюстнера. В то время сенная лихорадка была наиболее частой формой аллергии и сывороточные титры активности Праустница–Кюстнера у таких лиц были максимальными. В 1964 г. Ishizaka и соавт. сообщили о том, что обнаружили активность Праустница–Кюстнера во фракции сыворотки, которая содержала молекулы, более крупные, чем IgG, и мономерные IgA. Результаты этих опытов позволили выдвинуть предположение о том, что активность Праустница–Кюстнера может быть свойством IgA-антител. Однако в ходе последующих опытов эта гипотеза была опровергнута. Таким образом, K. Ishizaka и соавт. продемонстрировали, что активность Праустница–Кюстнера не имеет отношения к IgM, IgG, IgA или IgD, а обусловлена антителами нового изотипа, который они назвали «гамма E».

Примерно в то же время Hans Bennich и Gunnar Johansson заинтересовались природой иммуноглобулина, выделенного из сыворотки пациента ND, у которого регулярно проводился плазмаферез по поводу множественной миеломы. Из всего множества сывороток больных миеломой кровь этого больного была единственной, которую не удалось типировать (т. е. она не относилась ни к одному из известных в то время вариантов миеломной болезни – с преобладанием продукции IgM, IgG, IgA или недавно обнаруженных IgD). Сыворотка этого пациента оказалась идеальным объектом для исследований, поскольку концентрация миеломного белка в ней превышала 10 мг/мл. Однако миеломные белки лишены антигенной специфичности, что затрудняет изучение их биологической активности. Тем не менее, в 1967 году Bennich и Johansson в сотрудничестве с Dennis Stanworth и John Humphrey (Великобритания) смогли расщепить молекулу белка ND с помощью папаина и продемонстрировать, что ее Fc-фрагмент способен подавлять реакцию Праустница–Кюстнера. Вначале этот новый изотип антител они назвали IgND.

Следует отметить, что радиоаллергосорбентный тест (РАСТ) для выявления антител нового изотипа был разработан в том же 1967 году.

В том же году две научные группы обменялись реагентами и по результатам проведенных исследований стало очевидно, что активность Праустница–Кюстнера, описанная Ishizaka, и белок ND, выделенный Bennich и Johansson, характеризуются наличием одной и той же изотип-специфической детерминанты. К 1968 году обе группы накопили достаточно информации, которую они представили Всемирной организации здравоохранения.

В феврале 1968 года Международный референтный центр по иммуноглобулинам ВОЗ (Лозанна, Швейцария) сделал официальное сообщение по поводу «рождения нового изотипа антител. Новый изотип стал официально называться IgE.

В опубликованной Wide и соавт. статье упоминалось о возможности выявления IgE-антител к 20 различным аллергенам, а также о выраженной корреляции между результатами этих тестов и провокационных тестов. Огромную роль в разработке тестов на общие IgE и IgE сыворотки крови сыграла доступность миеломного белка (ND), поскольку его количество оказалось достаточным не только для расщепления папаином, но и для радиомечения и получения специфических анти-IgE антител. Кроме того, удалось осуществить и детальный структурный анализ молекулы, тяжелая цепь которой, как выяснилось, имеет дополнительный домен. Это объясняет ее большой молекулярный вес (почти 190 000).

Данные о том, что иммуноопосредованное воспаление служит причиной астмы, риноконъюнктивита, пищевой аллергии, атопической экземы, астмы и анафилаксии, послужили толчком к проведению новых исследований в различных направлениях и разработке новых методов лечения.

Важность открытия IgE для понимания патогенеза аллергических заболеваний стала очевидной после публикации результатов исследований, проведенных обеими научными группами в последующие несколько лет. В 1969 году группа Ishizaka перебазировалась из Научно-исследовательского института детской астмы (Денвер, Колорадо) в Университет Джона Хопкинса (Балтимор, Мэриленд), где приступила к изучению механизмов сенсибилизации и высвобождения гистамина, а также биологии IgE-опосредованного ответа. Работа по антителам класса IgE была призвана установить природу клеток кожи и циркулирующей крови, содержащих гистамин и связывающих IgE, а также определить роль IgE в индукции этих клеток. В ходе опытов, проведенных Terruko Ishizaka и Hisaio Tomioka, был обнаружен рецептор IgE. Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что этот же самый рецептор имеется на базофилах и тучных клетках, а для высвобождения гистамина из базофилов необходимо физическое перекрестное связывание двух рецепторов IgE.

Вскоре после обнаружения IgE в Новой Англии был выявлен еще один пациент с избыточной продукцией антител этого изотипа, которому требовался повторный плазмаферез для снижения вязкости крови. Благодаря этому случаю удалось получить высокоаффинные антитела к IgE (что позволило изучать характер их экспрессии на базофилах), а также разработать методы количественной оценки IgE-антител. Kishimoto и Ishizaka, работавшие в Балтиморе, начали исследования на кроликах с целью изучения механизмов выработки IgE. В ходе этих исследований были получены убедительные данные в пользу того, что IgE-ответ является Т-зависимым. Кроме того, ученые обнаружили, что полный адъювант Фрейнда способен «выключить» синтез IgE даже у тех кроликов, у которых имел место выраженный ответ на один и тот же аллерген.

С одной стороны, обе группы объединили свои усилия в попытке установить природу нового изотипа, а с другой стороны, каждая продолжала свои исследования. Те открытия, которые последовали за этим – от механизмов высвобождения гистамина до биологии выработки IgE-антител и разработки чувствительных и точных тестов на IgE, теперь доступных во всем мире, – стали настоящим прорывом в изучении аллергических заболеваний.

Завершив первые опыты, Johansson сконцентрировался на разработке анализов на IgE, которые можно было бы широко применять в клинической практике, в том числе тестов на специфические IgE-антитела и на общее содержание IgE в крови. Возможности определения общего титра IgE варьируют от радиоиммуноанализа методом торможения до различных вариантов иммуноферментного анализа с использованием анти-IgE антител на твердой фазе.

В настоящее время множество аллергенных молекул из различных натуральных источников аллергенов могут быть клонированы, секвенированы и экспрессированы как рекомбинантные аллергены.

Использование рекомбинантных аллергенов – это важная информация о триггерных стимулах на молекулярном уровне. Исследование реактивности к рекомбинантным аллергенам дает возможность изучать более сложные популяционные явления, такие как географические различия в IgE-опосредованной чувствительности и перекрестные реакции между различными аллергенами.

Исторически сложилось так, что в диагностике аллергии I типа использовались экстракты аллергенов, содержащие соответствующие главные и второстепенные аллергены, а также неаллергические компоненты. Эти экстракты превосходно подходят для первого скринингового тестирования пациентов, в настоящее время такие экстракты дополняются рекомбинантными или высокоочищенными нативными аллергенами, молекулярной аллергодиагностикой.

Молекулярная диагностика аллергии основана на изучении молекулярного состава потенциальных аллергенов и выявлении в нем так называемого аллерген-компонента. Иными словами, новая методика позволяет выявить в составе иммуноглобулинов (IgE) «ту самую» молекулу, на которую, собственно, и реагирует пациент. В этом случае положительный результат проб на различные аллергены не собьет с толку врачей, ибо им становится понятен аллерген-компонент, объединяющий эти вещества. По типу это одна и та же молекула, «болезненная» для пациента, которая присутствует в разных веществах.

Молекулярный диагноз сугубо дифференцированный, максимально точный. Он позволяет, в частности, детально разграничить моно-аллергические и перекрещивающиеся аллергические реакции. Моно-аллергическая реакция – это реакция на единственный конкретный аллерген, перекрещивающаяся – это реакция на разные аллергены. В случае перекрещивающейся реакции молекулярная диагностика позволяет выявить истинного «виновника». На основе этого можно делать полные прогнозы: контакт с какими веществами вызовет у пациента аллергическую реакцию. Это те вещества, в молекулярном строении которых, присутствует выявленный аллерген-компонент.

Открытие IgE привело к развитию совершенно нового направления аллергологии – молекулярной аллергологии. Успехи, достигнутые в молекулярной аллергологии, поставило перед учеными вопрос о создании новых терапевтических средств, специфически влияющих на больных с аллергией.

За прошедшие годы наши представления об аллергии в целом и возможностях управления иммунными механизмами существенно расширились. Описаны сотни аллергенов и их компонентов; одни играют ключевую роль в развитии заболевания, а другие представляют собой неопасные перекрестно реагирующие белки. Пристальное внимание уделяется изучению новых подходов к аллерген-специфической иммунотерапии, а целесообразность процедуры, к которой прибегали в течение послед-

него столетия (подкожные инъекции солевого экстракта материала, содержащего аллерген, например, пыльцу или клещей домашней пыли), вызывает все больше сомнений.

Одним из бурно развивающихся за последние годы направлений является разработка таргетных лекарственных препаратов, направленно влияющих на те или иные звенья иммунной системы. Однако разработка нового оригинального препарата требует длительного времени (5–12 лет) при очень больших финансовых затратах. С другой стороны разработке, производству и внедрению новых лекарственных препаратов предъявляются очень серьезные нормативные требования по сертификации и лицензированию согласно GLP (Good Laboratory Practice – надлежащая лабораторная практика), GMP (Good Manufacturing Practice – надлежащая производственная практика), GSP (Good Clinical Practice – надлежащая клиническая практика).

Другой важной составляющей при разработке новых лекарственных средств, в том числе и иммуномодуляторов, является внедрение принципов персонализации в этот очень сложный процесс. Как известно, персонализированная медицина построена на принципах 4П: предиктивность, превентивность, персонализация, партисипативность. По данным литературы, к 2017 году доля персонализированных лекарственных средств будет составлять треть всех фармацевтических препаратов в общем объеме мирового выпуска.

В настоящее время в различных лабораториях мира ведутся активные исследования по созданию принципиально новых препаратов таргетного действия, включая моноклональные антитела. Уже достигнуты определенные успехи в создании таргетных иммуномодуляторов в анти-IgE терапии больных с различной патологией. Для лечения больных от 12 лет и старше с тяжелыми формами IgE-зависимой атопической бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний (атопический дерматит, хроническая кокапивница) используют моноклональные антитела, блокирующие IgE (Омализумаб), интерлейкин-5 (меполизумаб – Nucala) и другие виды интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-13, ИЛ-33).

Сегодня с помощью инъекций омализумаба – препарата гуманизированных моноклональных антител к IgE – можно добиться полной элиминации IgE-антител, задействованных в воспалении, которое является ключевым звеном патогенеза, в частности, аллергической астмы. Одна доза этого препарата эффективна даже в случае поливалентной сенсибилизации. Он особенно показан при пищевой аллергии тяжелого течения.

Необходимо также отметить, что за последние годы разработаны новые методики диагностики и лечения аллергических болезней на молекулярном уровне, созданы рекомбинантные аллерговакцины, составляющие основу современной молекулярной аллергологии.

Таким образом, за 50-летнюю историю был пройден путь от открытия IgE до персонализированной таргетной анти-IgE терапии больных с аллергией. Обнаружение IgE инициировало множество других исследований, посвященных IgE и изучению их значимости в патогенезе аллергических заболеваний.

Мы находимся на начальном этапе новой эры, на пороге достижений в клинической иммунологии, которые будут способствовать разработке новых эффективных методов персонализированной таргетной терапии и тем самым, улучшению качества лечения больных с аллергией.

За последние 50 лет можно вспомнить лишь несколько подобных открытий, которые повлекли за собой столь же впечатляющий прогресс в понимании целой группы заболеваний с позиций науки и клиники.

### *АКТОВАЯ ЛЕКЦИЯ и.м. И.И. МЕЧНИКОВА*

## **ОНКОТЕРАНОСТИКА И ФИЗИОЛОГИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ**

**С.М. Деев**

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

Тераностика (терапия+диагностика) – дисциплина, которая объединяет диагностику заболевания и персонализированное лечение пациента, возникла в последнее десятилетие как новая стратегия в медицине. Точная диагностика молекулярных мишеней патогенных клеток и адресное воздействие на них должны обеспечивать высокую селективность противоопухолевой терапии. При этом особое внимание уделяется оптимизации физиологических характеристик создаваемых конструкций с целью увеличения времени циркуляции в кровяном русле, минимизации нежелательного накопления в почках, печени и других органах.

С одной стороны, изучаются тончайшие молекулярные процессы, лежащие в основе рецепторных взаимодействий отдельных клеток, а с другой – выявляются закономерности, как эти молекулярные медиаторы воздействуют на физиологические функции целого организма. Это в полной мере относится и к иммунофизиологии, бурное развитие которой происходит в последнее время. Развитие таргетной терапии онкологических заболеваний потребовало создания принципиально новых препаратов, специфически взаимодействующих с молекулами-мишенями, экспрессирующимися в трансформированных клетках, но не представленными в нормальных тканях. Для этого важно установление механизмов воздействия разрабатываемых *de novo* белковых соединений на опухолевую клетку. Необходимо выяснить, что происходит с образовавшимся комплексом рецептор (например, HER2)–целевой анти-HER2 белок после специфичного связывания с HER2-положительными клетками. Происходит ли интернализация рецептора HER2, и если да, то какова дальнейшая судьба HER2 после интернализации – рециклизация или деградация в поздних лизосомах?

После интернализации возможна сортировка комплекса рецептор–лиганд в ранней эндосоме (быстрая рециклизация) или в мультивезикулярных тельцах (медленная рециклизация). И в том, и в другом случае рецептор снова экспонируется на мембране. Но возможен еще и третий путь: деградация комплекса рецептор–лиганд в лизосоме. Судьба рецептора определяется чувствительностью комплекса рецептор–лиганд к кислотной деградации на пути от эндосом к лизосомам. Менее стойкие комплексы диссоциируют раньше, и рецептор подвергается рециклизации. Более устойчивые комплексы диссоциируют позже, и рецепторы в комплексе с лигандом деградируют в лизосомах.

На примере одного из созданных соединений, адресного фототоксина DARP-miniSOG, установлено, что он специфически взаимодействует с рецептором HER2 и вызывает его интернализацию, за которой следует медленный возврат рецептора на клеточную мембрану. Выяснение характера взаимодействия белка DARP-miniSOG с рецептором является важным условием для дальнейшей разработки методов воздействия на HER2-положительные опухоли с использованием данного фототоксина.

Другой пример касается изучения поведения создаваемых соединений не только при их взаимодействии с клеткой-мишенью, но и на уровне целого организма. На протяжении последних 25 лет исследователи, работавшие над доставкой радиоизотопов в очаг патологии с помощью антител, стремились уменьшить их размер, удаляя константную часть молекулы иммуноглобулина. Так появилось поколение генно-инженерных мини-антител с массой ~30 кДа. Они обладали рядом преимуществ, однако в последние годы стало ясно, что антитела такого формата не вполне физиологичны, так как обладают высокой нефротоксичностью. Они быстро выводятся из крови через фильтрующую мембрану почечного клубочка в просвет канальца, что приводит к накоплению радиоизотопов в почках. Физиологическая природа такого поражения почек понятна. В почечных клубочках происходит начальный этап мочеобразования – ультрафильтрация жидкости из плазмы крови в капсулу почечного клубочка. Поры в базальной мембране, являющейся одной из важнейших составных частей фильтрующей мембраны, препятствуют прохождению молекул диаметром больше 6 нм, что соответствует молекулярной массе глобулярного белка ~60-65 кДа. Ограничение для фильтрации белков, обусловлено их электрическим зарядом, а также размером, который должен превышать размер пор клубочкового фильтра. Очевидно, что размер мини-антител с массой ~30 кДа существенно меньше размера пор, что и приводит к экскреции мини-антител и связанного с ними радиоизотопа.

Предложенный нами универсальный принцип конструирования агентов из составных блоков позволяет осуществлять рациональный дизайн терапевтических агентов с заранее заданными свойствами, регулируя их размер, поверхностный заряд, гидрофобность и тем самым оптимизировать их поведение в организме. Используя такой «молекулярный конструктор», нам удалось, взяв стандартные «классические» мономерные мини-антитела с массой ~30 кДа, создать их димерные (80 кДа) и тримерные (130 кДа) варианты. Сравнительное изучение биораспределения мономерных, димерных и тримерных противораковых антител в организме модельных животных – иммунодефицитных мышей с привитыми опухолями рака груди и яичника человека, показало, что увеличение массы и «валентности» мини-антител («димер» и «тример») приводит к очень существенному снижению накопления этих веществ в почках. Этот результат исключительно важен при выборе конструкции антитела для доставки к опухолям токсических агентов, в первую очередь радиоизотопов.

Наряду с исследованием нежелательного накопления полученных вариантов в почках было изучено их накопление в других здоровых органах и тканях: в крови, сердце, легких, селезенке, желудке, печени, мышцах и костях, а также адресная доставка антител к опухолям. Все эти показатели также были наилучшими у «димера» и «тримера» для обоих видов опухолей. Соотношение количества агента, доставленного к опухоли, к его содержанию в крови 27:1, достигнутое для «димера» и «тримера», является одним из лучших показателей в мировой практике для аналогичных случаев (опухоли с маркером HER2/neu).

В докладе суммированы результаты работ лаборатории по созданию универсальной модульной платформы для конструирования агентов для онкотерапии. На примере гибридных агентов для визуализации и уничтожения раковых клеток. Основное внимание уделено применению адаптерной белковой системы барназа–барстар для получения адресных мультифункциональных структур на основе высокоспецифичных полипептидов в качестве нацеливающих модулей и рекомбинантных белков и/или наночастиц различной природы (квантовые точки, нанозолото, магнитные частицы, наноалмазы, апконвертирующие нанофосфоры, полимерные наночастицы) в качестве модулей, обеспечивающих визуализацию и различные виды повреждающего воздействия на раковые клетки. Это новое поколение мультифункциональных конструкций обладает совокупностью свойств, которые трудно или нельзя использовать по отдельности. Такое комбинированное воздействие на опухоли с помощью нового поколения мультифункциональных конструкций позволяет реализовать принцип, когда «целое есть больше, чем сумма составляющих его частей». Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-24-00106.

## Литература

1. Deyev S.M., Waibel R., Lebedenko E.N., Schubiger A.P., Plückerthun A. 2003. Design of multivalent complexes using the barnase-barstar module. *Nat. Biotechnol.* 21, 1486-1492.
2. Nikitin M.P., Shipunova V.O., Deyev S.M., Nikitin P. Biocomputing based on particle disassembly. *Nat. Nanotechnol.* 2014. 9(9), 716-722. doi: 10.1038/nnano.2014.156
3. Sokolova E., Proshkina G., Kutova O., Shilova O., Ryabova A., Schulga A., Stremovskiy O., Zdobnova T., Balalaeva I., Deyev S. Recombinant targeted toxin based on HER2-specific DARPIn possesses a strong selective cytotoxic effect in vitro and a potent antitumor activity in vivo. *J Control Release.* 2016 Jul 10;233:48-56. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.05.020
4. Souslova E.A., Mironova K.E., Deyev S.M. Applications of genetically encoded photosensitizer miniSOG: from correlative light electron microscopy to immunophotosensitizing. *J Biophotonics.* 2016 Jul 20. doi: 10.1002/jbio.201600120
5. Shipunova V.O., Nikitin M.P., Nikitin P.I., Deyev S.M. MPQ-cytometry: a magnetism-based method for quantification of nanoparticle-cell interactions. *Nanoscale.* 2016 Jul 7;8(25):12764-72. doi: 10.1039/c6nr03507h
6. Schulga A.A., Mechev P.V., Kirpichnikov M.P., Skryabin K.G., Deyev S.M. Construction of the plasmid-free strain for human growth hormone production. *Biochimie.* 2016 Aug 16. pii: S0300-9084(16)30155-9
7. Zdobnova T., Sokolova E., Stremovskiy O., Karpenko D., Telford W., I. Turchin, Balalaeva I., Deyev S. A Novel Far-Red Fluorescent Xenograft Model of Ovarian Carcinoma For Preclinical Evaluation of HER2-targeted Immunotoxins. *Oncotarget.* 2015, 6: 30919-30928.
8. Generalova A.N., Kochneva I.K., Khaydukov E.V., Semchishen V.A., Guller A.E., Nechaev A.V., Shekhter A.B., Zubov V.P., Zvyagin A.V., Deyev S.M. Submicron polyacrolein particles in situ embedded with upconversion nanoparticles for bioassay. *Nanoscale.* 2015, 7(5): 1709-1717.
9. Proshkina G.M., Shilova O.N., Ryabova A.V., Stremovskiy O.A., Deyev S.M. A new anticancer toxin based on HER2/neu-specific DARPIn and photoactive flavoprotein miniSOG. *Biochimie.* 2015, 118: 116-122. doi: 10.1016/j.biochi.2015.08.013.
10. Guller A.E., Nadort A., Grebenik E.A., Zvyagin A.V., Shekhter A.B., Generalova A.N., Deyev S.M., Nechaev A.V., Petersen E.V., Trusova I.A., Landyshev N.N., A.B. Shekhter, A.V. Zvyagin. Cytotoxicity and non-specific cellular uptake of bare and surface-modified upconversion nanoparticles in human skin cells. *Nano Research.* 2015, 8: 1546-1562.
11. Deyev S.M., Lebedenko E.N., Petrovskaya L.E., Dolgikh D.A., Gabibov A.G., Kirpichnikov M.P. Designed antibodies and immunoconjugates with specified properties: function optimization by structure engineering. *Russ. Chem. Rev.* 2015. 84 (1), 1–26
12. Mironova K.E., Proshkina G.M., Ryabova A.V., Stremovskiy O.A., Lukyanov S.A., Petrov R.V., Deyev S.M. Genetically encoded immunophotosensitizer 4D5scFV-miniSOG is a highly selective agent for targeted photokilling of tumor cells in vitro. *Theranostics.* 2013. 3(11):831-840. doi:10.7150/thno.6715.

АКТОВАЯ ЛЕКЦИЯ им. О.Г. ГАЗЕНКО

## LEARNING FROM A PIONEER: PHYSIOLOGY IN THE 21<sup>ST</sup> CENTURY

Rupert Gerzer

Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia



Once cosmonaut Gagarin, referring to Oleg Gazenko, said: “I don't know whether I'm the first man in space, or the last dog in space”. Gazenko had not only prepared the dogs Laika, Strelka and Belka, but also the first crews of cosmonauts for their journey into the unknown. He was a true pioneer in physiology and medicine and pioneered the possibilities for humans to leave earth.

Today physiology and medicine need new generations of pioneers: The information age, globalization, “Omics”, the health gadget big industry, nanotechnology and big data analytics capabilities are paving the way to personalized health prevention and personalized therapy of the future.

Russian science will play an important role in these new tasks. Russia has traditionally been strong in classical physiology (e.g., Oleg Gazenko or Ivan Pawlow), in mathematics, physics, in informatics and big data management and analytics. To link these capabilities with modern molecular life sciences disciplines and to collaborate in large international networks is now the real challenge of the future of physiology and medicine.

Seemingly simple, but important obstacles against this like language barriers and cultural differences in science traditions still need to be overcome.

Therefore, the formation of new institutions in Russia, which focus on these challenges of the future and which attract leading scientists from around the world, will be a strategic step forward, that will make it possible for such institutions to act as intermediaries between systems and traditions.

ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

## ОПТОГЕНЕТИКА И ЗРЕНИЕ

М.А. Островский<sup>1,2</sup>, М.П. Кирпичников<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; <sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

В лекции представлен обзор современного состояния нового направления в физиологии зрения и офтальмологии, основанного на использовании методов оптогенетики. Оптогенетика – междисциплинарное направление, объединяющее генную инженерию, оптику и физиологию. Оптогенетика как метод позволяет при помощи активируемого светом белка (как правило, ионного канала), ген которого доставляется и экспрессируется в определённой клетке сетчатки (мозга, сердца или иного органа), регулировать светом (активировать или тормозить) её физиологическую активность. Использование оптогенетического подхода исключительно перспективно как для фундаментальных исследований физиологии сетчатки, подобно тому, как это сейчас имеет место в отношении физиологии мозга, так и для протезирования дегенеративной сетчатки.

Оптогенетическое протезирование сетчатки основано на том, что потеря в ходе развития патологического процесса фоторецепторных клеток не сопровождается, как правило, потерей следующих за ними нервных клеток и зрительных путей мозга. Поэтому придание сохранившимся нервным элементам сетчатки (биполярным или ганглиозным клеткам) при помощи методов оптогенетики способности к возбуждению и/или торможению в ответ на световое воздействие позволяет восстановить в определённой мере зрительные функции дегенеративной сетчатки (для обзора см. [1–2]). Определённые успехи достигнуты в протезировании у трансгенных животных (пигментный ретинит) как биполярных (3), так и ганглиозных [4] клеток. Однако, с точки зрения надёжности протезирования наиболее перспективны ганглиозные клетки дегенеративной сетчатки. Важным элементом протезирования является восстановление ON-OFF-рецептивного поля этих клеток. Ранее для этого использовали катион-переносящий каналный родопсин, деполяризующий плазматическую мембрану и возбуждающий клетку, и хлор-переносящий галородопсин, гиперполяризующий её и тормозящий физиологическую активность клетки [4].

Однако галородопсин, будучи не каналом, а ионным насосом, переносит лишь один заряд на один поглощённый квант света. Поэтому он мало пригоден для протезирования сетчатки, поскольку для гиперполяризации клетки с его помощью требуется слишком высокая интенсивность света, способная оказать на сетчатку повреждающее воздействие. Насущной задачей для оптогенетики в целом и, особенно, для исследования физиологии сетчатки и её протезирования является поиск высоко светочувствительного, хлор-переносящего ионного канала. Методами генной инженерии нам удалось сконструировать анионный, хлор-переносящий каналальный родопсин, экспрессировать его не только в культуре нервных клеток, но и *in vivo* в головном мозге мыши, и продемонстрировать его способность эффективно подавлять возникновение в нейроне импульсной активности при действии видимого света [5]. Располагая катион- и анион-переносящими каналальными родопсинами, становится реальной задача создания ON-OFF-рецептивного поля ганглиозных клеток при протезировании дегенеративной сетчатки глаза.

#### **Литература**

1. Кирпичников М.П., Островский М.А. // Вестник Офтальмологии (2015) № 3, с. 99–111.
2. Островский М.А., Кирпичников М.П., // Сенсорные системы (2015) т. 29, №4, с. 289-295.
3. van Wyk M, Pielecka-Fortuna J, Löwel S, Kleinlogel S (2015) PLoS Biol 13(5): e1002143. doi:10.1371/journal.pbio.1002143
4. Wu C, Ivanova E, Zhang Y, Pan Z.H. // PLoS ONE (2013) V. 8. № 6. e66332. doi:10.1371/journal.pone.0066332.
5. Долгих Д.А., Мальшев А.Ю., Саложин С.В., Некрасова О.В., Петровская Л.Е., Рошин М.В., Бородинова А.А., Фельдман Т.Б., Балабан П.М., Кирпичников М.П., Островский М.А. Доклады Академии Наук (2015) т. 465, № 6, с. 737–740.

### **ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

## **ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ КАК ОСНОВА ДЛЯ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ**

**М.В. Угрюмов**

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

Понятие нейропластичности, сформулированное в начале двадцатого века, основано на наблюдениях компенсации утраченных функций при повреждении мозга, как предполагалось, за счет того, что функции поврежденных участков мозга берут на себя неповрежденные участки. Эти представления полностью подтвердились в последние тридцать лет. Так, было показано, что нейропластичность проявляется на всех уровнях организации нервной ткани в виде: (а) нейрогенеза, (б) реорганизации нейрональных сетей и межнейрональных синаптических связей, (в) изменения экспрессии генов и синтезов ключевых функциональных молекул – нейротрансмиттеров, ферментов их синтеза, транспортеров, под влиянием межклеточных сигналов (эпигенетика), (г) влияния нейротрансмиттеров на нейроны-мишени не только в области синапсов, но и по всей поверхности нейрона («объемная нейротрансмиссия»). При болезнях мозга, которые в основном возникают при гибели специфических нейронов и проявляются в виде нарушения специфических функций, включаются специфические и неспецифические механизмы нейропластичности. Специфические механизмы, направленные на поддержание нейротрансмиссии на уровне нормы, способствуют усилению секреции специфических нейротрансмиттеров, снижению уровня их инактивации в межклеточной среде и повышению чувствительности к нейротрансмиттерам нейронов-мишеней. Неспецифические механизмы обеспечивают нейропротекцию за счет усиления секреции ростовых факторов и активации антиоксидантных систем. Механизмы пластичности мозга обеспечивают полное восстановление нарушенных функций мозга или временную компенсацию функций дефицита функций, что обуславливает длительное протекание хронических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона без проявления специфических симптомов – соответственно нарушения памяти и двигательной функции. Понимание молекулярных механизмов нейропластичности в норме и при патологии является ключом к повышению эффективности работы мозга в норме, а также к разработке новых методов диагностики и лечения заболеваний мозга на основе принципов персонализированной, профилактической и трансляционной медицины.

### **ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ**

**Е.В. Парфенова<sup>1,2</sup>, В.А. Ткачук<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, Москва, Россия*

Исследования механизмов регенерации и обновления тканей в последние 20 лет позволили установить ключевую роль соматических стволовых клеток в регуляции этих процессов. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются важнейшей популяцией постнатальных стволовых клеток, для которой была убедительно продемонстрирована способность стимулировать регенерацию и обновление соединительной ткани, включая костную, хрящевую и жировую ткань. МСК впервые были выделены из стромы костного мозга, однако позже клетки, имеющие сходные характеристики, были обнаружены во многих тканях, где они располагаются в сосудистом компартменте, проявляя свойства перicyтов. Изучение регенеративных свойств МСК в основном основываются на эффектах их трансплантации в поврежденные ткани и органы экспериментальных животных. Так при введении в ишемизированные мышцы конечности и сердце МСК стимулируют восстановление их кровоснабжения за счет стимуляции роста сосудов. При экспериментальном повреждении периферических нервов трансплантация МСК ускоряет восстановление структуры и функции нерва. Изучение механизмов регенеративных эффектов

МСК показало, что они стимулируют восстановление васкуляризации и иннервации тканей – важнейших для тканевой регенерации процессов, за счет уникальной паракриной активности – секреции широкого спектра биологически активных молекул (факторов роста, цитокинов, протеаз, белков матрикса). Помимо секреции растворимых факторов МСК высвобождают внеклеточные везикулы – экзосомы, способные переносить в другие клетки как белковые молекулы, включая транскрипционные факторы, так и нуклеиновые кислоты – мРНК, микроРНК. Такой горизонтальный перенос генетической информации от МСК в клетки окружающей ткани, в том числе в тканеспецифические резидентные стволовые клетки, позволяет перепрограммировать эти клетки, индуцируя в них регенеративную программу. Продукты секреции МСК, включая экзосомы, могут оказывать эффекты, сходные с эффектами трансплантации МСК, что делает их привлекательным инструментом для регенеративной медицины.

ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ FEBS

ACETYLCHOLINESTERASE: HOW IS ITS THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE RELATED TO ITS FUNCTION?

Israel Silman

Department of Neurobiology, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

The crystal structure of *Torpedo californica* acetylcholinesterase (*TcAChE*) was solved in 1991, in a collaborative effort of the groups of Joel Sussman and myself [1]. Ever since, scientists working on *TcAChE* and on the homologous AChEs from insect and mammalian sources [2-4], as well as on butyrylcholinesterase (BChE) [5], have been attempting to understand the mode of action of this extremely efficient hydrolase, which has much higher catalytic activity than other serine hydrolases that utilizes the same catalytic triad. As the title implies, we will address the issue by posing the question - “Why is the AChE molecule built the way it is?” Adopting this perspective of “Why” indeed helps us to understand “How”, even though it will become apparent that there are still many open questions that need to be answered.

When we first looked at the 3D structure of *TcAChE*, what we saw was completely unanticipated. Since AChE is an extremely efficient enzyme, acting at a rate approaching diffusion control [6], we expected that its structure would reveal an active site in which the catalytic triad was exposed on the surface of the enzyme. Furthermore, we anticipated that the ‘anionic’ binding site for the quaternary moiety of acetylcholine (ACh) would be composed of one or more negative charges contributed by the side-chains of aspartate or glutamate residues [7]. In fact, the active-site of *TcAChE* turned out to be located near the bottom of a deep and narrow cavity, which we named the active-site gorge, whose surface is lined by the rings of 14 conserved aromatic residues. Furthermore, the principal motif in its ‘anionic’ binding site turned out to be the indole ring of a Trp residue, W84, with which the quaternary group of ACh make a  $\pi$ -cation interaction. The peripheral ‘anionic’ site (PAS), already predicted by Wilson *et al* [8] in 1950, located at the mouth of the gorge, had as its principal motif another conserved Trp, W279 [9]. We thus postulated what we called an ‘aromatic guidance’ mechanism, in which penetration of ACh down the gorge towards the active site would be facilitated by a series of low affinity  $\pi$ -cation interactions.

Closer inspection of the structure revealed two additional features that needed to be taken into account. First, the AChE molecule has an unusually high dipole moment,  $\sim 1000$  Debye [10, 11]. It is oriented along the gorge axis, and its direction is such that it should pull the ACh down the gorge towards the active site. Second, the cross-section of the gorge, at its narrowest point, is  $\sim 5$  Å, which is much smaller than the cross-section of the quaternary group of ACh, 6.4 Å [12]. Thus, the gorge must ‘breathe’ substantially for the substrate to reach the active site.

As to the location of the active-site at the bottom of the gorge, we postulate that this permits the substrate to be completely enveloped by the enzyme, thus producing multiple interactions in the transition state that provide the basis for the unusually high catalytic power of the enzyme [13]. Indeed, it was already noticed by Irwin Wilson that addition of the third methyl group to the choline moiety substantially contributed to its binding energy. He thus wrote: “hence it is possible for a fourth alkyl group to come into close proximity to the enzyme only if the protein engulfs the ion” [14]. It is worth noting, also, that other very rapid enzymes also display deeply buried active sites, *S. cerevisiae* catalase-A being a good example [15].

Our suggestion that ‘aromatic guidance’ might be supplemented by electrostatic guidance [11] was attacked on the grounds that mutation of a set of negatively charged amino acids surrounding the entrance to the gorge did not dramatically alter enzyme kinetics [16]. Nevertheless, computational studies showed that the potential becomes increasingly more negative along the central axis running down the gorge, and is largest at the base of the gorge, near the active site [17, 18].

The presence of a strong potential gradient pulling the positively charged ACh into the gorge raised the issue of how the accumulation in the gorge of positively charged metal cations, such as  $K^+$ ,  $Na^+$ , and  $Ca^{+2}$ , is prevented. To date, there are no reports of visualization of metals ions within the gorge in any of the published crystal structures of AChE. When crystals of *TcAChE* were soaked in a concentrated solution of CsCl, no traces of  $Cs^+$  ions, could be detected within the gorge, despite this ion’s high atomic number (G Koellner, I Silman, JL Sussman, unpublished). A recent study by Hulme and coworkers [19] made the point that the weak hydration of ACh in aqueous solution favors its interaction with the ACh-binding site of the muscarinic receptor. Likewise, weak hydration of ACh should favor its  $\pi$ -cation interaction with the aromatic residues, principally W279 and Y70, at the top of the gorge, as well as subsequent interactions along the gorge towards the active site. By the same token, the strong hydration of alkali metal cations should preclude their entering the gorge due to their large diameters in their hydrated forms, 7.2 and 6.6 Å, for  $Na^+$  and  $K^+$ , respectively [20]. Thus the aromatic walls of the gorge provide a surface that, while facilitating movement of ACh, serve to exclude metal ions that might otherwise jam the gorge, and crowd into the active site.

The presence of the strong potential gradient pulling the positively charged ACh into the gorge also raised the issue of how the similarly charged breakdown product, choline, exits the gorge. Using methodology developed by Lifson & Jackson [21] for another purpose, it was shown that choline could exit the gorge at an adequate rate if free diffusion was assumed [18]. But, as mentioned above, the enzyme needs to ‘breathe’ for the choline to pass through the narrowest part of the gorge, which should obviously decrease



the exit rate substantially. An alternative possibility was that the choline might exit by another route, which we named the “back door” [10,22], a term since adopted also for other enzymes [23].

An initial molecular dynamics study identified a putative “back door” in TcAChE, adjacent to W84 [22]. However, site-directed mutagenesis experiments failed to provide experimental support for it [24, 25]. During subsequent years various other suggestions for “back doors” and “side doors” were proposed, but, again, lacked experimental support [26–28].

A breakthrough came when a crystal structure of *Drosophila melanogaster* AChE (DmAChE) revealed an apparently open “back door” [29, 30], and a similar configuration was seen in a crystal form of TcAChE [31]. Careful MD analysis [31, 32] revealed that this was the preferred route of exit from TcAChE’s active-site gorge of a thiocholine moiety initially positioned at the ‘anionic’ site, rather than along the gorge. The “backdoor” thus identified is positioned between the two subdomains of which TcAChE is composed [33], at the bottom of the gorge, and transition of the thiocholine through it involves breakage of H-bonds between three of the conserved aromatic residues, including W84 in the first subdomain, and W432 and Y442 in the second one.

In summary, we feel that our crystallographic and theoretical studies have satisfactorily addressed many of the questions arising out of the unanticipated three-dimensional structure of AChE. Obviously, more detailed studies - structural, theoretical, spectroscopic and kinetic - will be necessary to provide a more complete and accurate description.

## References

1. JL Sussman, M Harel, F Frolow, C Oefner, A Goldman, L Toker, I Silman [1991] *Science* **253**:872-879.
2. Y Bourne, P Taylor, P Marchot [1995] *Cell* **83**:503-512.
3. M Harel, G Kryger, TL Rosenberry, WD Mallender, T Lewis, RJ Fletcher, JM Guss, I Silman, JL Sussman [2000] *Protein Sci* **9**:1063-1072.
4. G Kryger, M Harel, K Giles, L Toker, B Velan, A Lazar, C Kronman, D Barak, N Ariel, A Shafferman, I Silman, JL Sussman [2000] *Acta Crystallogr D* **56**:1385-1394.
5. Y Nicolet, O Lockridge, P Masson, JC Fontecilla-Camps, F Nachon [2003] *J Biol Chem* **278**:41141-41147.
6. M Bazelyansky, E Robey, JF Kirsch [1986] *Biochemistry* **25**:125-130.
7. HJ Nolte, TL Rosenberry, E Neumann [1980] *Biochemistry* **19**:3705-3711.
8. F Bergmann, IB Wilson, D Nachmansohn [1950] *Biochim Biophys Acta* **6**:217-224
9. M Harel, I Schalk, L Ehret-Sabatier, F Bouet, M Goeldner, C Hirth, P Axelsen, I Silman, JL Sussman [1993] *Proc Natl Acad Sci USA* **90**:9031-9035.
10. D Ripoll, C Faerman, P Axelsen, I Silman, JL Sussman [1993] *Proc Natl Acad Sci USA* **90**:5128-5132.
11. D Porschke, C Créminon, X Cousin, C Bon, J Sussman, I Silman [1996] *Biophys J* **70**:1603-1608.
12. J-P Colletier, D Fournier, HM Greenblatt, JL Sussman, G Zaccari, I Silman, M Weik [2006] *EMBO J* **25**:2746-2756.
13. M Harel, DM Quinn, HK Nair, I Silman, JL Sussman [1996] *J Am Chem Soc* **118**:2340-2346.
14. IB Wilson [1952] *J Biol Chem* **197**:215-225.
15. MJ Maté, M Zamocky, LM Nykyri, C Herzog, PM Alzari, C Betzel, F Koller, I Fita [1999] *J Mol Biol* **286**:135-149.
16. A Shafferman, A Ordentlich, D Barak, C Kronman, R Ber, T Bino, N Ariel, R Osman, B Velan [1994] *EMBO J* **13**:3448-3455.
17. CE Felder, SA Botti, S Lifson, I Silman, JL Sussman [1997] *J Mol Graphics & Modeling* **15**:318-327.
18. SA Botti, CE Felder, S Lifson, JL Sussman, I Silman [1999] *Biophys J* **77**: 2430-2450.
19. EC Hulme, AK Soper, SE McLain, JL Finney [2006] *Biophys J* **91**:2371-2380.
20. L Chai, R Goldberg, N Kampf, J Klein [2008] *Langmuir* **24**:1570-1576.
21. S Lifson, J Jackson [1962] *J Chem Phys* **36**:2410-2414.
22. MK Gilson, TP Straatsma, JA McCammon, DR Ripoll, CH Faerman, PH Axelsen, I Silman, JL Sussman [1994] *Science* **263**:1276-1278.
23. JD Lawson, E Pate, I Rayment, RG Yount [2004] *Biophys J* **86**:3794-3803.
24. C Kronman, A Ordentlich, D Barak, B Velan, A Shafferman [1994] *J Biol Chem* **269**:27819-27822.
25. C Faerman, D Ripoll, S Bon, Y Le Feuvre, N Morel, J Massoulié, JL Sussman, I Silman [1996] *FEBS Lett* **386**:65-71.
26. IM Kovach, N Qian, A Bencsura [1994] *FEBS Lett* **349**:60-64.
27. ST Wlodek, TW Clark, LR Scott, JA McCammon [1997] *J Am Chem Soc* **119**:9513-9522.
28. D Van Belle, L De Maria, G Iurcu, SJ Wodak [2000] *J Mol Biol* **298**:705-726.
29. F Nachon, Y Nicolet, M Harel, TL Rosenberry, P Masson, I Silman, JL Sussman [2007] *Abstracts IXth International Meeting on Cholinesterases*, Suzhou, China, May 2007, p 113.
30. F Nachon, J Stojan, D Fournier [2008] *FEBS J* **275**:2659-2664.
31. B Sanson, JP Colletier, Y Xu, PT Lang, H Jiang, I Silman, JL Sussman, M Weik [2011] *Protein Sci* **20**:1114-1118.
32. Y Xu, JP Colletier, M Weik, G Qin, H Jiang, I Silman, JL Sussman [2010] *Biophys J* **99**:4003-4011.
33. N Morel, S Bon, HM Greenblatt, D Van Belle, SJ Wodak, JL Sussman, J Massoulié, I Silman [1999] *Mol Pharmacol* **55**:982-992.

ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

## IMAGING BIOLOGY IN LIVING ANIMALS AND HUMANS

**Christopher H. Contag**

*Stanford University, Stanford, USA*

Advances in chemical probes, reporter genes, instrumentation, and integrated imaging strategies are enabling real-time visualization of biological processes in the context of living animals and humans. These advances either build on routine clinical modalities such as MRI, CT, PET and SPECT or incorporate emerging techniques such as in vivo confocal microscopy, photoacoustics, Raman spectroscopic imaging or thermoacoustics. Preclinical application of these technologies to the study of animal models are leading to improvements in our fundamental understanding of biology, refining our models of human health and disease, and enhancing drug discovery, development and delivery tools. Clinical uses of innovative imaging strategies will lead to earlier detection when diseases are easier to treat, and more precise interventions, ultimately resulting in disease prevention and improved health.

ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

**ЦИТОКИНЫ, ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ  
АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**С.А. Недоспасов<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва; <sup>3</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Практически неограниченный репертуар рецепторов адаптивного иммунитета у высших позвоночных создает опасность аутоагрессии в случае сбоев в механизмах регуляции селекции клонов лимфоцитов. Антиген-специфическая биотерапия аутоиммунных заболеваний остается пока лишь надеждой на будущее, а современные лекарства в качестве своих мишеней используют регуляторные механизмы, в частности, те, которые контролируются цитокинами. Наша лаборатория в течение многих лет изучает физиологические функции провоспалительных цитокинов, используя для этих целей уникальные животные модели с регулируемой инактивацией генов или их регулируемой сверхэкспрессией. В частности, мы задалась вопросом о клеточном происхождении «плохого» цитокина при аутоиммунитете, так как весьма вероятно, что системная блокировка любого молекулярного регулятора, отобранного эволюцией для выполнения важных защитных функций, будет иметь нежелательные побочные эффекты. Мы установили, что в некоторых заболеваниях «плохие» цитокины продуцируются миелоидными клетками, и с помощью инженерии антител создали искусственные белки-блокаторы, которые селективно ограничивают действие цитокинов только из «патогенных» клеточных источников. *Исследование поддержано грантами Российского научного фонда 14-50-00060 и Министерства образования и науки 14.Z50.31.0008.*

ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

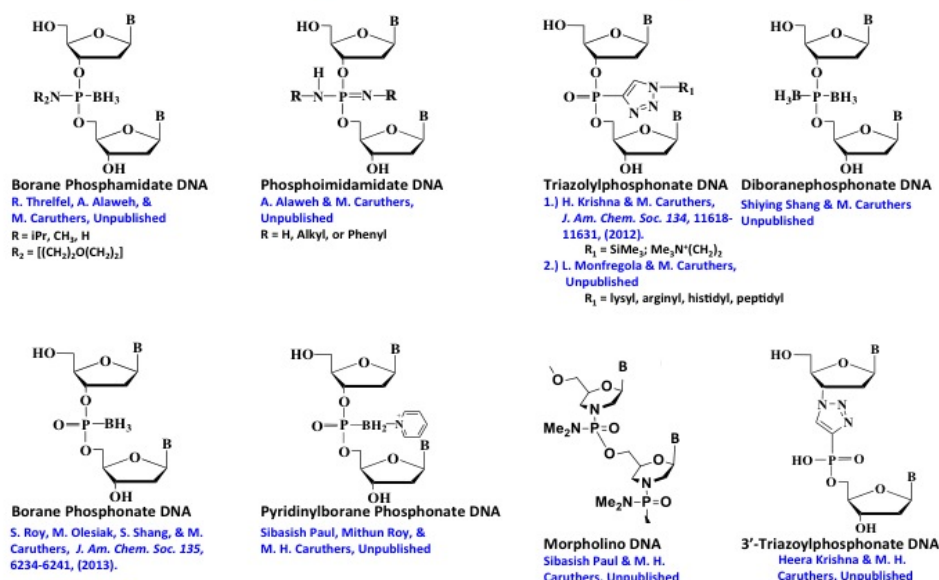
**OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS INTERFACED WITH MOLECULAR BIOLOGY**

**Marvin H. Caruthers**

*Department of Chemistry and Biochemistry, University of Colorado, Boulder, Colorado, USA*

Research in the Caruthers' laboratory has focused on several new, previously unknown DNA analogues (See Scheme). These include the following: morpholino and thiomorpholino ODN and ODN chimeras; triazolyl and 3'-5' triazolylphosphonate ODNs; aminoalcohol triester ODNs, peptidyltriazolylphosphonate ODNs, phosphoimidamidate ODNs, and boranephosphamidate ODNs. During this lecture, the synthesis and biological activities of these analogues will be discussed.

**DNA Analogues Modified at Phosphorus**



Phosphorodiamidate morpholinos (PMOs) and PMO-DNA chimeras have been prepared on DNA synthesizers using phosphoramidite chemistry. This was possible by first generating borane phosphoramidate morpholino internucleotide linkages followed by oxidative substitution with four different amines: N,N-dimethylamine, N-methylamine, ammonia, and morpholine. When compared to a natural DNA duplex, the amino modified PMO was found to have a higher melting temperature with either complementary DNA or RNA whereas the remaining PMO analogues having morpholino, dimethylamino, or N-methylamino phosphorodiamidate linkages had melting temperatures that were either comparable or reduced. Additionally the N,N-dimethylamino PMO-DNA chimeras were

found to stimulate RNase H1 activity. Treatment of HeLa cells with fluorescently labeled PMO chimeras demonstrated that these analogues were efficiently taken up by cells in the absence of a lipid transfection reagent. Because of the simplistic synthesis procedures, various PMO analogues are now readily available and should therefore open new pathways for research into the antisense, diagnostic, and microRNA/noncoding RNA oligonucleotide fields. Using similar chemistries, thiomorpholino (PTMOs) and PTMO-DNA chimeras have also been prepared, found to be active with RNase H1, are transfected into cells in the absence of lipid, and stimulate, in HeLa cells, the regulation of microRNA 15b using a dual luciferase assay.

An efficient approach for synthesizing amino acid or peptide-substituted triazolylophosphonate analogues (TP ODNs) has been developed in order to provide improved stability and cell uptake. The chemistry is quite general as peptides can be introduced through the TPN ODN at any preselected internucleotide linkage. These synthetic TP ODNs enter cells through endocytosis in the absence of transfection reagents and localize into perinuclear organelles. The entrapped ODNs are released into the cytoplasm by treatment with endosomal releasing agents and several are then active as microRNA inhibitors in the HeLa cell 15b dual luciferase assay.

Here we also report the synthesis of phosphotriester linked oligodeoxyribonucleotides (ODNs) that are stable to the conditions used for their preparation. The method has been demonstrated by introducing phosphoramidite synthons having N-benzyloxycarbonyl (Z) protected amino acid alcohols in place of the cyanoethyl group. After synthesis using standard conditions, this phosphotriester linkage was found to be stable to the basic condition required to remove base labile protecting groups and the ODNs from the solid support. Moreover the use of 1-(4,4-dimethyl-2, 6-dioxocyclohex-1-ylidene) ethyl (Dde) in place of Z protection on the amino alcohol has allowed us to introduce cationic aminoethyl phosphotriester modifications into ODNs. Melting temperatures of duplexes containing cationic or hydrophobic Z modified ODNs with unmodified DNA indicate that the backbone-phosphotriester modifications minimally affect the duplex forming affinity against single-stranded DNAs (ssDNA). Nuclease stability assays demonstrate that these phosphotriester linkages are resistant towards 5'- and 3'-exonucleases. Fluorescently labeled 23-mer ODNs modified with 4 cationic or hydrophobic Z phosphotriester linkages show efficient cellular uptake during passive transfection in HeLa and Jurkat cells.

Recent research has also led to the synthesis of boranephosphoramidate DNA and imidoamidate DNA. The basic chemistry begins with appropriately protected 5'-DMTr-3'-phosphoramidite-2'-deoxynucleosides. Boronation followed by deprotection leads directly to boranephosphoramidate DNA as chimeras with natural DNA. Using appropriately protected mononucleotide synthons having 3'-*bis* amidites oligonucleotides can be prepared as the borane phosphoramidates in high yields. These analogues can then be converted to the protected imidoamidates by oxidation with iodine in the presence of an appropriate amine. Removal of protecting groups generates the imidoamidate DNA as chimeras with natural DNA. To date, these analogues have been shown to form duplexes with natural DNA with minimal reduction in melting temperatures and are taken up by cells in the absence of lipid. Imidoamidate DNA is also positively charged.

In collaboration with Agilent Technologies, we have developed methods and instruments for the synthesis of DNA and RNA containing up to 300 nucleotides per segment. Applications include biological research on genomes, RNA for CRISPR/Cas9 applications, and data storage. A brief outline of this chemistry and various applications will be presented.

### ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

## HOW DO ENZYMES CATALYZE PHOSPHATE TRANSFER? – IT'S H-BONDS, STUPID!

**G. Michael Blackburn,\* Yi Jin, Robert Molt, Nigel G. Richards, & Jon P. Waltho**

*Krebs Institute, Sheffield University; York Structural Biology Laboratory, York University; School of Chemistry, Cardiff University; & Faculty of Life Sciences, Manchester University, UK*

INVESTIGATIONS of how enzymes catalyze phosphoryl transfer, especially phosphorylation of various receptors by ATP, have developed through many stages over 70 years. Fritz Lipmann engaged in the study of high energy phosphate bonds, squiggle ~P, focusing on ATP and phosphocreatine.<sup>[1]</sup> The remarkable free energy of hydrolysis of ATP, 30 - 35 kJ mol<sup>-1</sup>, led Lipmann towards the Nobel Prize for Physiology and Medicine in 1953. Kinetic studies later identified the great difference between the rate of spontaneous hydrolysis of ATP, with a half-life of days, and turnover rates achieved by a variety of ATPases, with *k*<sub>cat</sub> values in the range 10 – 100 s<sup>-1</sup>, an acceleration of up to 10<sup>7</sup>. Oxygen isotope studies established that enzyme-catalyzed phosphoryl transfer occurs with “in-line” attack of nucleophile on the phosphoryl groups that results in inversion of stereochemistry at phosphorus (reactions showing retention stereochemistry employ 2 consecutive inversion processes).<sup>[2]</sup> Then a host of biophysical and physico-organochemical studies over the last 50 years has focused on the role of general acid-base catalysis (weak contribution) and dissociative or associative nature of the transition state for phosphoryl group (PO<sub>3</sub><sup>-</sup>) transfer, largely favoring “exploded transition states”.<sup>[3]</sup>

The whole playing field has been changed by advent of high resolution protein crystallography, with reactants or their stable analogs as ligands bound in an enzyme active site. In particular, the development from 1995 forward of the use of metal fluorides (MF<sub>x</sub>) as transition state analogs (TSAs) to mimic phosphoryl group transfer has provided incisive pictures of how enzymes might catalyze transfer of the PO<sub>3</sub><sup>-</sup> group between donor and acceptor electronegative atoms (oxygen > nitrogen > sulfur > carbon). In particular, the value of AlF<sub>4</sub><sup>-</sup> as an isoelectronic but non-isosteric analog and of MgF<sub>3</sub><sup>-</sup> as an isoelectronic *and* isosteric analog of the PO<sub>3</sub><sup>-</sup> group have supported interpretations of the geometry of enzyme catalysis for a range of mutases, kinases, phosphatases, and hydrolases. They show concerted mechanisms, generally with associative character.<sup>[4,5]</sup>

However, critics have questioned the validity of such MF<sub>x</sub> analyses, challenging the relevance of metal fluoride mimicry of the phosphoryl group and arguing that the propensity of the electropositive metal ion, Al<sup>3+</sup> or Mg<sup>2+</sup>, can artefactually “pull” the electronegative donor and acceptor atoms closer together than in the true transition state. This whole situation has lent itself ideally to analysis of phosphoryl group transfer by computational methods, with leading exponents including two recent Nobel Laureates.<sup>[6,7]</sup> Not unexpectedly, such computational analyses, generally based on a medium-to-high resolution protein structure of a MF<sub>x</sub> complex<sup>[5]</sup> have produced results that are often in conflict.<sup>[8]</sup> It is therefore helpful to outline briefly the major computational methods currently in use, briefly looking at the relative strengths and limitations of two systems employed for phosphoryl transfer mechanisms.

A valid simulation of the structure and bonding of a biochemical system at atomic resolution calls for two features that are computationally demanding:

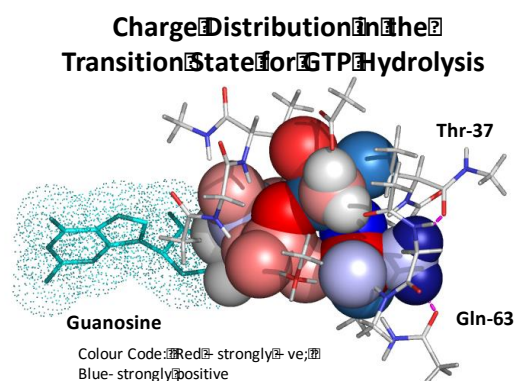
- Solving accurate molecular energies;
- Exhaustively considering the relevant conformations of molecules.

Both criteria have to be approximated to varying degrees for the simulation of large protein structures. Time limitation makes it essential to use the available computational resources to balance a solution of energies against an analysis of as many relevant conformations as possible. Even with the best computing power available, it remains inherently necessary to prioritize one at the expense of the other. Because molecular energies are solved for individual conformers of a molecule, the selection of the best conformer is the primary issue. Hence, seeking a more accurate calculation of molecular energies has to be done for *each and every* individual molecular conformation considered, which can run into tens of thousands of different structures. Achieving more reliable energies drastically raises the computational cost and therefore drives the number of conformers computed sampled downwards in order to arrive at the best unique conformer. Its success is directly linked to the quality of the starting point and it may be significant that the MF<sub>x</sub> structure used for many computations of the Ras.GAP GTPase system<sup>[8]</sup> (PDB entry **1wq1**) is resolved only at 2.5 Å.<sup>[9]</sup>

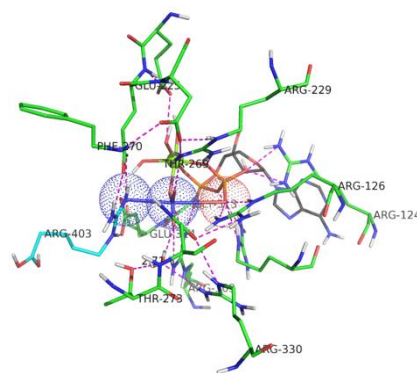
The Empirical Valence Bond (EVB) methodology seeks to identify the best conformer for the reaction by computational analysis of hundreds of thousands of possible conformers of the enzyme.<sup>[10]</sup> Consequently, EVB cannot afford to solve the mathematics of the energy equations without empirical inputs to constrain the system. As a result, the EVB energies calculated depend on the quality of parameterization, which carries the inherent risk that the parameters may be biased. Further, the EVB system assumes that bond-breaking is a function of just one molecular orbital. All other molecular orbitals are presumed to be invariant in reactant and transition state. The EVB methodology is at its best in its ability to consider large numbers of molecular conformations. However, the use of parameterization limits energies to around 3 kcal mol<sup>-1</sup>, and bond-breaking chemical reactions (reactant and transition state) are inherently even harder to parameterize. The weakness of EVB is its reliance on parameterization of energy equations, and so it produces activation energies relative to the approximations made in the computation, limited to around ±3 kcal mol<sup>-1</sup>.

We have employed a modified quantum mechanical Kohn-Sham DFT approach<sup>[11]</sup> which has the most suitable features for our program. We build on the experimental geometry of the single conformation of a transition state structure as identified by protein crystallography of a TSA, aiming at a structure of at least 2.0 Å resolution. The basic assumption is that our computation starts from an experimentally derived structure very close to the transition state, therefore it delivers the relevant conformation for the enzyme reaction. This removes the need to search over multiple conformations. Our QM calculation protocol for RhoA.GAP GTPase takes an MF<sub>x</sub> transition state mimic and replaces it atomically by PO<sub>3</sub><sup>-</sup> in a trigonal bipyramidal geometry. This allows the concertedness and associative/dissociative quality of the reaction to be dictated by the quantum mechanics. The accuracy of the molecular geometry is solved ± 0.01 Å for bonds, ~2° for angles, ~8° for dihedrals with all quantum mechanical equations are solved without parameterization. The conformational precision of a TSA crystal structure of ≥2.0 Å resolution exceeds the accuracy of solutions by EVB methods. Because the computer is not called on to search for additional conformations, the totality of computer time is available for accurate solutions to energy/geometry equations. Hence, the inherent limitation of the K-S approach is the absence of conformational searching because *it commits to* the “correct geometry” of the crystal structure of the selected TSA. A major advantage is the size of the QM zone to be analyzed: EVB methods operate in the range of 25-40 heavy atoms while K-S can handle at least 90 heavy atoms in the QM zone.

Within this K-S QM protocol, all bond lengths, angles, and dihedrals are allowed to move freely to deliver the transition state that is closest to the TSA crystal structure, simply after modification by replacement of the metal fluoride by PO<sub>3</sub><sup>-</sup>. There *are no adjustable parameters* and thus *no bias toward any answer* after the choice of the initial crystal structure. It is thus incumbent on the validity of the K-S approach that the close relevance of the TSA structure chosen to the “true” TS for the reaction chosen is established. This is valid for the superfamily of small G proteins because of the large number of MF<sub>x</sub> TSA structures available (16 PDB entries are led by **3msx** at a resolution of 1.65 Å). They show a relatively constant active site conformation with variation in Arg63 varying from TSAs to near attack conformations. The belief that phosphoryl transfer enzymes may use an ensemble of transition states, reflecting the dynamic nature of enzymes, has been refuted by a recent study on UMP/CMP kinase. It concludes that this enzyme has evolved to *restrict conformational freedom* along its reaction path over the energy landscape.<sup>[12]</sup>



**Figure 1.** TS for GTP hydrolysis by RhoA.Gap. Spheres show change in charge from ground state to transition state. O—Oaxsepn 4.2 Å (PDB: 1ow3).



**Figure 2.** Starting structure for the Arginine Kinase computation (PDB: 1m15). N--N--Oaxsepn 6.1 Å (van der Waals contact distance).

By contrast to the EVB approach, which excels at conformational sampling but struggles in its energy/geometry equations, the K-S model excels at the bond energy/geometry equations and assumes that experimental TSAs have solved the problem of conforma-

tional sampling. In conclusion, it is safe to say that neither of these two approaches is decisive. Both make significant assumptions in their models. In future work, we shall incorporate the totality of the protein into the K-M approach.

The first part of this lecture will focus on the investigation of the mechanism of hydrolysis of GTP by the superfamily of small G proteins, RhoA in particular (Fig. 1).<sup>[13]</sup> We have combined <sup>19</sup>F NMR, crystallography, and computational analysis, and interpret the results to deliver a picture of catalysis of the hydrolysis of GTP at sub-atomic resolution. Its conclusions will show that catalysis of phosphoryl transfer is achieved by:

- Exclusion of extraneous water from the active site,
- Coordination of the substrate with first and second shell amino acids by hydrogen bonds,
- Correct geometric alignment of nucleophile for “in-line” attack on phosphorus, and
- Inhibition of hydrogen bonding from the nucleophile to the target phosphoryl group.

The second part of the lecture will address the mechanism of phosphoryl transfer for creatine and arginine kinases. Such phosphagen kinases are unique in using a cationic nitrogen nucleophile as the target for phosphorylation. This example is chosen to demonstrate the limitations of crystal structures of ternary complexes of a kinase with ADP and arginine/creatine, using nitrate as a widely attributed transition state analog. This study reaches a satisfying conclusion (Fig. 2) while showing the limitations of a false TSA and the problems of computation built on such a shaky foundation.

## References

1. F. A. Lipmann, “Metabolic Generation and Utilization of Phosphate Bond Energy,” *Adv. Enzymol. Rel. Areas Mol. Biol.* **1**, 99 (1941).
2. G. Lowe, “Chiral [<sup>16</sup>O, <sup>17</sup>O, <sup>18</sup>O] phosphate esters.” *Accs. Chem. Res.* **16**, 244 (1983).
3. M. T. Skoog, W. P. Jencks. “Reactions of pyridines and primary amines with N-phosphorylated pyridines.” *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 7597 (1984).
4. M. W. Bowler, M. J. Cliff, J. P. Waltho, G. M. Blackburn, “Why did Nature select phosphate for its dominant roles in biology?” *New J. Chem.*, **34**, 784 (2010).
5. Y. Jin, N. G. Richards, J. P. Waltho, G. M. Blackburn, “Metal Fluorides as Analogs for Studies on Phosphoryl Transfer Enzymes,” in submission.
6. S. C. Kamerlin, P. K. Sharma, R. B. Prasad, A. Warshel, “Why nature really chose phosphate.” *Quart. Rev. Biophys.*, **46**, 1 (2013).
7. B. A. Gregersen, J. Khandogin, W. Thiel, M. Karplus, D. M. York, “A smooth solvation method for d-orbital semiempirical calculations of biological reactions II: application to phosphoryl transfer reactions.” *J. Phys. Chem. B*, submitted.
8. B. Ram Prasad, N. V. Plotnikov, J. Lameira, A. Warshel, “Quantitative exploration of the molecular origin of the activation of GTPase” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 20509 (2013); T. Rudack, F. Xia, J. Schlitter, C. Kötting, K. Gerwert, “Ras and GTPase-activating protein drive GTP into a precatalytic state as revealed by combining FTIR and biomolecular simulations.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 15295 (2012); M. G. Khrenova, B. L. Grigorenko, A. B. Komeisky, A. V. Nemukhin, “Hydrolysis of GTP by the Ras·GAP Protein Complex: Reaction Mechanism and Kinetic Scheme”, *J. Phys. Chem. B*, **119**, 12838 (2015).
9. K. Scheffzek, M. R. Ahmadian, W. Kabsch, L. Weismuller, A. Lautwein, F. Schmitz, A. Wittinghofer, “The Ras-RasGAP complex: structural basis for GTPase activation and its loss in oncogenic Ras mutants.” *Science* **277**, 333 (1997).
10. A. Warshel, “Molecular dynamics simulations of biological reactions,” *Accs. Chem. Res.*, **35**, 385 (2002).
11. Y. Zhao, D. G. Truhlar, “The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals.” *Theor. Chem. Acc.*, **120**, 215-241 (2008); N. Mardirossian, M. Head-Gordon, “How accurate are Minnesota density functionals for non-covalent interactions?” *J. Chem. Theor. Comput.* DOI: 10.1021/acs.jctc.6b00637 (2016).
12. C. Zeymer, N. D. Werbeck, S. Zimmermann, J. Reinstein, D. F. Hansen, “Characterizing active site conformational heterogeneity along the trajectory of an enzymatic phosphoryl transfer reaction.” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 11533 (2016).
13. Y. Jin, R. W. Molt, J. P. Waltho, N. G. Richards, G. M. Blackburn, “<sup>19</sup>F NMR and DFT Analysis Reveal Structural and Electronic Transition State Features for RhoA-Catalyzed GTP Hydrolysis.” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 3318 (2016).

## ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

### ПЕПТИДОМИКА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ВЫЗОВЫ

**В.Т. Иванов**

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

Стремительное развитие методов анализа сложных биологических объектов в сочетании с растущей доступностью геномной информации создали условия для исчерпывающего, системного анализа компонентов, участвующих в процессах жизнедеятельности, независимо от их химической природы и биологической функции. Широкое распространение получили так называемые «омиксные» технологии изучения биомолекул. Настоящее сообщение посвящено одной из таких областей, пептидомике, где пептидом, т. е. полный набор пептидов, присутствующих в биологическом образце, рассматривается как подраздел протеома, образующийся на заключительном этапе метаболической цепочки, описывающей реализацию первичной биологической информации:

**геном → транскриптом → протеом → пептидом**

В нашей работе впервые описан пептидом растительного объекта, мха *Physcomitrella patens*. Была установлена структура более 20000 индивидуальных пептидов, образующихся на разных стадиях развития мха, и проведено их отнесение к конкретным белкам-предшественникам. Было выявлено более 70 пептидов, образующихся путём прямой трансляции коротких рамок считывания генома мха. Для ряда пептидов обнаружена антифитопатогенная активность, в специально разработанных тестах обнаружено действие пептидов на отдельные стадии развития мха. Вместе с тем, число выявленных пептидов намного превышает пропускную способность биотестов, поэтому полноценное описание их роли в метаболизме растения – задача будущего.

Вторая часть сообщения посвящена биомедицинским аспектам пептидомики. Анализ спинномозговой жидкости пациентов с неврологическими заболеваниями дал существенную информацию о природе инфекционного менингита, множественного склероза и синдрома Гийена–Барре. Пептидомный анализ сыворотки крови человека выявил устойчиво воспроизводи-

мые различия между образцами здоровых доноров и пациентов с раком яичника, раком прямой кишки и лейкемией. Было установлено, что в сыворотке крови человека присутствуют пептиды, образующиеся из белков кишечной микробной флоры (2–5% от общего числа 5000). Обсуждается возможность применения пептидомной информации в целях медицинской диагностики.

## ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

### ПЛАСТИЧНОСТЬ МЕТАГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА – ФАКТОР ПЕРСониФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

**В.М. Говорун**

*ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия*

В здоровом взрослом человеке может находиться до 100 трлн микробов, что в 10 раз превышает общее количество клеток человеческого тела. Микробиота состоит из более чем 500 видов микроорганизмов, общая масса которых составляет 2,5–5 кг. На долю кишечной микрофлоры приходится 60% всех бактерий в организме.

Основу кишечного микробиоценоза составляет главная (облигатная или резидентная) микрофлора (постоянно обитающие виды бактерий), на долю которой приходится около 90% от всех микроорганизмов. В основном облигатная микрофлора представлена бифидобактериями, лактобациллами, бактероидами, эубактериями, пропионобактериями, эшерихиями, энтерококками, пептострептококками, фузобактериями.

Около 10% бактерий составляют факультативную или сопутствующую микрофлору (сапрофитная и условно-патогенная) и 0,01–0,02% – транзиторную (случайные микроорганизмы).

Нормальная кишечная микрофлора в организме человека выполняет важнейшие физиологические функции, что позволяет рассматривать ее как отдельный метаболический орган. Прежде всего, она препятствует колонизации пищеварительного тракта факультативными и патогенными микроорганизмами, обеспечивая защитную функцию, в основе которой лежит принцип микробного антагонизма. Колонизационная резистентность обеспечивается за счет конкуренции за питательные вещества и рецепторы для адгезии, изменения уровня pH, выработки антибиотикоподобных веществ – бактериоцинов – и других веществ с противомикробной активностью. Нормальная микрофлора также обладает способностью распознавания и элиминации вирусов, что позволяет обеспечивать противовирусную защиту макроорганизма.

Облигатная кишечная микрофлора поддерживает метаболическую функцию, осуществляя переваривание основных пищевых субстанций и синтезируя новые. Многие виды белков, жиров и углеводов, входящие в состав питательного рациона человека, могут быть расщеплены только определенными кишечными микроорганизмами. Гидролиз белков осуществляется с помощью ферментов, вырабатываемых протеолитической микрофлорой – бактероидами, нормальной кишечной палочкой.

Нормальная микрофлора участвует в синтезе аминокислот, витаминов группы B, PP, K, C, биотина, пантотеновой кислоты, гормонов, антибиотических и других веществ, способствует всасыванию ионов железа, кальция, витамина D.

Микробиота выполняет детоксикационную функцию, нейтрализуя экзогенные и эндогенные ядовитые соединения (амины, меркаптаны, фенолы, ксенобиотики, мутагенные стероиды). Токсические продукты и канцерогены в дальнейшем утилизируются в реакциях метаболизма либо выводятся из организма с кишечным содержимым.

Считается, что МК является относительно стабильным на протяжении всей взрослой жизни, однако недавние исследования показали, что в пожилом возрасте происходят количественные изменения, а именно отмечается уменьшение количества таких родов бактерий, как *Bifidobacterium*, *Bacteroides* и *Lactobacillus*. Если в составе микрофлоры кишечника взрослого организма содержится 4–5 видов рода *Bifidobacterium*, в пожилом возрасте встречается лишь один доминирующий вид этого рода: *Bifidobacterium adolescentis*, либо *Bifidobacterium angulatum* и *Bifidobacterium longum*. Одним из объяснений снижения *Bifidobacterium* у пожилых людей является снижение их адгезии из-за изменения химического состава и структуры слизистой оболочки толстой кишки. Выявлено, что наблюдаемые с возрастом изменения приводят к низкому разнообразию и изменению соотношений бактерий на уровне видов рода *Bacteroides*. С возрастом наблюдается увеличение количества факультативных анаэробов, что также подчеркивает различия кишечной микрофлоры взрослого и пожилого организма.

При внутриутробном развитии плод стерилен, поскольку он защищен непроницаемой для микроорганизмов оболочкой. Однако после разрыва плодной оболочки и при прохождении родовых путей микроорганизмы начинают заселяться вначале на коже ребенка, а в дальнейшем попадают и в желудочно-кишечный тракт. Интенсивная колонизация ЖКТ начинается в течение первых суток внеутробной жизни; в составе микрофлоры в дальнейшем возможны вариации. К 4–6 годам происходит возрастное становление микробиоценоза – количество бифидобактерий уменьшается до  $10^8$  КОЕ/г изменяется видовой состав (исчезают *B. Infantis*, появляются *B. Adolescentis*, уменьшается количество *B. bifidum*), возрастает численность грамположительных аспорогенных микроорганизмов, уменьшается содержание лактобактерий до  $10^6$  КОЕ/г. У детей старшего возраста (после 6 лет) состав микрофлоры кишечника идентичен таковому у взрослых.

Одной из важнейших функций нормальной кишечной микрофлоры является участие в формировании местной и общей иммунологической реактивности. Бактерии способны стимулировать продукцию секреторного иммуноглобулина А и фагоцитарные реакции, активировать и поддерживать состояние собственной лимфоидной ткани слизистой оболочки кишечника (gut-associated lymphoid tissue – GALT). Взаимодействие микробиоты с иммунной системой кишечника реализуется посредством системы Toll-подобных рецепторов (TLR). На сегодняшний день известно 13 типов TLR, которые представлены в большом количестве на поверхности кишечного эпителия и в то же время обнаружены на моноцитах, макрофагах, в системном кровотоке и периферических органах и тканях, что свидетельствует о важной роли TLR в регуляции как местного, так и системного иммунного ответа. TLR обеспечивают защиту кишечного эпителия от транслокации патогенных микроорганизмов посредством распознавания определенного микробного паттерна.

Сохранность слизистой оболочки, наличие обострения или гомеостаз зависят от установления паритета между патогенными факторами и компонентами системы защиты. Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) относятся к неспецифиче-

ским факторам гуморальной врожденной иммунной системы и обеспечивают защиту против широкого спектра бактерий, грибов и оболочечных вирусов.

С момента возникновения на протяжении миллионов лет развиваются взаимосвязи между организмом хозяина и микробиотой кишечника – симбиоз. Однако современный этап развития человечества характеризуется глубокими нарушениями эволюционно сложившегося равновесия между макроорганизмом и его симбиотной микрофлорой. Под влиянием изменения характера и ритма питания, бесконтрольного использования лекарственных препаратов, ксенобиотиков, а также кишечных инфекций, заболеваний внутренних органов, снижения физической активности происходит нарушение микробного равновесия в кишечнике, которое называется дисбиоз.

Основными причинами, приводящими к нарушению эубиоза, являются:

- антибактериальная терапия, применение стероидов и цитостатических препаратов, лучевая терапия, оперативные вмешательства;
- нерегулярное питание; дефицит пищевых волокон; несбалансированное по составу нутриентов, витаминов, микроэлементов питание; потребление пищи, содержащей антибактериальные компоненты, красители, консерванты, разрыхлители; резкая смена рациона и режима питания;
- стрессы различного генеза;
- ослабление иммунитета;
- нарушение биоритмов, дальние поездки;
- заболевания внутренних органов, прежде всего органов пищеварения;
- острые инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта;
- функциональные нарушения моторики кишечника

Прием антибиотиков также может существенно нарушать структурный и функциональный баланс микробиоценоза кишечника, приводить к изменению физико-химических свойств слизистого барьера, повышению проницаемости кишечной стенки и усилению абсорбции токсических продуктов кишечного метаболизма, а также к увеличению среди представителей нормальной транзитной микрофлоры количества микробов, обладающих патогенными свойствами и лекарственной резистентностью.

Многочисленные доказательства патогенетической роли нарушений микробного пейзажа кишечника в развитии различных заболеваний диктуют необходимость поиска механизмов коррекции дисбиотических изменений с целью профилактики развития и прогрессирования различной функциональной и органической патологии, а в ряде случаев – и полного ее излечения. Следует помнить о том, что дисбиотические изменения всегда вторичны, поэтому поиск и коррекция основного заболевания в сочетании с таргетным воздействием на микробиоценоз кишечника являются определяющей стратегией терапии.

Перспективным направлением коррекции дисбиотических нарушений является трансплантация фекальной микрофлоры (ТФМ). С момента проведения первой ТФМ в 1958 году до настоящего времени в мире выполнено более 5000 успешных процедур, продемонстрировавших высокую эффективность при тяжелой рецидивирующей инфекции *C. difficile*. Именно указанный вид терапии является единственным способом преодоления резистентности данного микроорганизма к действию антибиотиков и служит наиболее результативным терапевтическим подходом в случае неэффективности противомикробного лечения *C. difficile*-ассоциированной диареи.

Кроме того, в работах последних лет продемонстрирована эффективность данной методики при синдроме раздраженного кишечника, воспалительных заболеваниях кишечника, сахарном диабете и метаболическом синдроме, неалкогольной жировой болезни печени, онкологических заболеваниях ЖКТ, рассеянном склерозе, синдроме хронической усталости, идиопатической тромбоцитопении, аутоиммунных заболеваниях.

Данный вид терапии на XXI Европейской объединенной гастроэнтерологической неделе был признан одним из трех наиболее значимых достижений гастроэнтерологии в 2013 году.

На сегодняшний день роль кишечной микробиоты в сохранении здоровья человека, а также в формировании ряда функциональных и органических болезней неоспорима. Прогресс в молекулярной биологии и генетике сделал понятнее механизмы взаимодействия микро- и макроорганизма. Превенция нарушений кишечной микробиоты и восстановление эубиоза с помощью инновационных технологий позволяют в будущем достичь революционного прорыва в лечении и профилактике развития и прогрессирования многих хронических неинфекционных заболеваний. *Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № RFMEFI57514X0075).*

## ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ

### **ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ПРИ СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИЯХ**

**Л.Г. Магазаник, А.В. Зайцев**

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

От эпилепсии страдает почти 1% населения Земли, при этом примерно у 30% больных эпилептические припадки не поддаются медикаментозному контролю. В основе патофизиологии эпилепсии лежит нарушение баланса между торможением и возбуждением. В экспериментальных моделях эпилепсии, а также при изучении эпилептического мозга человека описан целый ряд нарушений в работе глутамат- и ГАМКергической систем, однако в силу гетерогенности данного заболевания и использования различных моделей, литературные данные о конкретных изменениях в медиаторных системах противоречивы. В нашей работе мы исследовали роль глутаматергической системы при некоторых экспериментальных моделях эпилепсии (литий-пилокарпиновой, пентилентетразоловой, электросудорожной). Обнаружили, что специфические блокаторы глу-

таматных рецепторов NMDA и AMPA типов по-разному воздействуют на судорожные состояния, а их эффективность зависит от типа судорог. Выявлено, что эпилептический статус при литий-пилокарпиновой модели приводит к долговременным изменениям в субъединичном составе AMPA и NMDA рецепторов в коре и гиппокампе крыс, что было показано методом ПЦР в реальном времени и подтверждено электрофизиологическими экспериментами на переживающих срезах и изолированных нейронах коры и гиппокампа. В частности, обнаружено, что в пирамидных клетках коры мозга крыс уже через сутки после судорожного состояния появляются кальций-проницаемые AMPA рецепторы, отсутствующие в норме. Эти изменения в субъединичном составе AMPA рецепторов наблюдаются в течение недели и, вероятно, являются одной из причин гибели нейронов. Изменения в составе NMDA рецепторов сопровождаются нарушениями в выработке долговременной синаптической пластичности в срезах гиппокампа. Выявленные закономерности патологических изменений в глутаматергической системе дают новые идеи для создания эффективных противоэпилептических препаратов. *Работа поддержана программой Президиума РАН №19 и грантами РФФИ 14-04-00413 и 15-04-02951.*

**ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

**НЕЙРОСОСУДИСТОЕ СЦЕПЛЕНИЕ И фМРТ-ЭЭГ ДИНАМИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ  
МОЗГА**

**М.Б. Штарк**

*НИИ молекулярной биологии и биофизик СО РАН; Международный томографический центр СО РАН; Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия*

Нейрососудистое сцепление (НСС) – редкое «действующее лицо» в отечественной нейробиологии. Тем не менее, это узловой «перекресток» центральных электрогенеза и гемодинамики, дееспособность которого обеспечивает нормальные механизмы мозговой деятельности, а в случае ее нарушений – основные клинические варианты церебральной патологии – от депрессивных расстройств до дегенеративных заболеваний типа болезни Альцгеймера. Многообразие и значение регуляторного влияния НСС визуализируется и управляется *on line* средствами технологии фМРТ-ЭЭГ картирования. Включение этих технологий в контур приспособительной обратной связи создает уникальную возможность реципрокного и раздельного управления BOLD-феноменом и ЭЭГ-параметрами. Триада фМРТ-ЭЭГ-biofeedback technology обеспечивает современный тренд исследований в экспериментальной и клинической нейробиологии и является основным императивом доклада. На примере поведенческих моделей различной степени сложности будут проанализированы результаты: а) игрового биоуправления, в рамках которого соревновательный сюжет виртуальной компьютерной игры развивается волевым воздействием с помощью различных ментальных стратегий; б) обучения модификаций альфа-ритма ЭЭГ с целью поиска новых мозговых структур, участвующих в создании (генерации) этой доминирующей характеристики электрогенеза; в) интерактивной стимуляции (терапии) мозга, «мишенями» обратной связи которой, с целью лечения и реабилитации депрессивных расстройств и последствий инфарктов мозга (инсультов), являются идентифицированные регионы интереса – конкретные мозговые структуры. В качестве «перформанса» будет рассмотрены стереотопография нейронных сетей, построенных на основе фМРТ-картирования и образующихся *on line* в контуре адаптивной обратной связи и возможности их (сетей) когнитивного управления с целью лечения и реабилитации. *Грант РФФИ №16-15-00183.*

**ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

**НАРУШЕНИЕ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ В ГИППОКАМПе *IN VITRO* И ПУТИ  
ЕЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ**

**В.Г. Скребицкий**

*Научный центр неврологии, Москва, Россия*

В настоящее время можно считать доказанным, что одна из форм синаптической пластичности – длительная потенциация в гиппокампе (ДП) является механизмом, лежащим в основе памяти и обучения. В большом количестве работ показано, что нарушение ДП, вызванное разными факторами (например, нокаутом одной из субъединиц глутаматного рецептора), приводит к когнитивной дисфункции. Подавление индукции ДП можно также вызвать применением растворимых форм  $\beta$ -амилоидного пептида ( $A\beta$ ), являющегося ключевым игроком в развитии болезни Альцгеймера. Во многих публикациях, в том числе и в наших, показано, что наномолярные концентрации  $A\beta$  подавляют индукцию ДП в поле CA1 срезов гиппокампа. Механизмы этого подавления, по-видимому, многообразны и не до конца изучены. Одним из них является дисфункция митохондрий, приводящая к возрастанию продукции реактивных форм кислорода, в особенности супероксида. Нами показано, что митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 способен восстанавливать, нарушенную ДП. В отличие от наномолярных- пикомолярные концентрации  $A\beta$ , присутствующие в организме в нормальных условиях, увеличивают ДП (Puzzo et al., 2008). Нами было изучено (пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка») влияние пикомолярных концентраций  $A\beta$  (10 пМ–100 нМ, фрагмент 25–35) на глициновые токи в пирамидных нейронах поля CA1, изолированных из среза (Vukanova et al., 2014). Показано, что короткая (600 мс) коаппликация глицина и  $A\beta$  приводит к обратимому дозозависимому усилению десенситизации ответов на глицин, что может интерпретироваться как ослабление тонического торможения пирамидных нейронов. Последнее, как нами было ранее показано (Skrebitsky, Cherkova, 1998), способствует проявлению разных форм синаптической пластичности, включая ДП. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-15-00235*



**НАПРАВЛЕННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА – ВАЖНЕЙШАЯ ЗАДАЧА ФИЗИОЛОГИИ И САНОКРЕАТОЛОГИИ**

**Ф.И. Фурдуй, В.К. Чокинэ, В.Ф. Фурдуй, В.Г. Врабие, А.Г. Глижин, Е.С. Березовская**  
*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Проблема здоровья по своей остроте и значимости для дальнейшего развития общества стоит в один ряд с таковыми, угрожающими его существованию, как демографическая, экологическая, алиментарная, энергетическая и др. Ее критический характер обусловлен не только тем, что сегодня современное общество, по существу, является больным, но и отсутствием общепринятого мнения о самом понятии «здоровье», о природе, механизмах его формирования и поддержания, о путях повышения уровня саногении и др.

Опыт исследования указанной проблемы показал, что ее решение возможно лишь при отказе от существующей системы стихийного формирования здоровья человека и при разработке и внедрении новой парадигмы, ориентированной на целенаправленное создание и его сохранение – от этапов закладки гамет и зигот до последних дней жизни человека в соответствии с условиями его жизнедеятельности, с тем, чтобы он смог бы реализовать свой биологический и психический потенциал, а общество прогрессивно эволюционировало бы в постоянно меняющихся условиях существования. Реализация этих задач возможна за счет научного и практического потенциала наук о человеке, в первую очередь, физиологии человека и животных и санокреатологии, перед последней из которых стоят задачи разработать теорию и практику целенаправленного создания и регулирования саногенного статуса организма человека.

В плане разрешения этой фундаментальной проблемы Институтом физиологии и санокреатологии АН Молдовы была разработана санокреатологическая концепция о здоровье, согласно которой, его формирование обусловлено генетической программой развития организма, реализуемой вследствие его взаимодействия со средой обитания, генотипа и фенотипа, генома и средовых сигналов, являющихся предпосылкой развития санокреатологии, основная задача которой состоит в разработке научных основ теории и практики направленного создания и сохранения здоровья человека. Подтверждением ее реальности служат: модификации морфологических параметров органов и систем под влиянием факторов внешней среды; естественные возможности произвольно и направленно влиять на функции таких жизненно важных физиологических систем, как респираторная, двигательная, нервная, зрительная, иммунная, пищеварительная, мочевыделительная, сердечная; методология клонирования генетически идентичных организмов; проявление реактивности генома и др.

Разработаны специфические методологические подходы к санокреатологическому решению проблемы здоровья, которые определяют пути и способы к направленному формированию и поддержанию здоровья человека от закладки органов и систем до последних дней его жизни, позволившие организовать комплексные и ориентированные исследования по выявлению механизмов развития как соматического и психического, так и интегрального здоровья организма.

Выяснено соотношение генетического и онтогенетического факторов в развитии соматического и психического здоровья, установлены средовые факторы, играющие особую роль в их становлении. Выявлены наиболее уязвимые периоды в формировании и становлении здоровья при внутриутробном и постнатальном онтогенезе.

Многолетние исследования регуляции сердечно-сосудистой системы, с позиции санокреатологических принципов и подходов, с учетом ее значимости для деятельности организма и высокой уязвимости в современных стрессогенных условиях жизнедеятельности, послужили основанием для выделения в отдельную область знаний кардиосанокреатологию, успешно разрабатывающую научные основы и методы направленного формирования морфо-функционального статуса сердечно-сосудистой системы, с целью обеспечения ее саногенной деятельности в разных условиях жизни организма.

Определена специфичность экстерииоризации феноменологии интегрального и психического здоровья и доказана обоснованность использования при изучении здоровья понятий «физиологическая норма» и «психическая норма». Из-за их неадекватного рефлексирования уровня состояния здоровья были обоснованы и введены в обращение новые, более объективные понятия и их существенные признаки – «саногенная норма», «индивидуальный уровень психического здоровья».

Большая перспектива открывается в связи с развитием психосанокреатологии, в плане идентификации индивидуальных уровней психического здоровья, направленного создания психики человека, формирования и поддержания психической саногении и развития людей с выдающимися интеллектуальными способностями.

На базе экстерииоризации феноменологии составляющих нейро-психических компонентов, участвующих в формировании психического здоровья и характера поведения, с использованием в качестве единицы его измерения «индивидуальный уровень психического здоровья», было осуществлено структурирование состояния здоровья человека на 11 уровней и 15 подуровней. Саногенная экстерииоризация всех нейро-психических компонентов, включая и поведенческий, формирующих психику человека, характерна лишь для одного индивидуального уровня – психосанокреатологического; для психополикомпонентного уровня экстерииоризация нейро-психических компонентов психического здоровья проявляется на саногенном уровне, однако, у отдельных его представителей поведение может носить индивидуальный характер, не всегда соответствующий общепринятым нормам, у них могут проявляться особые творческие способности в отдельных областях их деятельности; у двух других – психомедиального и психобикомпонентного – саногенно могут экспрессироваться лишь три или два нейропсихических компонента, остальные два или один, соответственно, диссаногенно, а у отдельных их представителей – особые творческие способности; у еще трех индивидуальных уровней – психогипердепендентного с флуктуирующей гиперреактивностью, психонеуровновешенного с фрустрированным и аффективно-шоковым ситуационно обратимым психическим состоянием и соматопсихического – периодически проявляется дефицитность саногенности психического статуса с преобладанием девиантного поведения; а для четырех остальных уровней – психоретардантного, вегето-соматического, психодиссаногенического с продолжительной ремиссией интеллектуальных процессов с аффективным или депрессивным поведением и психодиссаногенического с деградацией личности с аффективным или депрессивным поведением – характерным является доминирование различной степени диссаногений, вплоть до ассаногении, сочетаемых с девиантным поведением. Хотя при дальнейших исследованиях классификация индивидуальных уровней психического здоровья может претерпеть

определенные уточнения, но уже в этом варианте подтверждается вывод о том, что лишь малая часть современного общества манифестирует саногенные признаки психического здоровья.

В докладе будут рассмотрены дальнейшие задачи физиологии и санокреатологии, в плане целенаправленного формирования и поддержания здоровья, и пути их решения.

*ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ*

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЕ  
И КОНСТРУИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВ**

**С.Д. Варфоломеев**

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Химический факультет  
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Фундаментальным базисом молекулярной медицины является расшифровка генома человека, исследования молекулярного полиморфизма белков (индивидуальные структурные разнообразия одного и того же белка), достижения в области изучения молекулярной трехмерной структуры белков и развитие суперкомпьютерных вычислительных комплексов и технологий. В докладе обсуждается:

- Компьютерное конструирование лекарств, основы подхода и примеры;
- Идентификация механизмов реакций и расчет реакционной способности ферментов на основе квантово-химического приближения;
- Молекулярно-механические и молекулярно-динамические подходы с учетом динамики конформационных изменений белков;
- Молекулярный полиморфизм – генетическое предопределение различных заболеваний, основа – наличие структурных вариантов одного и того же белка;
- Суперкомпьютерные вычисления, основа методологии, предсказания влияния полиморфной замены на структуру и каталитическую активность ферментов;
- Молекулярная основа заболеваний как результат единичных замен в структуре ключевых ферментов на примере аспартоацилазы, изучение болезни Канован.
- Молекулярная природа индивидуальной чувствительности к лекарствам на примере ингибиторов холинэстераз и карбоксилэстераз.

Компьютерное моделирование обеспечивает понимание фундаментальной проблемы: как структура белка проявляется в молекулярной патологии и индивидуальной чувствительности к лекарству. Роль «удаленных» замен.

*ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ*

**РАЗВИТИЕ ИДЕЙ НОБЕЛЕВСКОГО ЛАУРЕАТА ИВАНА ПЕТРОВИЧА ПАВЛОВА  
О ЦЕЛОСТНОСТИ ОРГАНИЗМА НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ ФИЗИОЛОГИИ**

**В.М. Покровский**

*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия*

«Да, я рад, что вместе с Иваном Михайловичем и полком моих дорогих сотрудников мы приобрели для могучей власти физиологического исследования вместо половинчатого весь нераздельно животный организм. И это целиком наша русская неоспоримая заслуга в мировой науке, в общей человеческой мысли» (И.П. Павлов). Павловым постулирован идеологический подход познания функций в организме, находящемся в адекватных отношениях со средой. Именно такой подход обусловил основополагающий прорыв при изучении пищеварения, удостоенный Нобелевской премии. Спираль развития науки привела в последующие десятилетия к впечатляющим открытиям в области клеточной, молекулярной физиологии, иммунологии и генетики. Последнее подготовило базу к интеграции этих фактов в построении представлений о функционировании систем в целостном организме на грядущем витке спирали развития науки. В настоящем сообщении представлены факты, полученные при исследовании функций в интактном организме, на примере ритмогенеза сердца: синхронизация естественных сигналов в блуждающих нервах и ритма сердца при сердечно-дыхательном синхронизме; увеличение зоны инициации возбуждения в синоатриальной области сердца при воспроизведении сердцем ритма сигналов, следующих по блуждающим нервам; увеличение зоны инициации возбуждения в синоатриальном узле сердца при выходе человека и животных из наркоза; развитие преавтоматической паузы при блокаде проведения возбуждения в блуждающих нервах у бодрствующих животных и её отсутствие у наркотизированных. Таким образом, в естественных условиях жизнедеятельности организма формирование ритма осуществляется иерархической системой, включающей целостный мозг с окончательным формированием ритмогенерирующего сигнала в продолговатом мозге, передачу ритма сигналов по блуждающим нервам, воспроизведение сердцем этого ритма. Данные представления принципиально отличаются от принятых, основанных на исследованиях у наркотизированных животных и в изолированных тканях, согласно которым ритм сердца рождается в его ритмогенерирующих структурах. Значимость представленной методологии научного поиска выходит за пределы выяснения механизмов организации одной системы жизнедеятельности и ставит вопрос об экстраполяции такого пути познания на другие функции организма и сам организм как целостную систему.

**ПЛАСТИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ АКТИВНОСТИ МОЗГА В РЕЗУЛЬТАТЕ ТРЕНИРОВКИ ПОСТИНСУЛЬТНЫХ БОЛЬНЫХ С ПОМОЩЬЮ ЭКСОСКЕЛЕТА КИСТИ РУКИ ЧЕЛОВЕКА, УПРАВЛЯЕМОГО ИНТЕРФЕЙСОМ МОЗГ–КОМПЬЮТЕР**  
А.А. Фролов, О.А. Мокиенко, Л.А. Черникова, Р.Х. Люкманов, С.В. Котов, Л.Г. Турбина, П.Д. Бобров, Е.В. Бирюкова, А.А. Кондур, Г.Е. Иванова, А.Н. Старицын, Ю.В. Бушкова, И.З. Джалагония, М.Е. Курганская, О.Г. Павлова, С.Ю. Будилин, Я.В. Керечанин  
*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; Научный центр неврологии РАН; Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия*

С 2014 года на трех клинических площадках (НЦН, МОНИКИ, Больница № 31 г. Москвы) проводится слепое рандомизированное исследование эффективности применения роботизированного комплекса, содержащего экзоскелет кисти руки и управляющий им интерфейс мозг–компьютер (ИМК), основанный на анализе паттернов ЭЭГ, соответствующих кинестетическому воображению движений. Процедура включала 10–12 сессий, по одной сессии в день, с интервалами между сессиями 1–2 дня. К настоящему времени процедуру с использованием комплекса прошли 36 пациентов и 11 пациентов прошли имитацию этой процедуры, когда экзоскелет приводился в движение случайно. Кроме того, процедуру прошли 23 здоровых испытуемых, которые составили контрольную группу сравнения. Каждый испытуемый (больной или здоровый) проходил исследования с помощью функционального магнито-резонансного томографа (фМРТ) до и после процедуры для исследования изменения активности мозга в результате тренировки на управление ИМК. Результаты проводимого исследования показали, что реабилитация с использованием комплекса ИМК–экзоскелет значительно увеличивает долю пациентов с клинически значимым восстановлением двигательных функций по сравнению с группой имитации этой процедуры. Например, их значимое улучшение по шкале ARAT (на 5 баллов и более) наблюдалось у 33% больных в группе ИМК–экзоскелет, против 9% в группе с имитацией этой процедуры. По шкале Fugl–Meier увеличение на 7 и более баллов наблюдалось, соответственно, у 30% и 18% пациентов. По данным фМРТ около 30 областей мозга, широко распределенных по его объему, активируются при воображении движений. Для поиска и локализации источников электрофизиологической активности разработаны методы, основанные на анализе независимых компонент и решении обратной задачи ЭЭГ с учетом индивидуальной геометрии мозга и его покровов. Показано, что паттерны ЭЭГ, значимые для управления ИМК создаются комбинациями из примерно 50 независимых источников, расположенных, как и фокусы гемодинамической активности, регистрируемые с помощью фМРТ, по всему объему коры. Наиболее значимыми для функционирования ИМК, как у здоровых испытуемых, так и постинсультных больных, являются источники, расположенные в области ВА3а, ответственной за проприоцептивную чувствительность конечностей, движение которых воображается.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ, ОСНОВАННОЙ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭКСОСКЕЛЕТА КИСТИ РУКИ, УПРАВЛЯЕМОГО ИНТЕРФЕЙСОМ МОЗГ–КОМПЬЮТЕР: ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**  
Е.В. Бирюкова<sup>1,2</sup>, А.А. Фролов<sup>1,2</sup>, П.Д. Бобров<sup>1,2</sup>, С.В. Котов<sup>3</sup>, Л.Г. Турбина<sup>3</sup>, А.А. Кондур<sup>3</sup>, М.Е. Курганская<sup>2</sup>, О.Г. Павлова<sup>2</sup>, И.З. Джалагония<sup>2</sup>, Я.В. Керечанин<sup>4</sup>

*<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва; <sup>2</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва; <sup>3</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва; <sup>4</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный Московской области, Россия*

Исследована динамика восстановления двигательной функции 15-и постинсультных больных в ходе курса реабилитации с использованием экзоскелета кисти, управляемого интерфейсом «мозг–компьютер». Для объективной оценки состояния двигательной функции руки проводился биомеханический анализ движений руки во всех степенях свободы до и после процедур. Десять ежедневных процедур в целом приводили к улучшению состояния двигательной функции, которое у разных пациентов проявлялось в следующих эффектах: (а) возникновение движений в дистальных суставах, которые отсутствовали перед началом процедур; (б) увеличение и сглаживание суставных скоростей; и (в) вытормаживание патологических синергий.

**НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ИНВАЗИВНЫХ ИНТЕРФЕЙСОВ «МОЗГ–КОМПЬЮТЕР–МОЗГ» НА ОБЕЗЬЯНАХ**

А.М. Бадакв<sup>1</sup>, Л.Н. Зобова<sup>1</sup>, Н.В. Миллер<sup>1</sup>, В.Ю. Рошин<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН; <sup>2</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия*

Интерфейс мозг–компьютер (ИМК) – это система для управления внешними устройствами сигналами мозга. Для социальной реабилитации больных с полной потерей двигательных функций наиболее эффективным может оказаться инвазивный тип ИМК, реализуемый с помощью микроэлектродов, вживленных в мозг. Принципиальные вопросы его разработки и исследования решаются в экспериментах на обезьянах, которые не могут реагировать на словесные инструкции, чтобы осуществлять необходимые движения и генерировать связанную с этими движениями активность мозга. Поэтому их сначала обучают двигательным задачам, связанным с целенаправленными движениями руки или управлением внешними объектами с помощью джойстика и других подобных устройств. Развитие тематики инвазивных ИМК в экспериментах на обезьянах показало, что важнейшим фактором использования ИМК является пластичность коры мозга, способная улучшать произвольную модуляцию нейрональной активности и проявляющаяся при тренировке животных с использованием биологической обратной связи, основанной на зрительной афферентации. Между тем, огромное значение при точностных манипуляциях с объектами имеет соматосенсорная обратная связь. Исследования последних лет показали, что добавление передачи мозгу искусственной «сенсорной» информации посредством многоканальной координированной микростимуляции сенсорных областей коры позволяет осуществить интерфейс мозг–компьютер–мозг (ИМКМ). Сигнал искусственной обратной связи не должен функционально отличаться от сигнала естественной обратной связи, обеспечивая необходимую сенсорную информацию и допуская мультисенсорную интеграцию со зрительным каналом для уменьшения вариабельности движения при использовании обоих сигналов. В ряде работ показана возможность осуществления искусственного проприоцептивного канала путем микростимуляции достаточно произвольно выбранных точек сенсомоторной коры на основе пространственно-временной корреляции между проприоцептивным и зрительным сигналами, которая дает возможность ниже лежащим ней-

ронам обучиться распознавать общий причинный фактор, например, позицию руки, во время выполнения моторной задачи. В докладе дается описание программно-технических средств и методических приемов, создающих научно-техническую платформу для экспериментальных исследований инвазивных ИМКМ на обезьянах.

### **ДЕКОДИРОВАНИЕ СИГНАЛОВ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДЛЯ ГРАДУАЛЬНОГО УПРАВЛЕНИЯ В ИНВАЗИВНОМ ИНТЕРФЕЙСЕ МОЗГ–КОМПЬЮТЕР**

**В.Ю. Рошин<sup>1,2,4</sup>, А.И. Боголюбовский<sup>3</sup>, А.М. Бадакв<sup>2</sup>, Н.В. Миллер<sup>2</sup>, Л.Н. Зобова<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва; <sup>2</sup>Институт медико-биологических проблем РАН, Москва;

<sup>3</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва; <sup>4</sup>ООО «НейроБиоЛаб», Москва, Россия

Одним из перспективных направлений построения антропоморфных систем управления многозвенными протезами конечностей является разработка технологии управляющих инвазивных интерфейсов мозг-компьютер (ИМК). Управление формируется на основе декодирования сигналов нейрональной активности, регистрируемой многоканальными микроэлектродными имплантированными в моторную кору головного мозга. Для использования таких ИМК требуется обучение, в ходе которого происходит как настройка алгоритма декодера, позволяющая оптимизировать извлечение значимой информации из нейрональной активности, так и основанные на механизме биологической обратной связи пластические изменения в коре. Декодирование нейрональной активности представляет собой задачу построения оценки скрытых показателей состояния системы (кинематического управления) по зашумленным и неполным значениям наблюдаемых характеристик (оценки частот высокоамплитудных спайков и энергии сигналов низкоамплитудной мультинейронной активности). В предположении линейности системы и гауссовости распределений шумов в ней такую оптимальную оценку даёт использование фильтра Кальмана, который, в силу его вычислительной экономности, хорошо подходит для работы в реальном времени. На каждом шаге его работы предыдущая оценка состояния системы экстраполируется на один шаг, а затем для получения оптимальной апостериорной оценки эта априорная оценка уточняется с использованием значений наблюдаемых показателей. Для учёта нелинейности зависимости наблюдаемых показателей от состояния системы возникает необходимость применения более сложных фильтров, относящихся к семейству сигма-точечных фильтров Кальмана ("unscented" фильтр UKF, фильтр Кальмана с центральными разностями CDKF). Они более требовательны к вычислительным ресурсам, но могут использоваться для декодирования как при апостериорной обработке экспериментальных данных, так и в реальном времени. В качестве инструмента офф-лайн обработки данных и оценки их информационной ёмкости могут использоваться и более мощные фильтры семейства «фильтров частиц», основанные на последовательных расчётах по методу Монте-Карло; они хорошо работают даже для существенно нелинейных моделей и распределений шумов, отличных от гауссовского. В докладе приводится сравнение эффективности перечисленных алгоритмов.

### **НОВЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ РУКИ ЧЕЛОВЕКА. КИНЕМАТИЧЕСКИЙ ПОРТРЕТ КАК ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОЙ РЕАБИЛИТАЦИОННОЙ ТАКТИКИ – ИМК+ЭКЗОСКЕЛЕТ. ПРИЧИНЫ СОЗДАНИЯ НОВОГО МЕТОДА РЕГИСТРАЦИИ ДВИЖЕНИЙ**

**И.З. Джалагония, А.А. Кондур, Е.В. Бирюкова, Л.Г. Турбина, М.Е. Курганская, П.Д. Бобров, А.А. Фролов, С.В. Котов**

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Разработан новый метод оценки состояния двигательной функции руки человека, основанный на регистрации движений в суставах руки и биомеханическом анализе этих движений. Регистрируются изолированные движения во всех семи степенях свободы руки (две в луче-запястном, две в локтевом и три в плечом суставах) – так называемый кинематический портретс помощью датчиков электромагнитной системы. Кинематический портрет используется для оценки эффективности новой реабилитационной тактики восстановления движений после инсульта, в которой пациент управляет экзоскелетом кисти с помощью интерфейса «мозг-компьютер» (ИМК), основанного на воображении движений кисти. Кинематический портрет как паретичной, так и сохранной рук регистрировался до и после курса 10 процедур ИМК+экзоскелет. Результаты анализа движений постинсультных больных позволяют определить биомеханические параметры движений, наиболее адекватно отражающие ход восстановления двигательной функции: 1) амплитуда и скорость суставных движений; 2) степень изолированности суставных движений; 3) гладкость скорости суставных движений. Эти параметры отражают улучшение общего качества управления паретичной рукой, а также уменьшение спастикипаретичной руки. Разработка нового метода регистрации движений была продиктована нам не только из необходимости подтвердить эффективность новой реабилитационной тактики, но из необходимости предоставить в распоряжение врачей новый способ оценки движений в дополнение к традиционным шкалам, используемым в клинической практике (ARAT, Fugl-Meyer). Эти шкалы по сути являются субъективными и способны оценить лишь наличие или отсутствие определенного движения, но не качество движения. Кинематический портрет даёт максимально подробную, численную оценку движений, необходимую для оценки корректного ведения постинсультных больных.

### **ОНЛАЙН КЛАССИФИКАЦИЯ ВООБРАЖАЕМЫХ ДВИЖЕНИЙ ДЛЯ ИНТЕРФЕЙСА «МОЗГ–КОМПЬЮТЕР»**

**Л.А. Станкевич, Ю.Г. Хоменко, Ж.В. Нагорнова, К.М. Сонькин, А.В. Коваль, Д.С. Перец, Н.В. Шемякина**

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Интерфейс «мозг–компьютер» (ИМК) – современная нейротехнология, предназначенная для обеспечения взаимодействия человека с окружающей средой посредством перевода сигналов мозга в управляющие команды для внешних устройств. Электроэнцефалография (ЭЭГ), будучи неинвазивной и сравнительно дешевой, перспективна для использования в ИМК, однако ограничением ее применения является сложность декодирования и классификации ЭЭГ сигналов в реальном времени. Цель работы – разработка ИМК на основе онлайн-классификации ЭЭГ сигналов, для чего необходимо обеспечить непре-

рывную запись и анализ данных с минимальной временной задержкой. С помощью разработанной системы планируется решение задачи онлайн-классификации воображаемых движений пальцев одной руки, трудно решаемой вследствие незначительных различий в ЭЭГ сигналах. Разработан двухуровневый комитет классификаторов, основанный на искусственных нейронных сетях и методе опорных векторов. Анализ сигналов ЭЭГ производился во временной области. Для обеспечения быстродействия вычисление признаков осуществлялось путем анализа каждой отдельной пробы («single-trial» подход). Использовался алгоритм совместного учета двух пространств признаков: длины и площади под кривой сегментов сигнала, которые вычислялись в скользящем окне. Для обеспечения параллельности приема входных данных и классификации был использован метод многопоточного программирования: поток 1 непрерывно записывает данные в буфер памяти, поток 2 производит автоматическую разметку массива ЭЭГ данных и в моменты времени, соответствующие завершению текущей пробы, выгружает данные из буфера памяти, вычисляет вектора признаков и классифицирует полученные ЭЭГ паттерны. Исследования разработанного ИМК показали, что он может быть использован в онлайн-режиме и обладает удовлетворительной скоростью работы системы классификации и перспективами сокращения временной задержки (на данный момент она не превышает длительности одной пробы – 600 мс). Таким образом, задача онлайн классификации ЭЭГ сигналов, соответствующих воображаемым движениям, может быть решена при удовлетворительных временных задержках работы системы, позволяющих тестировать в контуре разработанного ИМК биологическую обратную связь.

### **МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОМОДУЛЯЦИИ ПОСТУРАЛЬНОЙ И ЛОКОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ НЕИНВАЗИВНОЙ СТИМУЛЯЦИИ СПИННОГО МОЗГА**

**Ю.П. Герасименко**

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

Предложен новый неинвазивный доступ к локомоторным и постуральным спинальным нейронным сетям человека с помощью чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧЭССМ). Показано, что ЧЭССМ поясничного отдела способна инициировать ритмические шагательные движения у здоровых испытуемых-добровольцев и у пациентов с полным моторным поражением спинного мозга в условиях горизонтальной вывески при снятии гравитационной нагрузки (Gerasimenko et al. 2015). Однако при нормальной гравитации, поддержка веса тела и регуляция равновесия, являются обязательным компонентом активных движений. Целью настоящего исследования являлось изучение механизмов регуляции постуральных и локомоторных функций спинного мозга в отсутствие супраспинальных влияний. Исследования проведены на пациентах с полным моторным поражением спинного мозга. На первом этапе проводилась стимуляция спинного мозга, прикладываемая с частотой 30 Гц к шейному и поясничному отделам спинного мозга в положении сидя. На фоне стимуляции пациенты должны были выполнять отклонения туловища в ту или иную сторону по заданному сигналу. После 5 сеансов все пациенты были способны самостоятельно регулировать произвольные движения туловища в положении сидя. Далее стимуляция осуществлялась в положении стоя в специальной раме с поддержкой в области коленных суставов и таза. Было установлено, что ЧЭССМ на уровне L1-L2 с частотой 15 Гц вызывает независимое стояние без внешней поддержки у большинства пациентов. В этих условиях пациенты были способны стоять и смещать центр тяжести в сагитальном и горизонтальном направлении. При дополнительной стимуляции T11-T12 позвонков с частотой 30 Гц, в мышцах ног появлялись всплески ЭМГ активности, напоминающие ходьбу на месте. Предполагается, что стимуляция T11-T12 активизирует локомоторную, а стимуляция L1-L2 активизирует постуральную нейронную сеть. Сочетанное воздействие на эти сети может быть эффективным методом двигательной нейрореабилитации. *Поддержано грантом РФФИ-офи № 16-29-0817316.*

### **ОБОСНОВАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ ДЦП**

**Т.Р. Мошонкина<sup>1,4</sup>, И.Н. Солопова<sup>2,4</sup>, И.А. Сухотина<sup>4</sup>, С.В. Виссаронов<sup>3</sup>, И.Е. Никитюк<sup>3</sup>, Г.А. Икоева<sup>3</sup>, Ю.П. Герасименко<sup>1,4</sup>**

*<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва; <sup>3</sup>Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера МЗ РФ, Санкт-Петербург; <sup>4</sup>ООО «Косима», Москва, Россия*

Детский церебральный паралич (ДЦП) относится к числу распространенных заболеваний, приводящих к существенному нарушению двигательных функций. Для детей с ДЦП характерна аномально высокая спастичность мышц в пораженных конечностях, что приводит к нарушению моторного развития. Нарушенный мышечный контроль обуславливает коактивацию мышц агонистов и антагонистов. Нарушение двигательных функций связано, главным образом, с дефицитом супраспинальных связей. Результаты нейрофизиологических исследований демонстрируют, что, воздействуя на спинной мозг напрямую или через афференты, можно вызывать произвольные движения и управлять ими. Целью работы явилось изучение влияния локомоторных тренировок в сочетании с чрескожной электрической стимуляцией спинного мозга (ЧЭССМ) и функциональной электростимуляцией мышц (ФЭС) нижних конечностей на локомоторные и постуральные функции у детей с тяжелыми формами ДЦП. В исследовании приняли участие дети с диагнозом ДЦП, спастическая диплегия, в возрасте 6–12 лет с уровнем тяжести клинических проявлений по классификации GMFCS около 3. Всем пациентам было проведено 15 получасовых ежедневных сеансов роботизированной механотерапии в локомоторном тренажере. Пациентам основной группы во время каждой локомоторной тренировки проводили ЧЭССМ и/или ФЭС. Пациентам из контрольной группы проводили только локомоторную тренировку. Результаты воздействия определяли по изменениям электромиографической активности мышц, по результатам шкалирования крупных моторных функций (GMFCS-88), по изменениям параметров стабилметрических показателей и т.д. В результате установлено, что комбинация ЧЭССМ и ФЭС в сочетании с локомоторными тренировками способствует корректной патологической системы управления локомоцией и балансом у детей с тяжелыми формами ДЦП, что проявляется в достоверном улучшении локомоторных и постуральных функций.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, грант № 14.576.21.0020 (уникальный идентификатор соглашения RFMEFI57614X0020) и гранта РФФИ № 16-29-0817316.*

**ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ КОРКОВОГО КОНТРОЛЯ ЛОКОМОЦИЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ МЕТОДОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ**И.Б. Козловская<sup>1</sup>, Л.А. Черникова<sup>2</sup>, И.В. Саенко<sup>1</sup>, И.Н. Носикова<sup>1</sup>, И.В. Рукавишников<sup>1</sup>, А.Д. Румшильская<sup>3</sup>, Л.Д. Литвинова<sup>3</sup>, Е.В. Печенкова<sup>3</sup>, В.Е. Синицын<sup>3</sup>, А. ван Омберген<sup>4</sup>, Ф. Уайтс<sup>4</sup>, Е.С. Томиловская<sup>1</sup><sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН; <sup>2</sup>Научный центр неврологии РАН; <sup>3</sup>Лечебно-реабилитационный центр МЗ РФ, Москва Россия; <sup>4</sup>Университет г. Антверпен, Бельгия

Известно, что невесомость глубоко нарушает сенсорное обеспечение систем двигательного управления, изменяя и искажая активность основных афферентных входов – опорных, проприоцептивных и вестибулярных. Это обуславливает невозможность использования в невесомости без серьезных преобразований наземных программ движений. Сохранность способности космонавтов в этих условиях к активной деятельности и выполнению сложных операторских задач обуславливается высокой пластичностью деятельности высших отделов ЦНС – коры головного мозга. Однако до последних лет исследований механизмов и закономерностей вызываемых невесомостью преобразований в деятельности мозговых структур не проводилось в связи с отсутствием необходимых для этого надежных и информативных средств и методов. В настоящее время такие исследования стали возможны в связи с развитием новых высокотехнологичных методов – МРТ, ТМС, навигационная ТМС. В связи со всем сказанным выше в ГНЦ РФ – ИМБП РАН совместно с «Лечебно-реабилитационным центром» Минздрава России и университетом г. Антверпен (Бельгия) были начаты исследования функциональных преобразований в коре головного мозга космонавтов при длительном пребывании в невесомости.

Цель работы составляли исследования особенностей топографических и локомоторных проекций в коре больших полушарий мозга после длительных космических полетов. Ранее в работах сотрудников ИМБП совместно с НЦ неврологии РАН (Л.А. Черникова и соавт., 2013; Е.И. Кремнева и соавт., 2013) были выявлены проекции активности в первичной сенсомоторной коре (зона SM1 симметрично в обоих полушариях, РМС – преимущественно слева) и сенсорной коре (зона IPL в обоих полушариях в количественным преобладанием слева), а также третичной моторной коре (зона DLPFC – в левом полушарии большого мозга), возникающей при механораздражении опорных зон стоп в режиме локомоций (скорость ходьбы 75 и 120 шаг/мин, давление 40 кПа), существенно отличающиеся от «чистых» кожных проекций, т.е. ответов на одиночную стимуляцию опорных зон стоп и близкие таковым при выполнении воображаемой ходьбы (Л.А. Черникова и соавт., 2013).

Протокол исследований включал 6 блоков по 20 секунд стимуляции и покоя, характеристики сканирования соответствовали разработанной Л.А. Черниковой и сотрудниками парадигме (Л.А. Черникова и соавт., 2011). Механическую стимуляцию опорных зон стоп в режиме естественных локомоций (75 шаг/мин) осуществляли с помощью прибора «Корвит» (ООО «ВИТ», Санкт-Петербург); давление на пяточные и предплюсневые зоны стоп составляло 40 кПа. Исследования проводились за 60–90 суток до начала космического полета (КП), а затем после его завершения на 7–8-е сутки и через 180–200 дней. Одновременно проводился контрольный эксперимент с участием группы здоровых добровольцев, обследовавшихся в те же сроки с использованием того же протокола. К настоящему времени в эксперименте приняло участие 8 космонавтов: двое из них полностью завершили экспериментальную программу, двое – участвовали только в послеполетных сессиях (для них будут организованы отставленные фоновые исследования), четверо – выполнили только предполетную часть программы.

Результаты исследований выявили в контрольной группе при стимуляции опорных зон стоп в локомоторном режиме зоны активации, подобные описанным ранее (см. выше) и не изменяющиеся при повторных сканированиях через вышеуказанные временные интервалы. Предварительные данные исследований, выполненных в группе космонавтов на 7-8-е сутки после завершения КП, выявили отчетливые изменения характеристик активации коры головного мозга, не воспроизводимые при сканировании через 180–200 суток: выраженные отчетливо до КП зоны активации после полета у одного космонавта не выявлялись совсем, у другого – были существенно снижены. Полученные данные позволяют предположить, что стереотипные проекции ответов на локомоторные раздражения после полета размываются в связи с вовлечением более широких областей на этапе локомоторного переобучения. Это предположение находит подтверждение в данных исследований, проведенных через 6 месяцев после завершения КП, в которых картина активации коры головного мозга вновь аналогична таковой в контрольной группе. *Исследование поддержано грантом РНФ №14-25-00167.*

**ЗАВИСИМОСТЬ ПАТТЕРНОВ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И СПЕКТРАЛЬНО-КОГЕРЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭЭГ ОТ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ЗАДАЧ, СВЯЗАННЫХ С АКТИВАЦИЕЙ МЕЖКОНЕЧНОСТНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ, У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ И ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА**

В.А. Селионов, И.А. Солопова, Д.С. Жванский

Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

На модернизированном аппаратно-программном комплексе, предназначенном для восстановления двигательных функций, у здоровых испытуемых и у пациентов после инсульта в положении лежа регистрировали активность мышц рук и ног при совершении ими отдельных и совместных циклических движений при различных условиях выполнения двигательной задачи. Для оценки влияния движений рук с различными двигательными синергиями на возбудимость нейронов, составляющих генератор шагания, оценивали величину Н-рефлекса камбаловидной мышцы. Методом ЭЭГ-анализа исследовали активность зон коры, участвующих в управлении движениями. Показано, что у здоровых испытуемых наиболее сильное влияние с рук на ноги проявлялось при движениях рук и ног с фазовыми соотношениями, присущими естественной локомоции, в то время как у больных после инсульта активация мышц рук и ног не зависела от фазовых соотношений между движениями конечностей. При движениях нагруженных верхних конечностей влияние с рук на ноги существенно возрастало. При совместных движениях рук и ног движения как проксимальных звеньев верхних конечностей, так и их дистальных отделов вносили существенный вклад в паттерны шагательных движений ног. Показана эффективность вовлечения в движения дистальных отделов рук в процесс двигательной реабилитации пациентов после инсульта. Движения дистальных отделов рук повышали величину Н-рефлексов по сравнению с произвольными движениями рук. У здоровых испытуемых при выполнении сочетанных движений рук и ног на фоне выраженной альфа-активности наблюдалось минимальное количество когерентных связей, а у пациентов после инсульта межполушарная когерентность была повышена. Выполнение двигательной задачи на фоне программы виртуальной реальности (ВР) у здоровых испытуемых не приводило к изменению внутриполу-

шарных и межполушарных взаимодействий. У больных до реабилитации добавление ВР повышало внутрислошарную и межполушарную когерентности в альфа и бета 1 диапазонах. После реабилитации у пациентов наблюдалась нормализация корковой ритмики, уменьшение межполушарных и внутрислошарных когерентных взаимодействий. Включение ВР в процесс реабилитации в дополнение к механотерапии и функциональной миостимуляции выявило преимущества ее применения в восстановлении двигательных функций. *Работа осуществлялась при поддержке РФФИ № 16-29-08181.*

**ФМРТ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА КАК ОСНОВЫ КОМПЕНСАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

**Е.В. Шарова<sup>1</sup>, Г.Н. Болдырева<sup>1</sup>, Л.А. Жаворонкова<sup>1</sup>, М.В. Челябинна<sup>1</sup>, А.А. Смирнов<sup>2</sup>, А.А. Азаров<sup>3</sup>, Е.В. Александрова<sup>2</sup>, Е.М. Трошина<sup>2</sup>, Т.С. Мухина<sup>4</sup>, Э.Л. Погосбемян<sup>2</sup>, Э.А. Змейкина<sup>5</sup>, И.Н. Пронин<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко" Минздрава РФ; <sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; <sup>4</sup>Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; <sup>5</sup>Научный центр неврологии, Москва, Россия

Тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ) практически всегда сопровождается двигательными расстройствами. Наши предыдущие фМРТ исследования здоровых людей показали, 1) что наиболее универсальной двигательной пробой для нормы и церебральной патологии с воспроизводимыми и локальными ответами является сжатие пальцев руки в кулак; 2) топографическое сходство основных зон корковой активации при активном и пассивном (с помощью экспериментатора) выполнении этого движения позволяет рекомендовать пассивную парадигму для оценки центральной регуляции двигательной сферы при самых грубых двигательных расстройствах и угнетении сознания. В данной работе исследовали особенности функциональной нейроанатомии пассивных движений руки при разной степени гемипареза, обусловленного ТЧМТ.

Основную группу наблюдений составили 26 пациентов с ТЧМТ, группу контроля – 17 здоровых испытуемых. Анализировали фМРТ ответы при пассивном сжатии-разжатии пальцев в кулак правой руки с закрытыми глазами. ФМРТ 3Т изображения получали на МР-томографе GE Healthcare и обрабатывали по программе SPM8 в среде MATLAB 7.0. Определяли пространственное расположение активированных зон мозга и их объем.

Установлено, что при ТЧМТ в большинстве наблюдений без гемипареза или с легкой его степенью нейроанатомия “пассивного” двигательного фМРТ ответа близка к нормальному. Вместе с тем, даже в этих выборках, а особенно при наличии умеренного гемипареза, мы наблюдали и более диффузный ответ с активацией неспецифичных по отношению к нагрузке отделов мозга, таких как височная кора или червь мозжечка. Сопоставление вариантов функциональной анатомии пассивного движения при ТЧМТ с топографической анатомией двигательной системы свидетельствует о вариативности механизмов компенсации двигательных расстройств на основе возможного включения разных “функциональных дублеров” обеспечения этой функции. Сформулирована гипотеза о том, что роль таких “дублеров” могут играть лобно-мостовой и теменно-височно-затылочный двигательные тракты. Она находит подтверждение при сравнительном анализе функциональных связей (brain connectivity) в пределах разных нейроанатомических двигательных трактов у здоровых людей и пациентов с ТЧМТ.

*Поддержано Грантами РГНФ №15-36-01038 и РФФИ №16-29-08304 офи -м.*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МЕЖ- И ВНУТРИПОЛУШАРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ (ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ КОННЕКТИВНОСТИ) МОТОРНЫХ ЗОН ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО ЭКСОСКЕЛЕТОННОГО КОМПЛЕКСА В НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ**

**И.В. Саенко<sup>2</sup>, С.Н. Морозова<sup>1</sup>, Э.А. Змейкина<sup>1</sup>, Р.Н. Коновалов<sup>1</sup>, А.В. Червяков<sup>1</sup>, А.Г. Пойдашева<sup>1</sup>, Л.А. Черникова<sup>1</sup>, Н.А. Супонева<sup>1</sup>, И.Б.Козловская<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Научный центр неврологии, <sup>2</sup>ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Изучение кортикальной организации функция ходьбы представляет особый интерес. В НИЦ совместно с ИМБП была разработана и апробирована оригинальная пассивная сенсомоторная парадигма, осуществляемая с помощью механического стимулятора опорных зон стопы, имитирующего процессы стояния и ходьбы, которая позволила выявить области мозга, активируемые при ходьбе и оценить динамику функциональной реорганизации этих зон в ходе реабилитационных мероприятий с использованием мультимодального экзоскелетонного комплекса. Но не менее важной задачей является изучение взаимоотношения между этими областями мозга (коннективности) и изменения этих связей при различных условиях. В ряде исследований показано, что повреждение мозга приводит к нарушению этих взаимосвязей даже между областями, расположенными вне зоны поражения, и что восстановление функций коррелирует с изменениями этих функциональных связей. Функциональная коннективность представляет собой неориентированную взаимосвязь между двумя и более временными зонами активности, выявляемыми при фМРТ исследовании (фактическими соответствиями или физиологическими переменными) и дает возможность высказать предположение о видах взаимодействий (возбуждающими или угнетающими) между этими регионами.

В данном исследовании изучалось влияние курсового применения мультимодального экзоскелетонного комплекса (МЭК) на изменение функциональной коннективности областей мозга, ответственных за корковый контроль локомоции, у 14 больных с постинсультными гемипарезами, в основном, в хронической стадии заболевания. Впервые было показано, что применение МЭК приводит не только к реорганизации моторных структур, участвующих в контроле локомоции, но и к изменению межполушарных и внутрислошарных функциональных связей между этими структурами. После курса применения МЭК определялось снижение зон активации в нижних теменных долях, особенно в здоровом полушарии, и чрезмерное увеличение активации в первичной сенсомоторной и дополнительной области. Такая динамика фМРТ данных расценивается как положительная динамика реорганизационных процессов при улучшении временных характеристик ходьбы (увеличение скорости ходьбы). Дополнительный анализ функциональной коннективности, проведенный до и после курса проведения МЭК, позволил высказать предположение, что в основе этой положительной реорганизации лежит уменьшение возбуждающих взаимовлияний между вторичными ассоциативными областями (нижними теменными долями правого и левого полушария) и уменьшение угнетающего влияния между нижней теменной долей и первичной сенсомоторной областью в пораженном полушарии.

**ФИЗИЧЕСКИЕ НАГРУЗКИ И ОКСИДАНТ-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

**А.М. Гаджиев, С.А. Алиев, С.Э. Агаева** *Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Государственная академия физической культуры и спорта, Баку, Азербайджан*

Работа посвящена изучению реакций эндогенных оксидантов и антиоксидантов скелетных мышц на физические нагрузки, анализу их адаптационных особенностей, а также их модификаций на фоне экзогенных антиоксидантов. Анализ многочисленных данных литературы и собственных результатов показывает, что основным источником повышения уровня активных форм кислорода и других свободных радикалов в организме под действием физической нагрузки являются скелетные мышцы. Большая часть супероксидных радикалов образуется в электрон-транспортной цепи митохондрий скелетных мышц, и усиление их продукции при мышечной деятельности зависит от характера работы, соответственно, от скоростных качеств работающих мышц. Адаптация к интенсивной мышечной деятельности в скелетных мышцах сопровождается адаптивными изменениями эндогенных антиоксидантов, в особенности, ферментных – супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы. Ферментная антиоксидантная адаптация зависит от характера применяемой нагрузки (мощности работы, цикличности), скоростного типа скелетных мышц, субклеточной принадлежности фермента. В эксперименте (на крысах) показано, что у животных с диетой витамина С наблюдается более высокий базовый уровень общей антиоксидантной активности в плазме крови и в скелетной мышце. При этом адаптивная реакция на физическую нагрузку в скелетной мышце ослабевает, а в плазме, наоборот, начинает проявляться. Положительные эффекты регулярных тренировочных нагрузок на фоне приема антиоксидантных добавок (в нашем случае витаминов С и Е) могут быть ослаблены, что отражается на усилении «оксидантных» и снижении «антиоксидантных» ответных реакций на острые физические нагрузки. Это указывает на то, что адаптация эндогенной системы антиоксидантной защиты к физическим нагрузкам может быть модифицирована (возможно, не всегда целесообразно) с помощью экзогенных антиоксидантов. На основе результатов проведенных исследований можно сделать вывод, что при использовании таких оксидантных, как уровень перекисного окисления липидов, и антиоксидантных, как активности ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, показателей (или же соответствующих им показателей крови) для разработки критериев оценки уровня физической подготовленности организма необходимо учитывать скоростные типы выполняемых спортивных упражнений.

**О ВОЗМОЖНОСТИ МОДЕЛИРОВАНИЯ НА ЖИВОТНЫХ ПАРКИНСОНОВСКОГО ТРЕМОРА С ПОМОЩЬЮ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ТРЕМОРОГЕННЫХ АГЕНТОВ (РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ВЗГЛЯД)**

**Ю.В. Лупандин** *Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

Привлекательность применения треморогенных агентов для моделирования на животных паркинсонического тремора сильно ограничена из-за отсутствия строгого разделения моделей на патологический и физиологический типы тремора. Между тем имеющийся метод отведения активности отдельных двигательных единиц (ДЕ) в пределах мотонейронного пула (МП) позволяет точно проанализировать структуру ЭМГ (Р.С. Персон, 1976). Паркинсонический тремор у человека характеризуется дуплетным режимом работы с частотой дуплетов около пяти в секунду (В.С. Гурфинкель, 1965), тогда как у здорового человека при поддержании позного тонуса разряды ДЕ протекают асинхронно с частотой 4–12 имп/с в независимом в пределах МП режиме. Для исследований мы выбрали три модели тремора предположительно по описанию представлявших возможный интерес в нашем поиске. 1. Пирогеналовый тремор как компонент лихорадочной реакции (пирогенал, 50 МПД/кг в/в). 2. Тубокурариновый тремор, возникающий от введения тубокурарина в третий желудочек мозга (50 мкг/кг; объем 0,2 мл). 3. Каудатный тремор - от введения оксотреморина в головку хвостатого ядра по 15 мкг в объеме по 10 мкл билатерально. Исследования проводили на кошках под хлоралозо-уретановым наркозом с премедикацией метацином. Для сравнительной оценки был избран холодовый тремор, который является аналогом физиологического постурального тремора. Исследования показали, что все три модели тремора имели признаки, сближающие их с холодовым тремором: одинаковая ЭМГ картина, вовлечение в активность мышц туловища и сгибателей конечностей. Функция ДЕ во время пирогеналового, тубокураринового и каудатного тремора как и во время холодового характеризовалась частотой разрядов в пределах 4–12 имп/с с вариабельностью межимпульсных интервалов ДЕ в пределах 8–40 мс. Подавляющее большинство ДЕ во время указанных видов тремора функционировало асинхронно, в независимом режиме. Таким образом, во всех исследованных видах тремора мы наблюдали единообразный процесс в виде физиологического постурального тремора. Возможно, что неудачные попытки воспроизведения фармакологических моделей, пригодных для получения мышечного феномена с признаками паркинсонического тремора обусловлены трудностями внесения «поломки» в доминирующую интраспинальную программу поддержания постуральной мышечной активности со всеми признаками физиологического тремора.

**ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ СИСТЕМ ФАЦИАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ У БЕЛОЙ МЫШИ**

**И.В. Проничев, Е.А. Мокрушина, Н.А. Худякова, С.А. Есаков**  
*Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия*

Формирование функционального комплекса лицевых мышц у млекопитающих приводит к установлению сложных взаимоотношений между отдельными его элементами. Эти взаимоотношения выражаются в чрезвычайном разнообразии лицевой мускулатуры в пределах не только крупных, но и мелких таксонов класса. Несомненно, что вместе с развитием и усложнением лицевой мускулатуры формировались и новые центральные системы управления данными мышцами. Однако сегодня очевидна слабая изученность этих систем. Проведенное нами исследование позволило выявить организацию двух основных систем регуляции активности лицевой мускулатуры – кортико- и тектофациальной. В ходе исследования показаны принципиальные отличия в организации и функционировании кортикофациальных и кортикоспинальных связей, что позволяет говорить о разных источниках формирования нисходящих путей. Показано четкое разделение функций двух систем регуляции активности лицевой мускулатуры, несмотря на общность данных систем на низших звеньях их структурной организации. Показана гетерохрония в созревании кортико- и тектофациальной систем в ходе раннего постнатального онтогенеза. Проведенное исследование позволило составить схему основных структур и путей, участвующих в регуляции активности лицевой мускулатуры.



**НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАДИАЦИОННОГО РИСКА ПРИ ПИЛОТИРУЕМЫХ МЕЖПЛАНЕТНЫХ ПОЛЕТАХ**

А.И. Григорьев<sup>1</sup>, Е.А. Красавин<sup>2</sup>, М.А. Островский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва; <sup>2</sup>Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Для оценки риска радиационного воздействия на экипажи кораблей при полетах в дальний космос используется обобщенный дозиметрический функционал в качестве критерия и количественной меры опасности космических видов излучений. Обобщенная доза включает величины, вызывающие *ближайшие и отдаленные* эффекты облучения. Учитывается, что ближайшие эффекты радиационного воздействия развиваются во время полета, в то время как отдаленные – в течение дальнейшей жизни космонавтов. При расчете величин доз, вызывающих радиационно-индуцированные эффекты, вводятся коэффициенты, отражающие влияние на радиобиологический эффект ряда факторов. К ним относятся: фактор качества излучения (включающий протоны и тяжелые заряженные частицы различных энергий), коэффициенты, учитывающие распределение дозы во времени облучения и по телу человека, влияние факторов космического полета, модифицирующих лучевые реакции организма. В качестве непосредственных эффектов действия излучений принимаются, прежде всего, нарушения кроветворения, повреждение кожных покровов, а также ряда других органов и тканей организма. В отдаленный период среди основных неблагоприятных последствий радиационного воздействия при межпланетных полетах рассматривается, прежде всего, **риск возникновения злокачественных опухолей**.

Вместе с тем, при анализе радиобиологических эффектов космических видов излучений следует иметь в виду наличие тяжелых заряженных частиц в составе галактических космических лучей (ГКЛ), обладающих высокой биологической эффективностью. Специфический характер передачи энергии тяжелыми ионами («эффект пули») при прохождении через ткани обуславливает совершенно иной тип радиационного воздействия ГКЛ на организм в условиях полета в дальнем космосе. Это обстоятельство может определять развитие радиационных синдромов, принципиально отличных от наблюдаемых при действии редкоизионизирующих космических излучений (например, протонов высоких энергий), что необходимо учитывать при оценке радиационного риска для космонавтов в условиях полета вне магнитосферы Земли. С учетом этого необходимо иметь в виду возможное формирование нарушений со стороны центральной нервной системы космонавтов, которые могут вызвать нарушения **операторской деятельности экипажа уже во время полета**. Такой вывод подтверждается в экспериментах по облучению лабораторных животных высокоэнергетичными ионами железа в дозах, соответствующих реальным потокам галактических ядер железа при полете к Марсу. В этих опытах выявляются различные нарушения со стороны центральной нервной системы (ЦНС) (Rabin et al., 2004; Britten 2012; Parihar V.K et al., 2015). Через 1,5 - 3 месяца после облучения они проявляются в выраженных нарушениях пространственной ориентации, угнетении когнитивных функций. Авторы связывают эти нарушения не только с гибелью нейронов (прежде всего, гиппокампа, как наиболее уязвимой в этом случае структуры ЦНС), но и с повреждением механизмов синаптической передачи. Об этом же свидетельствуют данные о снижении уровня ряда нейромедиаторов в различных отделах мозга и наличие поведенческих расстройств у грызунов после облучения ионами углерода (Штемберг А.С. и др., 2015). В наших экспериментах по облучению приматов (*Macaca mulatta*) ионами углерода с энергией 500 МэВ/нуклон в дозе 1 Гр выявлено достоверное снижение когнитивных функций и концентрации метаболитов (в частности, серотонина) у животных возбудимого неуравновешенного типа высшей нервной деятельности (Belyaeva et al., 2015).

Свидетельства о развитии радиационных синдромов при действии тяжелых заряженных частиц на структуры головного мозга, и приводящих к нарушениям его интегративной целостности, дают основания рассматривать ЦНС как «критическую» систему при оценке риска радиационного воздействия на организм космонавтов при осуществлении межпланетных полетов. С учетом этого, для оценки радиационного риска при пилотируемых межпланетных полетах была предложена (А.И. Григорьев, Е.А. Красавин, М.А. Островский, 2015) концепция «вероятности успешного выполнения миссии». Новой стратегией при планировании дальнейших экспериментальных работ по моделированию биологического действия космических видов радиации и по оценке риска их повреждающего воздействия в условиях пилотируемых межпланетных полетов является организация комплексных нейро-радиобиологических исследований по влиянию тяжелых заряженных частиц на ЦНС.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ОСНОВНЫХ ЭЛЕКТРОЛИТОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СВЕРХДЛИТЕЛЬНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА**

И.А. Ничипорук, Г.Ю. Васильева, Б.В. Моруков

ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Результаты изучения метаболизма основных электролитов в уникальном эксперименте с 370-суточной антиортостатической гипокинезией (АНОГ) при их широком освещении в печати [А.И. Grigoriev, B.V. Morukov, 1989; D. Chappard, C. Alexandre, L. Vico, B. Morukov, 1989; O.I. Orlov, A.I. Grigoriev, B.V. Morukov, 1989; Grigoriev A.I., Morukov B.V., Oganov V.S., Rakhmanov A.S., Buravkova L.B., 1992; Моруков Б.В., 1999] были недостаточно полно проанализированы для выявления вклада отдельных компонентов комплексной профилактики (применение физических тренировок, назначение бисфосфонатов, обогащение рациона) в предупреждение неблагоприятных изменений метаболизма основных электролитов, развития остеопороза и гипотрофии опорной мускулатуры. Для решения этой задачи был проведен углубленный статистический анализ первичных экспериментальных данных динамики концентрации в крови, потребления с рационом и баланса основных электролитов, оказывающих выраженное влияние на состояние опорно-двигательного аппарата и минеральную плотность костной ткани в организме здорового человека. Результаты анализа показали, что режим физических тренировок (ФТ) имел наибольшую эффективность для предупреждения развития отрицательного баланса калия преимущественно на начальном этапе АНОГ и только комплексная профилактика (ФТ и пищевые добавки) позволяла снизить потери иона на 27–32%. Динамика баланса фосфора существенно зависела от сохранности мышечной массы, а его потери в значительной мере определялись исходным ее объемом. Динамика баланса кальция свидетельствует, во-первых, о безусловной эффективности комплексной профилактики (бисфосфонаты, ФТ и пищевые добавки) для минимизации потерь электролита в длительной АНОГ, а, во-вторых – о возможной стабилизации уровня потерь кальция только с помощью ФТ, сочетающих силовые и комплексные упражнения повышенной интенсивности. Полученные результаты легли в основу подготовки и проведения космическо-

го эксперимента «Коррекция», направленного на выявление особенностей метаболизма костной ткани на разных этапах полотируемых экспедиций, что в дальнейшем позволит разработать стратегию адекватного применения профилактических мероприятий в сверхдлительных полотируемых космических полетах, включая межпланетные.

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ УЧАСТНИЦ ЭКСПЕРИМЕНТА С 8-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИЕЙ В ГЕРМООБЪЕМЕ «ЛУНА 2015»**

**А.А. Маркин, О.А. Журавлева, Д.С. Кузичкин, И.В. Заболотская, С.А. Пономарев, М.И. Колотева, Л.В. Вострикова**  
*ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

В восьмисуточном эксперименте «Луна 2015», имитировавшем облет Луны и изучавшем механизмы адаптации женского организма к условиям изоляции в гермообъекте при межпланетных перелетах, у шести участниц в возрасте от 25 до 34 лет измеряли значения 42 биохимических показателей, характеризовавших состояние органов и тканей, а также основных путей обмена веществ. Венозную кровь отбирали за 25 суток до начала изоляции, через час после вращения (+Gz, 2G, 21 минута) на центрифуге короткого радиуса (ЦКР) перед началом изоляции, на 5 сутки изоляции, сразу после ее окончания и через час после вращения на ЦКР (+Gz, 2G, 30 минут) по окончании изоляции. После первого вращения на ЦКР наблюдались признаки выраженной стресс-реакции: достоверно увеличивалась концентрация глюкозы, бета-гидроксипутирата (ГОВТ), бикарбоната (БКБ), за счет мышечного изофермента повышалась активность креатинфосфокиназы (КФК). На пятые сутки изоляции, напротив, отмечались слабо выраженные признаки гиподинамии – умеренно снижалась концентрация глюкозы, альбумина, кальция и хлоридов, активность холинэстеразы и ЛДГ; повышалась активность липазы, концентрация магния и фосфора. По завершении изоляции значения большинства показателей достоверно не отличались от фоновых величин. После вращения на центрифуге наблюдались изменения, сходные с предыдущим гипергравитационным воздействием (ГВ), но менее выраженные и не по всем показателям – значения активности КФК и его мышечного изофермента, концентрации ГОВТ не отличались от фоновых, а уровень БКБ снижался, что может быть связано как с эффектом гиподинамии, так и с развитием тренированности к ГВ. Таким образом, ГВ на ЦКР приводит к развитию стресс-реакции, характеризующейся повышением в крови уровня глюкозы, холестерина, повышением активности КФК. Нахождение в условиях гермообъема даже в течение ограниченного времени приводит к появлению метаболических признаков гиподинамии, которые быстро нивелируются по завершении этого воздействия.

**ВЛИЯНИЕ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ НА СЕНСОМОТОРНУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ЦНС**  
**И.В. Саенко, Е.С. Томиловская, И.Б. Козловская**

*ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

Уже в начале 60-х годов началось систематическое исследование физиологических эффектов иммерсии с целью определения близости оказываемых ею влияний эффектам невесомости [Газенко О.Г., Григорьян Р.А., 1965; Генин А.М., Пестов И.Д., 1997]. При этом было показано, что иммерсия аккуратно воспроизводит в организме человека двигательные [Овсянников А.В.], сердечно-сосудистые [Шульженко Е.Б., Виль-Вильяме И.Ф., 1976] и другие обуславливаемые невесомостью изменения физиологических функций. В дополнение к гипокинетическим эффектам (снижению двигательной активности) и к изменению гемодинамики в условиях «сухой» иммерсии воспроизводятся и другие важные аспекты космического полета: снижение весовых нагрузок, уменьшение активности проприоцептивного входа, устранение опоры. Использование этой модели микрогравитации позволило в пестрой картине «синдрома микрогравитации» выделить реакции, нарушающие гомеостаз и способствующие его сохранению, корректно описать направленность и динамику развития адаптационных изменений, а также определить наиболее эффективные подходы неблагоприятных влияний факторов невесомости на организм человека [Козловская И.Б., 2008; Томиловская Е.С., 2013].

Опыт 40-летнего использования данного метода позволил выделить две принципиально важные стадии развития изменений в организме человека в условиях «сухой» иммерсии. Первая стадия – это стадия острых эффектов, которая длится до 12-часов от момента погружения человека в иммерсионную среду. Воздействия свыше 12-ти часов вызывают изменения в деятельности организма, сравнимые с изменениями в реальных космических полетах. Начальные (острые) ответы организма на воздействие «сухой» иммерсии индуцируются снятием весовых нагрузок, резким снижением активности опорной рецепции и увеличением гидростатического давления. Устранение опорной афферентации ведет к значительному снижению (торможению) активности экстензорных тонических мотонейронов, обуславливая снижение мышечного тонуса [Гевлич Г. И., 1983; Miller, I. Sayenko, I. Kozlovskaya et al. 2004].

Накопленные знания позволили начать работу по активному внедрению метода «сухой» иммерсии в клиническую практику. Проведенные исследования в МНПЦ реабилитации инвалидов по изучению эффектов метода «сухой» иммерсии в комплексной реабилитации двигательных нарушений у детей со спастическими формами церебрального паралича (42 пациента) показали, что данный метод является базовым компонентом для комплексной реабилитации больных с ДЦП. Использование технологии «сухая иммерсия» в практике реабилитации больных со спастическим синдромом приводит к снижению мышечного тонуса, что в свою очередь способствует увеличению объемов пассивных движений, регрессу патологических поз. Это в значительной степени облегчает проведение комплексной целенаправленной тренировки, направленной на выработку новых «правильных» механизмов поддержания вертикальной позы и ходьбы.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТРАНСФОРМАЦИИ МЕДЛЕННЫХ ВОЛОКОН ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ В БЫСТРЫЕ ПРИ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ**

**Б.С. Шенкман, Ю.Н. Ломоносова, Н.А. Вильчинская, К.А. Любимова, К.Г. Птицын**  
*ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

В условиях реальной или моделируемой микрогравитации в постуральной мышце наблюдается снижение экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина медленного типа (ТЦМ I $\beta$ ), что в дальнейшем способствует превращению части медленных волокон в быстрые. Это наблюдается уже после 24 часов разгрузки - антиортостатического вывешивания крыс. Это сниже-

ние может быть связано с действием гистондеацетилаз, проникающих в миоцеллу при снижении уровня фосфорилирования ряда протеинкиназ, в частности, АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК). После 24-часового вывешивания в *m. Soleus* снижение содержания фосфорилированной АМПК составило более 50%. Это снижение удалось предотвратить, применив предобработку животных инъекциями АICAR (активатора АМПК). При этом у животных, предобработанных АICAR, не наблюдали снижения экспрессии мРНК ТЦМ Iβ. Можно полагать, что дефосфорилирование АМПК в первые сутки разгрузки, способствует снижению экспрессии медленной изоформы миозина и, соответственно, превращению части медленных волокон в быстрые. Другой сигнальный путь кальцинейрин/ NFATc1 обеспечивает повышение экспрессии ТЦМ Iβ в результате дефосфорилирования NFAT, что позволяет молекулам NFAT войти в ядро и активировать экспрессию данного гена. Вероятно, во время разгрузки происходит блокирование этого сигнального пути посредством активации его естественных ингибиторов – кальсарцина II (CSII) и GSK3β. Уже после трех дней вывешивания содержание мРНК CSII в *m. soleus* повысилось вдвое в сравнении с контролем. После 3 и 7 дней разгрузки наблюдалось уменьшение содержания фосфорилированного GSK3β в ядерной фракции *m. soleus*, что способствует изгнанию NFATc1 из ядер и снижению экспрессии ТЦМ Iβ. Активность GSK3β может быть подавлена оксидом азота (NO). В течение 7-дней на фоне вывешивания крысам вводили L-аргинин, активатор NO-синтазы. При введении L-аргинина не обнаружено уменьшения уровня фосфорилирования GSK3β и снижения содержания мРНК ТЦМ Iβ, в отличие от контрольной группы. По-видимому, повышение уровня NO препятствует ингибиторной активности GSK3β и предотвращает снижение уровня экспрессии медленного миозина. Таким образом, снижение уровня NO, происходящее при разгрузке, вносит вклад в трансформацию мышечных волокон из медленных в быстрые. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда №14-15-00358.*

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛОКОМОТОРНЫХ ДВИЖЕНИЙ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ Пониженной гравитационной нагрузки на опорно-двигательный аппарат человека**

**А.В. Шпаков<sup>1</sup>, А.В. Воронов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>НИИ космической медицины ФМБА РФ, Москва; <sup>2</sup>ФНЦ физической культуры и спорта, Москва, Россия

Цель исследования – определение роли снижения гравитационной нагрузки на опорно-двигательный аппарат (ОДА) человека в регуляции локомоторных функций применительно к пребыванию в условиях гипогравитации. Методика. В исследовании приняли участие 24 добровольца: 15 мужчин и 9 женщин. Биомеханические параметры ходьбы регистрировали с использованием системы видеоанализа движений «Biosoft-Videmotion3D». Динамические параметры и опорные реакции регистрировали тензометрическими платформами «Kistler», интегрированными под полотно беговой дорожки «Н/Р/Cosmos Mercury». Испытатели выполняли локомоторный тест – ходьбу на беговой дорожке в темпе 90 шагов/минуту при различных условиях гравитационной нагрузки на ОДА: 100% веса тела испытателя (ходьба-1G); 38% веса тела испытателя (ходьба – 0,38G), характерной для нахождения человека на поверхности Марса; 16% веса тела испытателя (ходьба-0,16G), характерной для нахождения человека на поверхности Луны. Изменение нагрузки на ОДА производили путём вертикального вывешивания с использованием системы «Н/Р/Cosmos-Airwalk». Анализировали углы в суставах ног, ЭМГ-активность мышц ног, временные параметры двойного шага (ДШ), величины опорных реакций. Результаты. По сравнению с нормальной ходьбой при ходьбе в условиях измененной нагрузки на ОДА изменялась как амплитуда ЭМГ, так и периоды максимальной активности ЭМГ в цикле ДШ. При ходьбе-1G максимальную амплитуду *M. gastrocnemius medialis* и *M. soleus* регистрировали на 50–55% времени ДШ, при ходьбе – 0,38G и ходьбе – 0,16G на 35–40% и 25–30% соответственно. Длина и время ДШ, время двухопорного периода при ходьбе – 0,38G и ходьбе – 0,16G уменьшались в сравнении с ходьбой-1G, изменялось соотношение опорного и безопорного периодов ДШ. В тазобедренном суставе значительно увеличивался угол при постановке стопы на опору и уменьшался во время отталкивания. В коленном суставе уменьшался угол во время отталкивания и во время одноопорного положения. Максимальное сгибание коленного сустава при ходьбе – 0,38G и 0,16G происходило на 60–65% времени ДШ, при ходьбе-1G на 75–78%. В голеностопном суставе были выявлены аналогичные изменения: уменьшение угла во время отталкивания и при постановке стопы на опору, а также уменьшение амплитуды угла в цикле ДШ. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60070.*

### **КИНЕТИКА НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ВО ВРЕМЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ НИЗКОЧАСТОТНОЙ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА**

**Ю.А. Коряк<sup>1</sup>, Г.И. Падалка<sup>2</sup>, С.В. Авдеев<sup>3</sup>, О.Г. Артемьев<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва; <sup>2</sup>НИИ ЦПК им. Ю.А. Гагарина, Звездный городок; <sup>3</sup>ОАО РКК «Энергия», Королев, Россия

Нейромышечная электрическая стимуляция (ЭСТ) используется, чтобы увеличить функции мышц (Коц, Хвилон, 1971; Namid, Науек, 2008) и их восстановление (Lattier et al., 2004), для диагностики нервно-мышечных нарушений (Blok et al., 2007) и утомляемости (Millet et al., 2011). Известно, что в условиях опорной разгрузки снижается активность медленных мышц, обеспечивающих реализацию позных компонентов движения (Kozlovskaya et al., 1988), эластические свойства (Heerkens et al., 1986) и жесткость сухожилия мышц (Maganaris et al., 2006). Между началом ЭМГ мышцы и развитием напряжения существует электромеханическая задержка – ЭМЗ (Cavanagh, Komi, 1979) и обнаружена связь между ЭМЗ и иммобилизацией (Kubo et al., 2000), максимальной произвольной силой и скоростью развития силы (Bell, Jacobs, 1986). Это указывает, что короткое время ЭМЗ имеют мышцы, содержащие высокий процент быстросокращающихся волокон, большую силу и скорость развития сокращения, и более жесткую эластическую компоненту. Физическая тренировка в условиях космического полета (КП) уменьшает, но полностью не предотвращает потерю функций и массы мышц (Когук, 1998; Kawakami et al., 2001). В контексте этого исследования ЭСТ могла быть одним из средств тренировки медленных мышечных волокон в условиях КП. Целью исследования было определить эффективность продолжительной ЭСТ в условиях КП на функцию и ЭМЗ трехглавой мышцы голени (ТМГ). ЭСТ выполнялась с использованием стимулятора «Стимул НЧ-01» генерирующего импульсы длительностью 1 мс, частотой 25 имп/с, амплитудой 40 В в режиме 1 с сокращение, 2 с пауза. Исследование выполнено за 30 дней до и на 3-5 сутки после КП. Определяли максимальную произвольную силу, максимальную силу, градиент произвольного и вызванного сокращения, силовой дефицит. ЭМЗ определяли по времени между световым

сигналом и началом развития *взрывного* сокращения ТМГ. После КП функции ТМГ уменьшились в меньшей степени по сравнению с исходными показателями, но ЭМЗ увеличилась более чем на 30 %. ЭСТ увеличивает поток проприорецептивной афферентации, повышая центральную роль (Мартыанов, Коряк, 1973; Nozaki et al., 2003; Khaslavskaja, Sinkjaer, 2005; Collins, 2007) в поддержании и/или нормализации активности систем управления произвольными движениями по принципу обратной связи (Бернштейн, 1966).

### **ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА ПЕРЕГРУЗОК +GZ**

**О.А. Журавлева, А.А. Маркин, Д.С. Кузичкин, И.В. Заболотская, М.И. Колотева, Л.В. Вострикова**

ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Приоритетной задачей космической медицины является изучение влияния гравитации на человека. Под действием различных по силе и длительности инерционных сил изменяются функции организма, в основе чего лежат механизмы, связанные с метаболическими перестройками в ответ на действие гравитационного фактора. Целью работы является анализ гендерных различий биохимических показателей крови при действии на организм человека перегрузок. В исследовании участвовали шесть мужчин и шесть женщин в возрасте от 23 до 35 лет, прошедших медицинский отбор. Протокол эксперимента утвержден комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ ИМБП РАН. Испытуемые дважды с перерывом в двое суток подвергались вращению на центрифуге короткого радиуса с воздействием перегрузок «голова-таз» силой 2 g на уровне стоп без учета земной гравитации. Длительность первого вращения составляла 21 минуту, второго – 30 минут. Взятие крови осуществлялось за 25 суток до начала эксперимента и спустя 1 час после его окончания. В сыворотке крови измеряли значения 42 биохимических показателей, характеризующих основные пути обмена веществ. После воздействия перегрузок +Gz выявлены статистически достоверные гендерные различия. Активность щелочной фосфатазы у женщин снижалась на 13 %, а у мужчин – на 6 %. Уровень холестерина липопротеидов низкой плотности у женщин увеличивался на 19 %, у мужчин на 7 %. Концентрация мочевины у мужчин возрастала на величину, вдвое большую, чем у женщин. Содержание сывороточного железа у женщин снижалось в 3 раза, а у мужчин только на 15 %. Кроме того, отмечалось разнонаправленное изменение концентрации холестерина и бикарбонатов в крови. У женщин уровень увеличивался на 6 и 7 % соответственно, у мужчин, наоборот, снижался на величины того же порядка. Некоторые из полученных данных могут быть объяснены физиологическими гендерными особенностями, однако в целом подобные изменения требуют комплексного подхода к их изучению в пилотируемых космических полетах и при наземном моделировании перегрузок.

### **ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ ПОЛОСТИ РТА В УСЛОВИЯХ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ**

**В.К. Ильин, З.О. Соловьева, М.А. Скедина, А.Н. Ковалева**

Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Исследования, проводимые в эксперименте «сухой» иммерсии, которая является одной из моделей фактора невесомости, имеет стрессовый характер для лиц, находящихся в данных условиях. Несмотря на определенную стабильность и состав бактериальной популяции различных биотопов она может изменяться под влиянием как различных стрессовых агентов, так и физиологического состояния организма хозяина. Исследования по влиянию хронического психоэмоционального стресса на ткани пародонта показали, что стресс может провоцировать расстройства в системе микроциркуляции и как следствие нарушаются обменные процессы в околозубных тканях. Имеются сообщения, свидетельствующие об изменении метаболизма в минерализованных тканях при воздействии экстремальных факторов. Изучалось содержание анаэробной микрофлоры пародонта (*Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*), иммунологических показателей (иммуноглобулинов sIgA, IgA, IgM) в десневой жидкости и микроциркуляция в тканях пародонта у 8 человек (19–26 лет), находившихся в условиях 5-суточной «сухой» иммерсии. Забор проб производился на 1-е сутки (фон), на 5-е сутки (выход) и на 7 сутки по окончании иммерсии. Все исследования проводились натошак, перед чисткой зубов. Показано носительство пародонтопатогенной микрофлоры. Характер изменения содержания иммуноглобулинов у обследуемых говорит о возможности возникновения воспалительного процесса в тканях пародонта. Проведена корреляция между показателями микроциркуляции в тканях пародонта в артериальном и капиллярном звеньях и содержанием иммуноглобулинов в десневой жидкости с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Использовалась оценка корреляции по Спирману с принятым уровнем значимости  $p=0,05$ . Наблюдается умеренная обратная корреляция (до  $R=-0,33$ ) линейных скоростей в капиллярном звене и содержанием иммуноглобулинов sIgA, IgA, IgM.

Таким образом, комплексные исследования показали предрасположенность тканей пародонта обследуемых к развитию воспалительных заболеваний.

### **ВЛИЯНИЕ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ НА СИСТЕМУ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМОГО ПРОТЕОЛИЗА БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ**

**Н.П. Канцерова, В.В. Крылов, Л.А. Лысенко, Н.Н. Немова**

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск; Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок Ярославской обл., Россия

Одной из актуальных проблем космической биологии является изучение влияния существенного ослабления геомагнитного поля (гипомагнитных условий) на живые организмы. Гипомагнитные условия являются важным фактором пребывания человека в космосе, кроме того, снижение уровня геомагнитного поля можно обнаружить в метро, в экранированных сооружениях на некоторых производствах. Относительная простота реализации гипомагнитных условий в лаборатории привела к появлению ряда исследований биологических эффектов данного фактора. Показано, что гипомагнитные условия влияют на различные поведенческие, морфологические, физиологические параметры растительных и животных организмов различных таксонов, а также на организм человека. Меньшее количество работ посвящено изучению влияния гипомагнитных условий на биохимические процессы. Цель настоящей работы – изучение влияния компенсированного геомагнитного поля на кальцийзависимые протеиназы (кальпаины), участвующие в регуляции клеточного гомеостаза. Модельными организмами был

выбран ряд беспозвоночных и рыб; различное по времени воздействие проводилось *in vivo* и *in vitro*. Установлено, что влияние гипомангнитных условий на кальпаины прудовика, дафнии, плотвы, карася заключается в значительном снижении уровня активности указанных протеиназ. Минимальное время, при котором обнаруживается биологический эффект действия исследуемого физического фактора, составило 0.5 ч. Воздействие нулевого магнитного поля в течение одних и трех суток приводит к менее значительному снижению активности кальпаинов по сравнению с кратковременными экспозициями. Установлен сходный характер ответной реакции кальпаиновой системы на воздействие гипомангнитных условий у животных разных таксонов. Полученные результаты важны для понимания роли геомагнитного поля как фактора естественной среды обитания и эволюции жизни на Земле, а также для изучения влияния гипомангнитных условий на различные показатели функционирования организма человека и животных. Исследование выполнено с использованием приборов ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0003 и при поддержке гранта Президента РФ МК-4737.2016.4.

### **ЛАБИЛЬНОСТЬ АНТИПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ НА НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЯХ АДАПТАЦИИ К ГРАВИТАЦИОННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ**

**О.Н. Ларина, А.М. Беккер, А.Ю. Тюрин-Кузьмин**

*ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

Обследования космонавтов показали, что начальные стадии адаптации к невесомости и реадaptации к условиям силы тяжести после космического полета могут сопровождаться индукцией механизмов реакции острой фазы (РОФ), которая является основным функциональным проявлением врожденного, неспецифического иммунитета. На этапе инициации РОФ, в результате активации лейкоцитов и усиления синтеза воспалительных цитокинов, в клетках печени изменяется продукция секреторных белков крови – белков острой фазы (БОФ), некоторые из которых обладают свойствами ингибиторов протеолиза. На ранних стадиях ответа острой фазы, когда темпы синтеза протеазных ингибиторов еще недостаточны для инактивации высвобождаемых активированными лейкоцитами протеаз – катепсинов, может происходить кратковременное снижение их уровня в крови, следствием которого и может быть сокращение содержания  $\alpha 1$ -глобулинов, наблюдаемое после кратковременных полетов. В эксперименте с сухой иммерсией измерения плазматических уровней белков, проводившиеся с 24 ч. воздействия, показали увеличение содержания протеазных ингибиторов –  $\alpha 1$ -антитрипсина ( $\alpha 1$ -АТ) и  $\alpha 2$ -макроглобулина ( $\alpha 2$ -М), а также других острофазных белков, которое, наряду с наблюдавшимся повышением интенсивности стимулированного хемиллюминесцентного ответа лейкоцитов крови, указывало на развитие РОФ. Антиортостатическое положение (АНОП) с углом наклона минус  $15^\circ$  является более адекватной моделью в отношении начального периода адаптации при переходе к невесомости в космическом полете. Измерения концентраций ингибиторов протеолиза в крови 7 испытуемых после 16-часового пребывания в АНОП, показали разнонаправленные сдвиги  $\alpha 1$ -АТ (при этом у 3 индивидуумов наблюдалось снижение уровня на 6–18%), и статистически достоверное снижение  $\alpha 2$ -М. Очевидно, условия АНОП оказывают более выраженное воздействие на активность лейкоцитов, высвобождение ими протеолитических ферментов, что приводит к образованию большего количества надмолекулярных комплексов протеолитических ферментов с белковыми ингибиторами, и повышенному элиминированию их из кровотока по сравнению с моделью сухой иммерсии. Полученные в наземных модельных экспериментах результаты подтверждают возможность снижения антипротеазной активности крови при переходе к условиям микрогравитации.

### **МЕХАНИЗМ УЧАСТИЯ ИНКРЕТИНА В ОСМОТИЧЕСКОМ ГОМЕОСТАЗЕ**

**А.С. Марина, Е.В. Балботкина, Ю.В. Наточин**

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

Недавно нами было показано, что гормон желудочно-кишечного тракта, инкретин глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) может вовлекаться не только в регуляцию баланса глюкозы, но и водно-солевого обмена, что обеспечивает быструю нормализацию параметров жидкостей внутренней среды. Стабильность осмоляльности внеклеточной жидкости имеет ключевое значение в поддержании гомеостаза. При поступлении воды и солей в желудочно-кишечный тракт у экспериментальных животных и человека растет секреция ГПП-1 в кровь. Введение эксенатида, синтетического аналога инкретина, животным при сдвигах водно-электролитного баланса улучшает качество осмотической и ионной регуляции. Установлен механизм селективной регуляции баланса воды и ряда ионов при участии одного пептида – ГПП-1. В его основе лежит перераспределение ультрафильтрата в канальцах нефрона. Измерение клиренса лития показало значимое увеличение экскреции катиона при действии эксенатида, что свидетельствует о снижении инкретином реабсорбции жидкости в проксимальном канальце. Большой объем жидкости поступает в дистальный отдел нефрона. В условиях водной нагрузки в нем происходит интенсивная реабсорбция ионов натрия на фоне низкой осмотической проницаемости стенки собирательных трубок, что способствует образованию осмотически свободной воды, более быстрой ее экскреции и восстановлению осмотического гомеостаза. Усиление гомеостатической реакции почек при сдвигах ионного баланса определяется факторами регуляции ионного транспорта в дистальных отделах нефрона. Таким образом, полученные данные показали, что ГПП-1 может рассматриваться как интегратор регуляции осмотического и ионного гомеостаза, обеспечивая большую эффективность действия гормонов, влияющих на селективный транспорт воды и ионов в дистальном сегменте нефрона. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00730).

### **РОЛЬ ВАЗОПРЕССИНА И ОКСИТОЦИНА В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСПОРТА ИОНОВ В ПОЧКЕ**

**А.В. Кутина, Д.В. Голосова**

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

Гормоны нейрогоипофиза – ключевые участники системы регуляции водно-солевого обмена. Целью данной работы стало изучение их участия в регуляции выведения ионов почкой. Показано, что у крыс наиболее выраженный эффект на экскрецию катионов аргинин-вазопрессин оказывает в дозе 5 мкг/кг: выведение Na возрастает в 23 раза, Ca – в 2.4 раза, экскреция Mg не меняется. Максимальный эффект окситоцина наблюдается в дозе 2.5 мкг/кг – выведение Na растет в 22 раза, Ca – в 7

раз, Mg – в 1.2 раза. Таким образом, аргинин-вазопрессин оказывает более селективное действие на экскрецию ионов Na. Селективный агонист V1a-рецепторов вызывает натрийурез, сходный с таковым при действии аргинин-вазопрессина и окситоцина. Агонист окситоциновых рецепторов не влияет на экскрецию катионов почкой. Агонист V2-рецепторов уменьшает экскрецию Mg в 1.5 раза и Ca – в 5.6 раза, не изменяя выведения Na. У крыс при быстром обезвоживании, вызванном введением акваретиков, повышается концентрация Na в крови и его экскреция почкой. Наблюдающийся натрийурез коррелирует с выведением аргинин-вазопрессина с мочой, уменьшается при блокаде V1a-рецепторов и устраняется при нападении животных. При введении крысам гипертонического раствора NaCl у них также развивается гипернатриемия, и выведение ионов Na коррелирует с уровнем экскреции аргинин-вазопрессина. Блокада окситоциновых и вазопрессинных рецепторов V1a-типа в этих условиях значительно уменьшает натрийурез. Полученные в работе данные позволяют заключить, что гормоны нейрогипофиза могут уменьшать реабсорбцию Na в почке. При высоких концентрациях в крови аргинин-вазопрессин и окситоцин, активируя V1a-рецепторы, способствуют выведению ионов Na почкой, что наблюдается при гипернатриемии, вызванной быстрым обезвоживанием или поступлением избытка Na в организм. Стимуляция V2-рецепторов вызывает усиление реабсорбции ионов Mg и Ca, что повышает селективность натрийуреза при действии аргинин-вазопрессина. *Работа частично поддержана грантом РФФИ №14-04-00990, программой Президиума РАН № 1.19П и средствами государственного бюджета по госзаданию на 2013-2017 годы (№ г.р. 01201351572).*

### **ГИАЛУРОНАН МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПОЧКИ И ЕГО РОЛЬ В РЕАЛИЗАЦИИ АНТИДИУРЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВАЗОПРЕССИНА**

**А.В. Бабина, В.А. Лавриненко, Л.Н. Иванова** *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Гипотеза о вовлечении гиалуронидазы и гликозаминогликанов межклеточного матрикса в механизм действия вазопрессина (ВП) – основного фактора, регулирующего реабсорбцию воды в почке – была сформулирована более 50 лет назад А.Г. Гинецинским. В настоящее время схема молекулярных событий, индуцируемых ВП в эпителии собирательных трубок, охарактеризована достаточно полно. Основным звеном внутриклеточных реакций, индуцированных ВП, является транслокация везикул, содержащих водные каналы (аквапорины-2), в плазматическую мембрану главных клеток эпителия собирательных трубок. Наименее изученным в реализации антидиуретического эффекта ВП остается вопрос о механизме регуляции проницаемости внеклеточного матрикса, основным компонентом которого является гиалуронан, хотя эта проблема до сих пор остается актуальной. В связи с этим целью настоящего исследования было выявление роли гиалуронана в регуляции транспорта воды в почке млекопитающих. С использованием ОТ-ПЦР реального времени проверялась гипотеза о вовлечении генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма гиалуронана, в долговременный эффект вазопрессина на концентрирующую функцию почек. Экспрессия генов гиалуронан-синтазы 2 (Has2), гиалуронидазы-1 и гиалуронидазы-2 (Hyal1 и Hyal2) исследована в почке гидратированных крыс линии WAG и у крыс, которым в течение двух дней внутрибрюшинно вводился селективный агонист V2-рецепторов вазопрессина dDAVP (200 мкг/кг веса тела, дважды в день внутрибрюшинно). Содержание мРНК Has2 было наиболее высоким во внутреннем мозговом веществе почки гидратированных крыс. dDAVP индуцировал значительное снижение содержания мРНК Has2 в этой зоне, в корковом веществе изменения были менее выражены. В то же время введение dDAVP сопровождалось значительным повышением содержания мРНК Hyal1 и Hyal2 в сосочке почки, при этом наблюдались выраженное повышение активности гиалуронидазы в почечной ткани и нарастание осмоляльности отделяющейся мочи. Предполагается, что вазопрессин ингибирует синтез гиалуронана и одновременно стимулирует его деградацию в интерстициальной ткани сосочка почки, повышая проницаемость матрикса и облегчая ток воды между элементами противоточной концентрирующей системы путем регуляции экспрессии генов ключевых ферментов метаболизма гиалуронана.

### **ОСОБЕННОСТИ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ НИСАГ)**

**А.Д. Дубинина, А.Л. Маркель, Л.Н. Иванова** *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Ключевую роль почек в развитии эссенциальной гипертонии подтверждают многочисленные клинические и экспериментальные исследования. Одной из адекватных моделей для изучения механизмов формирования гипертензивного статуса, близкого к эссенциальной гипертонии человека, является линия крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертонией НИСАГ (ISIAH). Крысы данной линии характеризуются повышенным артериальным давлением не только при стрессе, но и в базальных условиях. У крыс НИСАГ выявлен ряд особенностей функционирования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadреналовой систем; предполагается, что высокая стресс-реактивность и повышенная секреторная активность коры надпочечников являются определяющими в генезе гипертонии у этой линии крыс. Однако особенности функционирования почек у крыс НИСАГ остаются неисследованными. Целью данной работы было изучение эффективности экскреции воды и натрия у ненаркотизированных гипертензивных крыс НИСАГ при введении в желудок изотонического 0.9%-ного и гипертонического 2%-ного растворов хлорида натрия. При гипертонической нагрузке у крыс WAG (нормотензивный контроль) и НИСАГ повышается скорость клубочковой фильтрации и резко тормозится реабсорбция натрия в канальцевом аппарате почки. Небольшие межлинейные различия эффективности выведения нагрузки связаны с более выраженным приростом скорости клубочковой фильтрации у гипертензивных крыс в этих условиях. Однако при изотонической нагрузке, вызывающей увеличение объема внеклеточной жидкости без изменения её осмолярности, выявлены резкие различия между гипертензивными и нормотензивными животными. Скорость клубочковой фильтрации прирастает почти одинаково у крыс WAG и НИСАГ, но в то же время у крыс НИСАГ в большей степени тормозится реабсорбция натрия, что приводит к более выраженной натрийуретической и диуретической реакции. Параметры почечных функций сопоставляются с результатами измерения уровня гормонов, регулирующих экскрецию натрия почкой.

Полученные данные свидетельствуют о более высокой чувствительности крыс линии НИСАГ к изменениям параметров водно-электролитного баланса.

**АММИАКЭКСКРЕТИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ПОЧЕК У ЖИВЫХ ДОНОРОВ ЧАСТИ ПЕЧЕНИ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**П.Н. Савилов, Д.В. Молчанов**

*Воронежский государственный медицинский университет, Воронеж; Тамбовская Центральная районная больница, с. П. Пригородное, Тамбовская обл.; ООО «Нейро-клиника» (Юсуповская больница), Москва, Россия*

В опытах на 77 беспородных половозрелых белых крысах исследовали содержание аммиака (Ам), глутамина (Гн), мочевины (М) в артериальной (АК) и венозной (почечная вена, КПВ) крови, почках и моче на 3-и сутки после резекции части левой доли печени (РП, 15–20% от массы органа). Также определяли артерио-венозную разницу по аммиаку (АВРам), глутамину (АВРгн) и мочевины (АВРм). Установлено, что к 3-м суткам после РП в АК концентрация Ам на 31%, в КПВ не изменялась. В результате АВРам из отрицательной в норме ( $-0,022 \pm 0,007$  ммоль/л) становилась недостоверной. Это сопровождалось увеличением на 42% концентрации Ам в почках, тогда как в моче она выявила тенденцию к увеличению ( $1,42 \pm 0,13$  ммоль/л) по сравнению с нормой ( $1,12 \pm 0,12$  ммоль/л). Концентрация Гн в почках не изменялась, тогда как в АК и КПВ возрастала соответственно на 16% и 36%. Несмотря на это АВРгн достоверно не отличалась от нормы ( $0,277 \pm 0,028$  ммоль/л). Концентрация М в АК не изменялась, а в КПВ увеличивалась на 29%, поэтому АВРм положительная в норме ( $0,77 \pm 0,08$  ммоль/л) становилась недостоверной АВРм положительная в норме ( $0,77 \pm 0,08$  ммоль/л) становилась недостоверной. В почках содержание М не изменялось, а в моче снижалось снижалась на 26%. Следовательно, формирование на 3-и сутки после РП артериальной гипераммониемии сопровождается незначительным увеличением экскреции свободного аммиака с мочой на фоне увеличения его экстракции нефроцитами из АК, что приводит к накоплению Ам почечной тканью. Это приводит к стимулированию образования в них Гн (обратимая форма связывания аммиака) с его дальнейшей инкрецией в оттекающую от почек кровь, содействуя формированию послеоперационной артериальной гиперглутаминемии. Одновременно наблюдается увеличение реабсорбции мочевины (необратимая форма связывания аммиака) из почечных канальцев, что приводит к увеличению её концентрации в КПВ без изменения её содержания в почечной ткани.

**ВЛИЯНИЕ МИМЕТИКА ГЛЮКАГОНОПОДОБНОГО ПЕПТИДА-1 НА ИОНОРЕГУЛИРУЮЩУЮ  
И ОСМОРЕГУЛИРУЮЩУЮ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КРЫС ПРИ ГИПЕРОСМИИ**

**А.В. Кутина, А.С. Марина**

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

Глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) оказывает натрийуретическое действие и участвует в регуляции водно-солевого обмена. Целью работы явилась оценка эффекта миметика ГПП-1, эксенатида, на ионорегулирующую и осморегулирующую функции почек у крыс в условиях разнонаправленных сдвигов осмоляльности крови и концентрации натрия. Проведены эксперименты на самках крыс линии Вистар (возраст 8–12 недель) с острой гиперосмией, вызванной внутрибрюшинным введением гипертонических растворов NaCl или глюкозы. Внутрибрюшинное введение 2.5% раствора NaCl (18 мл/кг) привело к росту концентрации ионов натрия в крови с  $143 \pm 1$  до  $153 \pm 1$  мМ и гиперосмии (осмоляльность крови составила  $313 \pm 1$  при  $300 \pm 1$  мОсм/кг H<sub>2</sub>O в контроле). При гиперосмии вследствие гипернатриемии увеличилась экскреция почками осмотически активных веществ, главным образом ионов натрия (с  $0.08 \pm 0.01$  до  $1.6 \pm 0.1$  ммоль/ч/кг), и повысилась реабсорбция осмотически свободной воды (с  $4.4 \pm 0.4$  до  $16.4 \pm 1.0$  мл/ч/кг). В ответ на введение миметика ГПП-1 наблюдалось усиление данных процессов: экскреция натрия составила  $3.0 \pm 0.2$  ммоль/ч/кг, а реабсорбция осмотически свободной воды –  $20.5 \pm 0.8$  мл/ч/кг. При внутрибрюшинном введении 50% раствора декстрозы (3 мл/кг) у крыс уже через 5 мин повысился уровень глюкозы в крови (на  $13.8 \pm 1.1$  мМ) и осмоляльность (на  $9 \pm 1$  мОсм/кг H<sub>2</sub>O); к 30 мин эксперимента гипергликемия сохранялась на уровне  $12 \pm 1$  мМ, снизилась концентрация натрия (до  $132 \pm 1$  мМ), вследствие чего осмоляльность сыворотки крови вернулась к базальному значению ( $298 \pm 2$  мОсм/кг H<sub>2</sub>O). Выявлена обратная зависимость между уровнем глюкозы и ионов натрия в крови у крыс после нагрузочной пробы ( $r = -0.74$ ,  $p < 0.05$ ). При гипергликемии у крыс экскреция ионов натрия почками снизилась до  $0.0011 \pm 0.0002$  ммоль/ч/кг, реабсорбция осмотически свободной воды составила  $2.1 \pm 0.4$  мл/ч/кг. Введение на этом фоне эксенатида способствовало нормализации уровня глюкозы в крови и стимулировало обратное всасывание воды в почках ( $3.1 \pm 0.2$  мл/ч/кг); экскреция ионов натрия сохранялась на уровне ( $0.004 \pm 0.002$  ммоль/ч/кг) значительно более низком, чем в контроле. Таким образом, при гиперосмии миметик ГПП-1 усиливает обратное всасывание воды в почках, а его эффект на экскрецию натрия зависит от концентрации катиона в крови. *Работа поддержана грантом РФФ №14-15-00730.*

**ОСОБЕННОСТИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО БАРЬЕРА ДЛЯ ТОКА ВОДЫ ВНУТРЕННЕЙ МОЗГОВОЙ ЗОНЫ ПОЧКИ ВА-  
ЗОПРЕССИН-ДЕФИЦИТНЫХ КРЫС БРАТТЛБОРО**

**В.А. Лавриненко, А.В. Бабина, В.И. Казаринов, Л.Н. Иванова**

*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Согласно гипотезе А.Г. Гинецинского, обоснованной комплексом физиологических и морфологических данных, поток воды в условиях действия АДГ идет не только через клетку, но и через межклеточные пространства, заполненные гликозаминогликанами, полимерность которых изменяется под влиянием фермента гиалуронидазы (Ginetzinsky, 1958, Иванова, 2001, Ivanova et al., 2013). Синтез гиалуронана межклеточного матрикса осуществляется интерстициальными клетками мозгового вещества почки, а главные клетки эпителия собирательных трубок вырабатывают гиалуронан апикального гликокаликсного слоя (Hansell et al., 1999, Goransson et al., 2002). В настоящее время дискуссионными остаются вопросы об участии глюкокортикоидов в осмотическом концентрировании и их влиянии на метаболизм гиалуронана – основного компонента интерстициального барьера для тока осмотически свободной воды. Целью данного исследования явилось изучение морфофункциональных коррелятов осмотического концентрирования в почке вазопрессин-дефицитных крыс Браттлборо в условиях водной депривации, а также введения дексаметазона. Эндогенная стимуляция глюкокортикоидной системы (в условиях водной депривации) и введение дексаметазона вызывают достоверное увеличение эффективности осмотического концентрирования. Наблюдается достоверное увеличение концентрации мочевины во внутренней мозговой зоне, отвечающей за осмотическое концентрирование. При гистохимическом изучении средней трети внутреннего мозгового вещества почки выявляются гликозаминогликаны и изменяется содержание бета-гликуронидазы (одного из лизосомальных ферментов ката-

близма интерстициальных гликозаминогликанов) в структурных элементах внутреннего мозгового вещества: снижается количество гранул фермента в интерстициальных клетках и наблюдается накопление в эпителиоцитах собирательных трубок. Полученные данные обсуждаются с точки зрения участия глюкокортикоидов в регуляции проницаемости интерстициального барьера для осмотического тока воды.

### **ВЛИЯНИЕ 1-ДЕЗАМИНО-АРГ7-ВАЗОТОЦИНА НА ВЫВЕДЕНИЕ ИОНОВ НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ НАТРИЕВОЙ НАГРУЗКИ**

**Е.В. Балботкина, К.В. Зайцева**

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

Вазотоцин, гормон нейрогипофиза позвоночных, увеличивает реабсорбцию воды и усиливает экскрецию  $\text{Na}^+$  в почке у млекопитающих, что способствует восстановлению водно-солевого баланса. Задача исследования – изучение влияния 1-дезамино-Арг7-вазотоцина (дАВТ) на выведение  $\text{Na}^+$  в условиях его избыточного поступления в организм. Опыты выполнены на самцах крыс линии Вистар массой тела (м. т.)  $272 \pm 4$  г. Крысы получали натриевую нагрузку 2.5% раствором NaCl в объеме 1.8 мл/100г м. т. внутривентриально (2.5% Na) или 0.9% р-ром NaCl в объеме 5.0 мл/100г м. т. *per os* (0.9% Na). дАВТ вводили внутримышечно в дозе 0.1 мкг/100 г м. т. Пробы мочи собирали 4 ч при произвольных мочеиспусканиях. Кровь забирали из сосудов шеи на 60-ой минуте от начала эксперимента. Осмоляльность сыворотки крови (POsm) и мочи (UOsm) измеряли на микроосмометре, концентрацию  $\text{Na}^+$  в сыворотке крови (PNa) и креатинина – на биохимическом анализаторе, концентрацию  $\text{Na}^+$  в моче – на пламенном фотометре. Параметры деятельности почек рассчитаны на 100г м. т. за 2 ч и представлены как  $M \pm m$ . Введение дАВТ увеличило натрийурез: выведение (UNaV) и экскретируемая фракция (EFNa)  $\text{Na}^+$  за 2 ч возросли до  $405 \pm 24$  мкмоль и  $7.4 \pm 0.4\%$  относительно контроля (UNaV= $4 \pm 1$  мкмоль, EFNa= $0.10 \pm 0.02\%$ ). В итоге снизились POsm до  $287 \pm 1$  мОсм/кг и PNa – до  $141.3 \pm 0.5$  мМ относительно контроля (POsm= $296 \pm 1$  мОсм/кг, PNa= $144.8 \pm 0.2$  мМ). Введение 0.9%Na не меняло POsm и PNa, при этом UNaV возросла до  $277 \pm 33$  мкмоль, а EFNa – до  $6.4 \pm 0.8\%$ . Инъекция дАВТ на фоне нагрузки привела к увеличению UNaV и EFNa в 3 раза относительно группы с 0.9% Na. Введение  $\text{Na}^+$  в организм в виде 2.5%Na увеличило POsm до  $303 \pm 1$  мОсм/кг за счет повышения PNa до  $151.8 \pm 0.4$  мМ; UNaV возросла до  $326 \pm 21$  мкмоль, EFNa – до  $5.8 \pm 0.5\%$ . Инъекция дАВТ на этом фоне снизила POsm до  $299 \pm 1$  мОсм/кг, а PNa до  $146.5 \pm 0.7$  мМ относительно группы, получившей только 2.5% Na, при этом PNa достигла значений контроля. UNaV и EFNa возросли в 2 раза относительно группы с 2.5% Na. На фоне введения натриевой нагрузки *per os* совместно с дАВТ почки выводили  $\text{Na}^+$  более эффективно. Таким образом, введение дАВТ способствует экскреции избытка  $\text{Na}^+$  и быстрой нормализации показателей сыворотки крови. *Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-00990 и средствами госбюджета (№ г.р. 01201351572).*

### **РОЛЬ ПОДТИПОВ РЕЦЕПТОРОВ ВАЗОПРЕССИНА И ОКСИТОЦИНА В РЕГУЛЯЦИИ ВЫВЕДЕНИЯ ИОНОВ**

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

Аргинин-вазопрессин (АВП) и окситоцин (ОТ) – нонапептиды нейрогипофиза млекопитающих, участвующие в регуляции водно-солевого гомеостаза благодаря стимуляции OT-, V1a-, V1b- и V2-рецепторов. Задача настоящего исследования – изучение экскреции ионов почкой на фоне блокады V- и ОТ-рецепторов селективными антагонистами в условиях их стимуляции стандартными дозами естественных гормонов нейрогипофиза. Эксперименты выполнены на крысах линии Вистар. АВП (0.05–10 мкг/кг) и ОТ (0.5–5 мкг/кг) инъецировали внутримышечно. Антагонисты V1a-рецепторов (1 мкг/кг), V2-рецепторов (5 мкг/кг) и ОТ-рецепторов (1 мкг/кг) вводили внутривентриально. В качестве солевой нагрузки вводили 2.5% раствор NaCl в объеме 18 мл/кг внутривентриально. В пробах мочи определяли концентрацию натрия и калия на пламенном фотометре Sherwood–420, кальция и магния – на атомном абсорбционном AA6200 Shimadzu, АВП – с помощью иммуноферментного анализа. Данные представлены в виде  $M \pm m$ . Максимальный эффект АВП наблюдался при его введении в дозе 5 мкг/кг: экскреция натрия усилилась с  $6 \pm 1$  до  $137 \pm 19$  мкмоль/100г, калия с  $20 \pm 2$  до  $74 \pm 8$  мкмоль/100г, кальция с  $0.11 \pm 0.03$  до  $0.46 \pm 0.09$  мкмоль/100г, экскреция магния снизилась с  $5.42 \pm 0.43$  до  $4.07 \pm 0.71$  мкмоль/100г. Инъекция 2.5 мкг/кг ОТ усиливала выведение натрия до  $133 \pm 14$  мкмоль/100г, экскрецию калия – до  $68 \pm 8$  мкмоль/100 г, кальция до –  $1.37 \pm 0.34$  мкмоль/100г. При введении 2.5% раствора NaCl наступал значительный рост экскреции изучаемых катионов, в механизме которого, вероятно, играет роль секреция АВП и усиление притока жидкости к дистальным сегментам нефрона. Блокада V2-рецепторов на фоне нагрузки увеличивала экскрецию натрия, магния и кальция ( $428 \pm 25$ ,  $4.44 \pm 0.58$  и  $8.88 \pm 0.27$  мкмоль/100 г, соответственно); блокада ОТ- или V1a-рецепторов в равной степени приводила к снижению экскреции натрия, но не оказывала влияния на выделение калия и магния. Полученные результаты позволили оценить функциональную роль стимуляции V- и ОТ-рецепторов в регуляции транспорта ионов в почке. Стимуляция ОТ- и V1a-рецепторов снижала реабсорбцию натрия, а V2-рецепторов увеличивала реабсорбцию натрия и магния. *Работа частично поддержана грантом РФФИ №14-04-00990, программой Президиума РАН № 1.19П и средствами государственного бюджета по госзаданию на 2013-2017 годы (№ г.р. 01201351572).*

### **РЕНАЛЬНЫЕ И ЭКСТРАРЕНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ВОДНО-СОЛЕВОГО ГОМЕОСТАЗА**

**А.И. Гоженко**

*Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта, Одесса, Украина*

Известно, что почки являются основным эффекторным органом в регуляции водно-солевого гомеостаза, путем обеспечения адекватного выведения воды или ионов в ответ на сдвиги параметров внутренней среды. Исследования, проведенные в эксперименте и на здоровых добровольцах, позволили предложить трехкомпонентную модель поддержания водно-солевого гомеостаза, которая включает превентивные механизмы, центральные гомеостатические и эффекторные. Показано, что превентивные механизмы, заключаются в анамнезе жидкости, поступающей в ротовую полость с приоритетом контроля осмолярности и последующими поведенческими и гомеостатическими почечными механизмами. Центральные механизмы контролируют осмолярность, объем и pH внеклеточной жидкости. Эффекторные механизмы обеспечивают контроль почечных реакций с приоритетом управления экскрецией натрия. В докладе излагаются механизмы реализации трехкомпонентной системы регуляции.



**ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ТУБУЛЯРНОГО ЭПИТЕЛИЯ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

К.А. Смирнов, В.А. Добронравов, О.В. Галкина, И.М. Зубина, Т.А. Рудакова, Е.О. Богданова

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

Цель исследования: уточнение роли молекулярных биомаркеров (БМ), повреждения тубулярного эпителия, в развитии и прогнозировании острой дисфункции почек после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В открытом обзорное проспективное исследование включены 90 больных (46 мужчин и 44 женщины), которым была выполнена ТГСК. В образцах мочи за 7 дней до ТГСК (неделя 0), на 1, 2, 3, 4 и 5 неделях измерены концентрации БМ (кальбиндина, кластерина, интерлейкина-18 (IL-18), молекулы повреждения почек-1 (КИМ-1), глутатион-S-трансферазы (л-класс) (GST-л), протеина хемотаксиса моноцитов-1 (MCP-1). Параллельно мониторировали основные клинические показатели. Диагностику и стратификацию тяжести острого повреждения почек (ОПП) проводили согласно рекомендациям KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes). Доля случаев с ОПП на неделе 1 после ТГСК составила 7,8%, на неделе 2 – 8,9%, на неделе 3 – 12,5%, на неделе 4 – 27,3%, на неделе 5 – 35,9%. Повышение содержания БМ в моче (>медианы) выявляли существенно чаще случаев ОПП. Экскреция с мочой большинства БМ резко увеличивалась в раннем периоде ТГСК. Медиана числа одновременно повышенных БМ составила 3 (2;5) за весь период наблюдения. При множественном регрессионном анализе кластерин, MCP-1 и КИМ-1 имели прямую, достоверную, независимую от других анализируемых параметров связь с креатинином сыворотки крови на неделе, следующей за определением БМ. Повышение мочевого экскреции КИМ-1 и (или) MCP-1 было независимо от других клинических показателей ассоциировано с увеличением относительного риска (ОР) развития ОПП (ОР ОПП возрастал в 2,3 раза при повышении одного из этих показателей и в 3,4 раза – при увеличении обоих). Множественные ренотоксичные воздействия при ТГСК приводят к существенному и одновременному повышению экскреции с мочой БМ тубулярного повреждения; среди изученных БМ КИМ-1 и MCP-1 представляются наиболее подходящими для оценки риска развития ОПП у данного контингента больных в рамках предиктивного диагностического подхода.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСЕНАТИДА НА ГИПЕРТЕНЗИВНЫЙ ЭФФЕКТ АРГИНИН-ВАЗОТОЦИНА У КРЫС**А.Е. Боголепова *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Глюкагоноподобный пептид 1 (ГПП-1) – инкретин, участвующий в стабилизации уровня гликемии, влияет на функцию почек и ее реакцию на нейрогипофизарные гормоны, обеспечивающие поддержание водно-солевого гомеостаза. Введение синтетического миметика ГПП-1 эксенатида в условиях водной нагрузки приводит к повышению экскреции воды и ионов почкой крыс [Марина А.С., 2011]. Система осмотического гомеостаза тесно связана с регуляцией объема циркулирующей крови и артериального давления, так, одним из основных эффектов вазопрессина и его аналогов является вазоконстрикторный. Представляло интерес выяснить возможное влияние эксенатида на сосудистый эффект нейрогипофизарных нонапептидов. Эксперименты выполнены на ненаркотизированных самках крыс линии Вистар в соответствии с международными стандартами работы с животными и одобрены этическим комитетом ИЭФБ РАН. Растворы аргинин-вазотоцина (АВТ) и эксенатида вводили внутримышечно в дозе 0,05 и 0,15 нмоль/100г массы тела, соответственно. Контрольной группой служили животные после инъекции 0,9% раствора хлорида натрия. Измерение артериального давления (АД) производили неинвазивным методом регистрации зависимости объем-давление с использованием хвостовых манжет на двухканальной установке Coda (Kent Scientific Co, США). Данные представлены в виде  $M \pm m$ , достоверность отличий оценивали по методу ANOVA и t-критерию Стьюдента. Увеличение среднего АД на фоне действия эксенатида составило  $24 \pm 2,5$  мм рт.ст. и не имело статистически значимых отличий от аналогичного показателя контрольной группы –  $11 \pm 2,6$  мм рт.ст. ( $p > 0,05$ ). Через 15–20 минут после введения АВТ прирост уровня АД у крыс составил  $48 \pm 4,1$  мм рт.ст. ( $p < 0,05$ ). Одновременная инъекция АВТ и эксенатида вызывала меньшее увеличение АД, составившее  $33,1 \pm 3,5$  мм рт.ст. и способствовала повышению диуреза. Можно предположить, что снижение вазопрессорного ответа на АВТ под влиянием эксенатида связано с повышением экскреции воды и ионов почкой крыс. *Работа поддержана грантом РФФ №14-15-00730.*

**НЕФРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ АНТИТРОМБИНОВЫХ ДНК-АПТАМЕРОВ ПРИ РАБДОМИОЛИЗ-ИНДУЦИРОВАННОМ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК**И.И. Заморский<sup>1</sup>, В.А. Спиридонова<sup>2</sup> *<sup>1</sup>Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Одним из патогенетических механизмов рабдомиолиз-индуцированного (миоглобинурического) острого повреждения почек (ОПП) является уротромбоз вследствие закупорки просвета канальцев нефрона миоглобиновыми цилиндрами и дальнейшего повреждения нефрона. Поэтому целью данного исследования было выявление влияния на течение экспериментального рабдомиолизического ОПП антитромбиновых ДНК-аптамеров. Рабдомиолизическое ОПП моделировали у половозрелых самцов беспородных белых крыс внутримышечным введением 50% раствора глицерола в дозе 10 мл/кг. ДНК-аптамеры вводили внутривентриально в дозе 0,5 мг/кг ежедневно в течение 3х дней до моделирования патологии. Функцию почек оценивали в условиях водной нагрузки (5% от массы тела) по показателям диуреза, скорости клубочковой фильтрации, протеинурии, концентрации креатинина в плазме крови и моче, экскреции аммиака и титрованных кислот с мочой. В условиях ОПП у животных наблюдалось развитие олигурии на 12 и 24 ч исследования. Введение разных ДНК-аптамеров продемонстрировало нефропротекторные эффекты исследованных соединений. Так, при введении аптамера ТВА31 содержание креатинина в плазме крови, белка и показателей титруемых кислот в моче оставалось на уровне контроля, изменяясь по сравнению с данными, полученными при моделировании патологии, соответственно на 24,4%, 22,3% и в 2,8 раза (180%;  $p < 0,05$ ). Одновременно под влиянием аптамера ТВА31 у крыс с модельной патологией повышался диурез в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с теми животными, у которых моделировали ОПП без введения аптамера. При этом скорость клубочковой фильтрации также значительно увеличивалась. Таким образом, ДНК-аптамеры с антитромбиновой активностью проявляют нефропротекторные эффекты при рабдомиолиз-индуцированной форме ОПП, увеличивая диурез, скорость клубочковой фильтрации и концентрацию титруемых кислот в моче, а также уменьшая степень протеинурии, что позволяет рекомендовать указанные соединения для дальнейшей клинической апробации. *Работа поддержана грантом РФФИ №11-04-01530\_a.*

**НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЛУТАТИОНА ПРИ РАБДОМИОЛИЗ-ИНДУЦИРОВАННОМ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК****В.М. Драчук, И.И. Заморский** Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

Рабдомиолиз как распространенная причина острого повреждения почек (ОПП) сопровождается развитием оксидативно-го стресса. Поэтому целью нашего исследования стало изучение действия глутатиона, эндогенной серосодержащей аминокислоты, обладающей мощными антиоксидантными свойствами в организме, на функциональное состояние почек крыс при экспериментальном рабдомиолиз-индуцированном ОПП. Исследование проведено на белых беспородных половозрелых крысах. Животные были разделены на три группы (n=7): 1) контрольная, 2) животные с рабдомиолизическим ОПП, которое воспроизводили путем введения крысам 50% раствора глицерола в дозе 10 мл/кг, 3) животные с ОПП, которым был введен препарат восстановленного глутатиона (ТАД 600, "Biomedica Foscoma", Италия) в дозе 30 мг/кг однократно внутривентриально через 40 мин после введения глицерола. Функцию почек оценивали в условиях водной нагрузки (5% от массы тела) по показателям диуреза, скорости клубочковой фильтрации и протеинурии. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что применение препарата привело к достоверному улучшению показателей экскреторной функции почек. В группе леченных животных наблюдалось увеличение диуреза в 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ), что привело к росту скорости клубочковой фильтрации в 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ ). Уменьшились также показатели протеинурии: концентрация белка в моче снизилась в 2 раза, экскреция белка — в 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ ). Полученные данные подтверждаются морфологическим исследованием гистоструктуры почек, поскольку закупорка просвета микротрубочками и белковыми цилиндрами была незначительна; признаки зернистой и гидрорической дистрофии эпителиоцитов извитых канальцев нефронов коркового вещества почек уменьшились в 1,4 раза по сравнению с патологией, а выводных трубочек мозгового вещества — в 1,3 раза. Следует отметить, что уменьшилось также количество эпителиоцитов, находившихся в состоянии коагуляционного некроза. Таким образом, данные экспериментального исследования свидетельствуют, что глутатион обладает нефропротекторными свойствами при глицероловой модели ОПП.

**СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ СЕРДЦА: МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ В РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ****К.В. Дергилев<sup>1</sup>, З.И. Цоколаева<sup>1</sup>, П.И. Макаревич<sup>1,2</sup>, М.А. Болдырева<sup>2</sup>, Е.В. Парфенова<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ; <sup>2</sup>Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

В течение 100 лет в биологии и медицине господствовала парадигма, основанная на представлении о том, что сердце является постмитотическим органом, не способно к регенерации, и кардиомиоциты, погибшие при повреждении или заболевании, замещаются фиброзной тканью, что неизбежно приводит к развитию сердечной недостаточности. Исследования последнего десятилетия, показали, что сердце имеет регенеративный потенциал, хотя и очень ограниченный. В значительной степени этот потенциал обусловлен наличием в миокарде резидентных стволовых/прогениторных клеток, характеризующихся экспрессией на своей поверхности рецептора к фактору стволовых клеток (SCF) – c-kit+ прогениторные клетки сердца (ПКС). Эти клетки способны к самообновлению, образованию клонов из одной клетки и дифференцировке в эндотелиальные, гладкомышечные клетки и кардиомиоциты. Они локализуются и функционируют в миокарде в определенном микроокружении – «клеточных нишах», располагающихся в области предсердий и верхушки сердца. При инфаркте эти клетки активируются, пролиферируют и мигрируют в область инфаркта, где, вероятно, дифференцируются в клетки миокарда и участвуют в его восстановлении. Помимо способности к кардиальной дифференцировке ПКС обладают выраженной паракринной активностью, обусловленной секрецией широкого набора факторов роста. Благодаря этим свойствам ПКС являются перспективным типом клеток для клеточной терапии и тканевой инженерии сердца. Их трансплантация в виде сформированных *in vitro* клеточных кластов на область экспериментального инфаркта способствует стимуляции васкуляризации подлежащего миокарда, стимулирует репаративные/регенеративные процессы и предотвращает постинфарктное ремоделирование левого желудочка. Работа поддержана государственным контрактом №14.610.21.0001 от 03.10.2014.

**ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (МСК) ПРИ «ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ» ГИПОКСИИ****Е.Р. Андреева, А.Н. Горностаева, Л.Б. Буравкова** ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

За последние 20 лет достигнут значительный прогресс в изучении роли МСК в организме, а те свойства, которые они демонстрируют *in vitro*, делают их привлекательным инструментом для клеточной терапии и регенеративной медицины. МСК не только не вызывают иммунного ответа аллогенных иммунных клеток, но и способны к иммуносупрессии. В связи с этим, изучение механизмов взаимодействия МСК с клетками иммунной системы в конкретном тканевом контексте, в частности при тканевых значениях  $O_2$  («физиологическая» гипоксия) представляется первоочередной задачей. При моделировании «физиологической» гипоксии в результате непосредственного контакта митоген-стимулированных мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови с монослоем МСК происходило разделение МНК на две субпопуляции – флотирующие и адгезировавших к МСК. В отличие от нестимулированных иммунных клеток, активированные МНК активно прикреплялись к МСК и мигрировали под них. Образование межклеточных контактов при адгезии МНК к жтМСК поддерживало жизнеспособность лимфоцитов, т. к. как при 20% так и при 5%  $O_2$  активированные МНК, адгезированные к жтМСК, обладали сходной и очень высокой, по сравнению с МНК в суспензии, жизнеспособностью. Популяционный состав лимфоцитов и субпопуляций Т-клеток суспензионных и МСК-ассоциированных клеток не отличался. Иммуносупрессивный эффект МСК проявился в отмене эффекта увеличения доли Т-лимфоцитов с фенотипом  $CD3^+/CD8^+$  по сравнению с митоген-стимулированной монокультурой, а также в снижении активации Т-клеток по HLA-DR антигену, более выраженный при «физиологической» гипоксии. Среди МСК-ассоциированных МНК были идентифицированы не только  $CD14^+$  моноциты периферической крови, но и производные от них  $CD206^+$  и  $CD68^+$  макрофаги. Кроме того, отмечено увеличение доли ЕК клеток как среди суспензионных, так адгезированных МНК. Таким образом, при тканевых значениях  $O_2$  МСК эффективно подавляют активность лимфоцитов, но, возможно, могут утрачивать свою иммуноуклончивость, провоцируя ответ клеток врожденного иммунитета, что может приводить к нарушению их функциональной активности при аллогенном введении. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00693).

**ПЛАСТИЧНОСТЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ:  
ОТ ПЕРЕСТРОЙКИ ЦИТОСКЕЛЕТА К МОДИФИКАЦИИ КОММИТИРОВАННОСТИ**

*Л.Б. Буравкова* ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

На различных типах культивируемых клеток показано, что ответ на микрогравитацию обуславливают структуры цитоскелета, вовлеченные в механизмы клеточной механочувствительности. Нами показано, что при моделировании микрогравитации в мезенхимальных стволовых клетках (МСК), изменяется пространственная структура актинового цитоскелета, снижается пролиферативная активность и способность к остеогенной дифференцировке. Обратимые изменения уровня экспрессии генов некоторых цитоскелетных белков и малой ГТФазы RhoA можно рассматривать как один из возможных начальных механизмов адаптации. Изучение совокупности факторов, задействованных в выборе пути коммитирования МСК, поможет выявить механизмы, которые необходимы для поддержания баланса между направлениями дифференцировки МСК, возможное нарушение которого в условиях гипокинезии или микрогравитации может приводить к таким клиническим проявлениям, как остеопения или остеопороз. Существующая взаимосвязь и реципрокные отношения между остеогенезом и адипогенезом обусловлены существованием общих сигнальных путей и уровней регуляции, которые определяют приоритет в развитии одного направления в ущерб другому, исходя из поступающих к клеткам сигналов. Одним из ключевых транскрипционных факторов адипогенеза является PPAR $\gamma$ 2, который функционирует как доминантный негативный регулятор остеогенеза. Специфическая активация PPAR $\gamma$ 2 приводит к полной супрессии основных транскрипционных факторов остеогенеза, а также увеличению конверсии бипотентных мезенхимальных предшественников в адипоциты. Интересно, что с возрастом активность PPAR $\gamma$ 2 у ММСК растет, что коррелирует с утратой пула остеобластов и увеличением числа адипоцитов в костном мозге. Последнее время активно обсуждается роль механических сигналов в выборе пути коммитирования МСК. Показано, что механические стимулы приводят к усилению остеогенной дифференцировки, за счет активации BMP-2 и ингибирования PPAR $\gamma$ 2. Таким образом, при снижении гравитационной нагрузки мультипотентные стромальные клетки становятся менее чувствительными к остеогенным стимулам, а дифференцировка в их в остециты остается незавершенной. *Работа поддержана грантом РФФИ № 16-15-10407.*

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДИАФРАГМЫ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ И ПРИОБРЕТЕННЫХ ДЕФЕКТОВ**

*Е.А. Губарева<sup>1</sup>, Е.В. Куевда<sup>1</sup>, А.С. Сотниченко<sup>1</sup>, И.С. Гуменюк<sup>1</sup>, И.В. Гилевич<sup>1</sup>, Р.З. Накохов<sup>1</sup>, К.А. Даниленко<sup>1</sup>, А.Г. Похотько<sup>1</sup>, В.М. Покровский<sup>1</sup>, С.В. Крашенинников<sup>2</sup>, Т.Е. Григорьев<sup>2</sup>, С.Н. Чвалун<sup>2</sup>* *<sup>1</sup>Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар; <sup>2</sup>Курчатовский НБИКС-центр, НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия*

Применение тканеинженерных конструкций позволило бы решать как этические, так и иммунологические проблемы трансплантологии. В литературе описано множество мало инвазивных хирургических методов для реконструкции врожденных и приобретенных дефектов диафрагмы у детей и взрослых. К сожалению, хирургические вмешательства с использованием естественных или искусственных лоскутов сопровождаются частыми рецидивами, неполным срастанием с интактным участком диафрагмы, инфекционными осложнениями, атрофиями, образованием выраженных спаек, непроходимостью и высоким уровнем смертности. Тканеинженерный подход к решению этой проблемы может избавить от необходимости использовать несоответствующие аутологичные замещающие ткани или имплантировать синтетические нежизнеспособные материалы. Нами был разработан 24-часовой протокол децеллюляризации диафрагмы крысы детергентно-энзиматическим методом в специально разработанном и запатентованном биореакторе с проведением одновременной перфузии и встряхиванием образца на ротирующей платформе. Полученный децеллюляризованный матрикс сохранял гистоархитектонику и биомеханические свойства, поддерживал клеточную адгезию, пролиферацию и способность клеток к дифференцировке. После засеивания каркаса аллогенными мультипотентными мезенхимальными стромальными стволовыми клетками и культивирования в течение 3-х недель матрикса были ортотопически трансплантированы крысам с хирургически смоделированными дефектами диафрагмы и замещением 80% левого купола. Через 3 недели после трансплантации животным проводили функциональные исследования, показавшие появление синхронной контрактильной активности трансплантированного участка при сравнении с интактным куполом при миографии; отсутствие респираторного ацидоза, гипоксии и гиперкапнии при анализе газового состава крови; отсутствие признаков респираторных нарушений при спирометрии, а также полную герметичность грудной клетки, отсутствие эвентрации, свободной жидкости в полостях при проведении конусно-лучевой томографии. При морфологическом исследовании эксплантата наблюдалось появление большого количества вновь образованных сосудов, появление клеток с потенцией к мышечной и мезотелиальной клеточной дифференцировке. Таким образом, тканеинженерная конструкция перспективна для замещения дефектов диафрагмы.

**НОВЫЕ ФУНКЦИИ УРОКИНАЗЫ В ЯДРЕ: РЕГУЛЯЦИЯ ВЫЖИВАЕМОСТИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТОК**

*В.В. Степанова<sup>1</sup>, В.А. Ткачук<sup>2</sup>, Е.В. Парфенова<sup>3</sup>, Д.Б. Синс<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Пенсильванский университет, Факультет Медицины, Филадельфия, США, <sup>2</sup>Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; <sup>3</sup>Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва, Россия*

Урокиназа (активатор плазминогена урокиназного типа) изначально была идентифицирована как секретируемая эндотелиальными и эпителиальными клетками высоко-специфичная сериновая протеаза, превращающая белок-предшественник плазминоген в плазмин – сериновую протеазу, которая обеспечивает рассасывание тромбов в сосудах или протеолитическую деградацию фибриновых накоплений в различных органах и тканях. Позднее было установлено, что урокиназа также участвует в процессах физиологического и опухолевого ангиогенеза, роста и метастазирования раковых клеток за счет обеспечения направленной миграции клеток и их проникновения через тканевые барьеры при связывании со специфическим рецептором (uPAR/CD57). Мы обнаружили новый механизм, через который урокиназа опосредует активацию ангиогенеза под действием VEGF. Мы выяснили, что одноцепочечная урокиназа, секретируемая клетками, проникает в ядро при помощи транспортного белка нуклеолина. Оказавшись в ядре, урокиназа связывается с рядом транскрипционных факторов и репрессоров, которые, в частности, регулируют активность промоторов генов, кодирующих рецепторы VEGF (VEGFR1 и VEGFR2). Мы показали, что урокиназа снижает репрессорную активность транскрипционного фактора HHEX/PRH, и тем самым, сни-

мает его ингибирующее влияние на активность промоторов VEGFR1 и VEGFR2 генов, увеличивая, таким образом, экспрессию VEGF рецепторов на поверхности эндотелиальных клеток. В конечном счёте, это приводит к увеличению миграции и пролиферации эндотелиальных клеток в ответ на VEGF и другие про-ангиогенные факторы роста. Мы также установили, что урокиназа, находясь в ядре раковых клеток, делает их более резистентными к действию некоторых химиотерапевтических препаратов, таких как гемцитабин или тамоксифен. Мы показали, что урокиназа способна связываться с ДНК и ДНК-модифицирующим ферментом Топоизомеразой 1-го типа, при этом происходит усиление ДНК-релаксирующей активности Топоизомеразы 1. Предотвращение взаимодействия урокиназы и Топоизомеразы 1 приводит к ослаблению резистентности раковых клеток к апоптозу вызванному гемцитабином.

Таким образом, выяснение механизмов проникновения урокиназы в ядро и ее влияния на экспрессию ряда генов позволит расширить набор препаратов, применяемых для лечения онкологических и других ангио-пролиферативных заболеваний.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДИФИЦИРОВАННОГО GDNF ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

**Г.В. Павлова, Д.В. Шамадыкова, Н.Н. Куст, Д.Ю. Пантелеев, Е.А. Савченко, А.В. Ревущин**  
*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

GDNF является одним из главных факторов выживания для дофаминэргических нейронов среднего мозга. GDNF обеспечивает рост аксонов и гипертрофию нейронов этого типа. На различных моделях болезни Паркинсона было показано, что рекомбинантный GDNF может предотвращать нейротоксически спровоцированную гибель дофаминэргических нейронов и способствует восстановлению их функциональной активности. Однако проведение II фазы клинических испытаний показало отсутствие обнаруженного эффекта у человека. Причина отсутствия эффекта может быть связана с использованием не той изоформы GDNF, которая необходима именно для стимуляции нейральной дифференцировки прогениторных клеток. На данный момент показано, что у человека ген GDNF кодирует два варианта GDNF мРНК, pre-( $\alpha$ )pro-GDNF и укороченный pre-( $\beta$ ) pro-GDNF. Причем было обнаружено, что pre-( $\alpha$ )pro-GDNF, секретируется через аппарат Гольджи, а pre-( $\beta$ ) pro-GDNF, локализуется в основном в секреторных везикулах и движется по более быстрому секреторному пути. Вероятно, pre-( $\alpha$ )pro-GDNF необходим для выживания нейронов в норме, тогда как pre-( $\beta$ ) pro-GDNF необходим как SOS система регенерации при травматической гибели нейронов или при нейродегенеративных заболеваниях. Для исследования значимости pro области для быстрого транспорта и изменения индуктивных свойств фактора нами были сделаны несколько вариантов модифицированных GDNF (Kust et al. 2015). Данные модифицированные GDNF были трансплантированы в клетки HEK293 и получены трансгенные линии клеток. Секретия факторов в среду была доказана Вестерн-блот анализом. Среда, кондиционированная культивированием клеток с модифицированными GDNF была добавлена в среду культивируемого эмбрионального спинального ганглия крысы и проанализировано образование нейральных отростков. Было обнаружено, что удаление pro области значительно повышает эффект GDNF, как нейрального индуктора. Аналогичный результат был получен при исследовании культуры разрушенного спинального ганглия и подсчете количества нейральных отростков от клеток.

Исследования были проведены также и *in vivo*. Была использована модель болезни Паркинсона, которая получали путем подкожной инъекции MPTP мышам линии C57Bl/6. Имплантация клеток, продуцирующих mGDNF в каудатум-путамен, сглаживала симптомы болезни Паркинсона в тестах на двигательную активность.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-15-00942.*

### **СТИМУЛЯЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ С ПОМОЩЬЮ МИНИМАЛЬНЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ИЗ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

**П.И. Макаревич, К.В. Дергилёв, М.А. Болдырева, З.И. Цоколаева, П.П. Нимирицкий, О.А. Григорьева, Г.Д. Сагарадзе, Т.А. Дусь, В.А. Ткачук, Е.В. Парфёнова**

*МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, Москва, Россия*

Разработка технологии клеточных пластов значительно продвинула развитие терапевтических подходов для стимуляции регенерации и их применение для клинических задач и исследований. Клеточные пласты представляют собой минимальные, получаемые *in vitro*, тканеинженерные конструкции из жизнеспособных клеток и белков внеклеточного матрикса. Эти тканевые эквиваленты могут перемещаться и использоваться для нанесения на поверхности тканей, органов, а также могут собираться в многослойные сложные конструкции. В наших исследованиях мы показали возможность формирования пластов из различных типов клеток, в том числе и тех, которые могут применяться для терапии (мезенхимальные стромальные клетки, стволовые клетки сердца и др.). На животных моделях патологических состояний нами был исследован регенеративный потенциал клеточных пластов и их эффективность в стимуляции репаративных процессов. В частности, созданные конструкции показали более высокую эффективность по сравнению с введением клеточных суспензий, что было связано с увеличением выживаемости клеток в составе пластов по сравнению с инъекционным введением в виде суспензии. Кроме того, нами был предложен метод увеличения терапевтического потенциала клеточных пластов с помощью экспрессии VEGF165 путем вирусной трансдукции клеток и на модели ишемии задней конечности было показано увеличение эффективности клеточных пластов, состоящих из модифицированных клеток.

В докладе также представлены данные по выживаемости клеток в составе пластов и взаимодействию трансплантата с организмом реципиента: его васкуляризации и наличию в его составе клеток с признаками пролиферации/апоптоза. В работе предлагаются направления дальнейшего развития данной области и представлены данные о формировании гибридных клеточных пластов из клеток эндотелия и стволовых клеток. Клеточные конструкции также рассмотрены с позиций их использования в качестве модели для исследования клеточных взаимодействий и как технологии для создания тканеинженерных конструкций, в том числе и с помощью метода децеллюляризации.

Перспектива данного направления связана не только с прикладными разработками, но и с изучением роли внеклеточного матрикса как компонента регенеративного микроокружения и его участия в репарации тканей, морфогенезе и регуляции дифференцировки клеток.

**СИГНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МСК В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА**

**О.О. Ударцева, Е.Р. Андреева, Л.Б. Буравкова** ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются основным элементом тканевой репарации, что связано с их способностью к мультилинейной дифференцировке, высокой паракринной активностью и возможностью регулировать иммунный ответ. Благодаря этому в настоящее время МСК являются одним из наиболее перспективных объектов исследования. Большинство экспериментов на МСК проводится при атмосферном содержании  $O_2$  (20%), в то время как тканевая ниша МСК характеризуется пониженным (1–7%) содержанием кислорода, а при различных патологических состояниях в тканях может развиваться острая гипоксия (0,1–0,5%  $O_2$ ). Исследования последних лет убедительно доказывают центральную роль кислорода как фактора, способного существенно модифицировать функциональную активность МСК. Wnt-, Akt- и MAPK-каскады относят к важнейшим путям внутриклеточной передачи сигнала, поскольку они участвуют в регуляции основных аспектов функциональной активности клеток (миграции, пролиферации, дифференцировки, паракринной активности, апоптоза). Однако роль этих сигнальных каскадов в адаптации МСК к условиям пониженного содержания  $O_2$  мало изучена. В настоящей работе было изучено влияние острого гипоксического стресса на экспрессию генов Wnt-, Akt- и MAPK- сигнальных каскадов в МСК, постоянно культивируемых при 5%  $O_2$ . В условиях острой гипоксии было выявлено изменение экспрессии ( $p \geq 1,5$  раза) 38 из 252 проанализированных генов: 10 генов MAPK-каскада, 15 Akt-ассоциированных генов и 13 генов, участвующих в Wnt-сигналинге. При этом экспрессия 13 генов (APC, CDKN2B, FASL, FOS, FZD3, FZD9, GJA1, LEF1, MEK1, MKK6, SFRP1, SFRP4, TP53) изменялась более, чем в 2 раза. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что высокая жизнеспособность МСК в условиях острой гипоксии связана со снижением экспрессии p53 и индукцией экспрессии стратифина и p38delta. Увеличение экспрессии генов SFRP, основных антагонистов Wnt, и подавление экспрессии генов семейства Frizzled, основных рецепторов Wnt, может свидетельствовать об ингибировании как канонического, так и неканонического Wnt-сигналинга при гипоксическом стрессе. Таким образом, Wnt-, Akt- и MAPK- каскады играют важнейшую роль в изменении функциональной активности МСК в условиях гипоксического стресса. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-15-00693.

**ГЕНО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ КОРОНАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**Е.А. Шуман, О.Г. Макеев, А.В. Коротков** Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, Екатеринбург, Россия

Не смотря на успехи кардиологии, ишемическая болезнь миокарда по-прежнему остается преобладающей причиной смертности. Это обусловлено генетически детерминированным возраст-зависимым торможением новообразования сосудов в миокарде в ответ на гипоксию. Введение в миокард генно-терапевтических конструкций с генами, ответственными за процессы неангиогенеза, позволяет сформировать в ишемизированном миокарде полноценную сосудистую сеть и нормализовать нарушенные обменные процессы. Эксперименты проводили на кроликах-самцах породы Шиншилла в условиях неполной окклюзии передней нисходящей коронарной артерии. Животным опытной группы однократно интрамиокардиально вводили плазмиды, включающие четыре активных гена: гипоксией индуцируемых факторов (HIF1a и HIF1b) и факторов роста эндотелиоцитов (VEGF165 и VEGF225) в определенном стехиометрическом соотношении. Введение осуществляли из расчета 50 мкг/см<sup>2</sup> на всю площадь зоны ишемии. В контрольной группе в миокард вводили физраствор. На 30-е сутки после операции и введения плазмид в миокарде достоверно увеличилось количество и длина капилляров, площадь обменной поверхности, что сопровождалось повышением  $pO_2$  в зоне повреждения. При этом наблюдалось формирование анастомозов между вновь образованной сосудистой сетью и сосудами неповрежденной зоны. При формировании полноценного сосудистого русла отмечается нормализация метаболических процессов в зоне поврежденного миокарда, о чем свидетельствует динамика изменения электрокардиограммы при нагрузочной пробе. Таким образом, использование встроенных в векторы комплекса четырех генов позволяет более эффективно стимулировать ангиогенез и ремоделировать сосудистую сеть в ишемизированном миокарде. В свою очередь, эпигеномная локализация генных конструктов и ограниченный срок пребывания в клетке являются достаточными для экспрессии вводимых генов и формирования полноценной сосудистой сети.

**ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ ЭКСОСОМ**

**С.Н. Тамкович<sup>1,2</sup>, О.С. Тутанов<sup>1</sup>, Т.Г. Дужак<sup>3</sup>, Ю.П. Центалович<sup>3</sup>, П.П. Лактионов<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; <sup>3</sup>Институт «Международный томографический центр» СО РАН; <sup>4</sup>Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия

Изучение природных механизмов транспорта эндогенных регуляторных молекул и использование этих механизмов для транспорта экзогенных стимуляторов активности клеток является одной из актуальных задач Регенеративной медицины. Одним из вариантов такого транспорта является транспорт при помощи экзосом. Известно, что эндогенные экзосомы циркулируют в крови, при этом часть экзосом циркулирует в плазме, а не менее половины связано с форменными элементами (ФЭ). Отличаются ли эти пулы экзосом, по строению и составу в настоящее время не известно. В представленной работе мы исследовали состав белков экзосом, свободно циркулирующих в плазме крови и экзосом, связанных с поверхностью ФЭ. Плазма крови и элюаты с поверхности ФЭ были получены по разработанному ранее протоколу (Tamkovich, 2005). Препараты экзосом были получены фильтрацией через 0,1 мкм фильтры и ультрацентрифугированием. Препараты экзосом охарактеризованы при помощи ТЭМ и иммуноцитофлуорометрии. Белки экзосом идентифицировали методом MALDI-TOF с последующим поиском соответствующих кандидатов в аннотированных базах данных NCBI и SwissProt с использованием программы Mascot. При помощи ТЭМ было показано, что экзосомы диаметром 30–100 нм присутствуют как в плазме, так и на поверхности ФЭ, при помощи цитометрии подтверждено наличие характерных для экзосом тетраспанинов. В пилотном эксперименте время-пролетная MALDI TOF/TOF и maXis 4G масс-спектрометрия позволила достоверно идентифицировать 65 белков в составе экзосом крови здоровых женщин (n=4), из которых 42 обнаружены в составе экзосом впервые (согласно базе данных Exosorta на июль 2015). Показано, что 40% белков экзосом плазмы идентичны белкам экзосом, связанных с ФЭ.

Наиболее представлены в составе экзосом плазмы/связанных с ФЭ мембранные и транспортные белки, белки цитоскелета (18%/17%, 16%/19% и 17%/15%, соответственно), белки крови (10%/14%), ферменты (8%/8%) и белки, связывающие нуклеиновые кислоты (8%/9%). Вероятно, детальное исследование не совпадающих 60% белков, характерных только для экзосом, связанных с ФЭ позволит ответить на вопрос о причинах перераспределения экзосом между плазмой и клеточной поверхностью, а также оценить время их циркуляции и транспортную функцию.

### **ЗАВИСИМОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ, СКОРОСТИ РОСТА И ВЕТВЛЕНИЯ АКСОНОВ ОТ АКТИВНОСТИ УРОКИНАЗНОЙ СИСТЕМЫ**

**П.С. Климович, Е.В. Семина, К.Д. Рысенкова, К.А. Рубина, В.А. Ткачук**

*Кафедра биохимии и молекулярной медицины, Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Урокиназная система состоит из урокиназы (uPA), её рецептора uPAR и ингибиторов урокиназы. Помимо хорошо описанного участия урокиназной системы в росте и ремоделировании сосудов, существуют также данные о том, что урокиназная система вовлечена в регенерацию нервной ткани. Мыши, дефицитные по генам uPA и uPAR демонстрируют спонтанное возникновение эпилептических судорог и сниженную скорость восстановления периферических нервов после их повреждений по сравнению с животными дикого типа. Целью данной работы было изучить участие uPA и uPAR в формировании нейритов, а также в регуляции направленного роста аксона и его ветвления *in vitro* и *ex vivo*. В качестве моделей мы использовали *ex vivo* трёхмерную модель эксплантов спинальных ганглиев (СГ) в Матригеле и *in vitro* дифференцированные клетки нейробластомы мыши (Neuro2a). Мы обнаружили, что uPA и uPAR экспрессируются в нейронах как в теле клетки, так и на конусе растущих аксонов, причём на конусах uPA и uPAR со-локализуются друг с другом. Далее, на модели СГ мы обнаружили, что специфическое ингибирование uPA существенно снижает миграцию клеток из СГ в Матригель, а также значительно снижает скорость роста аксонов, что позволяет предположить о важной роли урокиназной системы в этих процессах. По-видимому, эффекты uPA реализуются при взаимодействии со специфическим рецептором uPAR, так как блокирование взаимодействия uPA с uPAR антителами к uPAR изменяет траекторию роста аксонов и усиливает их ветвление, а кроме того, снижает миграцию клеток из СГ в Матригель. Одновременное блокирование uPA и uPAR практически полностью подавляет рост аксонов из СГ в Матригель. Данные, полученные на культуре Neuro2a, подтверждают результаты, полученные на модели *ex vivo*: экзогенное введение uPA в среду культивирования дифференцированных Neuro2a клеток стимулирует рост нейритов, а ингибирование uPA полностью подавляет формирование и рост нейритов. Блокирование uPAR стимулирует образование нейритов *de novo* и усиливает ветвление уже сформированных нейритов. Таким образом, нами было впервые показано, что урокиназная система вовлечена в регуляцию роста и ветвления аксонов и миграцию нервных клеток.

### **ГЕНО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТОК ФИБРОБЛАСТИЧЕСКОГО ДИФФЕРОНА**

**О.Г. Макеев, Е.А. Шуман, А.В. Коротков** *Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия*

Проблема осложнений клеточной терапии многих заболеваний выводит использование аутогенных клеток в число исключительно возможных для клинического использования. Однако, при биологическом старении клетки утрачивают восстановительный потенциал и терапевтическую ценность. Одна из научно обоснованных гипотез старения, приобретающая всё большую популярность, в качестве причины предусматривает активацию мобильных элементов. В связи с этим была выполнена попытка коррекции возрастных изменений в клетках путем «нокдаун» транспозонов, главным образом коротких диспергированных повторов Sine/Alu последовательностей. За основу генной конструкции был взят вектор, подробно описанный в работе Wang [Wang J., et al. Inhibition of activated pericentromeric SINE/Alu repeat transcription in senescent human adult stem cells reinstates self-renewal. Cell Cycle. Volume 10, Issue 17, 2011, которым трансфицировали фибробласты, полученные с ягодичной области трех добровольцев. Как следует из полученных данных, трансфицированные клетки отличаются от контрольной группы большей длиной теломер (на 69% по включению (CCCTAA)<sub>3</sub> в ДНК клеток), повышенным пролиферативным потенциалом трансфицированных клеток (на 23,9% по включению 214С-тимидина в ДНК), большей интенсивностью синтеза коллагена и глюкозамингликанов (на 22% и 18% соответственно) и снижением активности металлопротеиназы. Несмотря на то, что полученные результаты вселяют оптимизм в отношении перспектив аутогенной клеточной терапии, требуются дополнительные исследования механизмов и последствий такого вмешательства.

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПЛАЗМИД, КОДИРУЮЩИХ ГЕНЫ ФАКТОРА РОСТА ГЕПАТОЦИТОВ И АНГИОПОЭТИНА-1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

**Е.В. Семина, П.С. Климович, К.А. Рубина**

*МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, кафедра биохимии и молекулярной медицины, Москва, Россия*

Заболевания, связанные с ишемией нижних конечностей относятся к наиболее значимым причинам смертности и инвалидизации населения России. Существующие хирургические методы применимы только для части больных, а консервативные методы лечения неэффективны у значительной части тяжелых больных. В этой связи помимо медикаментозной терапии, методов эндоваскулярной и хирургической реваскуляризации в активно ведется разработка принципиально новых технологий. Подходом к решению данной проблемы является введение в ишемизированные ткани генетических конструкций с генами ангиогенных факторов, обладающих способностью стимулировать рост новых сосудов и восстанавливать кровоснабжение ишемизированных тканей. В нашей лаборатории для лечения ишемии нижних конечностей проводятся доклинические исследования комбинированного генотерапевтического лекарственного препарата на основе невирусных плазмид, кодирующих гены фактора роста гепатоцитов (HGF) и ангиопоэтина-1 (ANGP1). При изучении биологической активности препарата *in vitro* были получены данные, свидетельствующие о стимулирующем влиянии препарата на пролиферацию эндотелиальных клеток, миграцию мезенхимных стромальных и эндотелиальных клеток, на способность эндотелиальных клеток формировать капиллярно-подобные структуры на Матригеле. При изучении специфической активности препарата на моделях ишемии конечности *in vivo* обнаружено, что при введении препарата в ишемизированную мышцу экспрессия трансгенов

продолжается, как минимум, 14 дней – время, достаточное для активации ангиогенеза и стабилизации вновь сформированных сосудов. При введении в скелетные мышцы препарата регистрировали усиленную продукцию HGF и AGP1, а при введении в ткани с нарушенным кровоснабжением препарат значительно стимулировал восстановление перфузии тканей конечности кровью, их васкуляризацию, уменьшал некроз и способствовал сохранению конечности. Полученные результаты являются актуальными и позволят разработать принципиально новые технологии и подходы к лечению пациентов с ишемией нижних конечностей. Создание и внедрение в медицинскую практику препарата позволит снизить клинические проявления и обеспечить реваскуляризацию конечностей у значительной части больных, для которых существующие консервативные и хирургические методы лечения оказываются неэффективными.

#### **АПОПТОЗНЫЕ ТЕЛА КАРДИОМИОЦИТОВ И ФИБРОБЛАСТОВ СОДЕРЖАТ АКТИВАТОРЫ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА**

**А.И. Тюкавин, Г.Б. Белостоцкая, М.М. Галагудза, Д.Ю. Ивкин, Е.А. Захаров, Н.В. Буркова**

*Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия МЗ РФ; Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Институт эволюционной физиологии и биохимии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

В предыдущих *in vitro* исследованиях было показано, что внесение в культуру клеток миокарда апоптотных тел (АпТ) кардиомиоцитов (КМ), усиливает пролиферацию и дифференцировку кардиальных стволовых клеток (КСК) в составе колоний. В присутствии АпТ КМ частота сокращения колоний в течение 3 недель культивирования увеличивается по сравнению с контролем более чем в полтора раза [Тюкавин и соавт., 2015]. Более того, *in vivo* было установлено, что после внутривенного введения “старым” крысам линии Вистар АпТ КМ сократительная способность их миокарда в 60% случаев возрастает до значений, характерных для миокарда “молодых” животных, в то время как АпТ фибробластов нарушают электрогенез миокарда, что приводит к угнетению сократительной функции сердца. При этом анализ суспензии клеток миокарда (*ex vivo*) показал, что АпТ КМ запускают формирование новых КМ – были выявлены колонии c-kit/ $\alpha$ -actinin-позитивных клеток, тогда как АпТ фибробластов стимулируют развитие эндотелиоцитов из КСК Sca+ типа. Это позволяет предположить, что АпТ КМ содержат биологически активные молекулы, которые стимулируют кардиомиогенез и повышают сократимость сердечной мышцы, а молекулярные эффекторы АпТ фибробластов, по-видимому, способствуют формированию колоний, опосредующих регенерацию эндотелия миокардиальных сосудов. Выделение и идентификация молекул – эффекторов в АпТ открывает перспективу получения биоподобных фармакологических активаторов регенерации миокарда в норме и при патологии за счет ресурса резидентных СК.

#### **АНГИОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АКТИВИРОВАННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ТКАНЕВЫХ ЗНАЧЕНИЯХ КИСЛОРОДА**

**М.И. Ездакова, О.В. Жидкова, О.О. Ударцева, Е.Р. Андреева**

*ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

В настоящее время мезенхимальные стромальные клетки (МСК) рассматриваются как перспективный инструмент в точной и регенеративной медицине. Ангиогенный потенциал МСК обусловлен их способностью активировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток (ЭК). Повреждение ткани ведет к развитию провоспалительного окружения и нарушению функционирования ЭК. Из экспериментов *in vitro* при стандартном атмосферном содержании  $O_2$  известно, что в присутствии провоспалительных цитокинов МСК синтезируют целый ряд биологически активных медиаторов, стимулирующих ангиогенез. Однако, ангиогенные свойства МСК после провоспалительной активации при тканевых значениях  $O_2$  («физиологической» гипоксии) практически не исследованы. Изучение влияния провоспалительного окружения на ангиогенный потенциал МСК может помочь в понимании механизмов «трофического» действия МСК и более эффективного использования этих клеток в терапевтических целях. В экспериментах использовали МСК, постоянно культивируемые при 5%  $O_2$ , для провоспалительной индукции клетки экспонировали в течение 24 часов с IFN- $\gamma$  (500 U/мл). Ангиогенный потенциал МСК *in vitro* характеризовали по изменению концентрации цитокинов (VEGF, MCP-1, ИЛ-6, 8) в кондиционированной среде (КС), и влиянию КС на ненаправленную миграцию эндотелиальных клеток (ЭК) в модели «рана». Эффекты *in vivo* оценивали по влиянию КС от МСК на формирование сосудов в хориоаллантоисе (ХА) эмбриона японского перепела. После провоспалительной индукции МСК в условиях «физиологической» гипоксии в КС было выявлено достоверное снижение содержания ИЛ-8, VEGF и повышение MCP-1 и ИЛ-6. Такое изменение профиля ангиогенных медиаторов в КС от МСК, активированных IFN- $\gamma$ , приводило к снижению способности культивируемых ЭК к миграции. При добавлении КС к ХА было отмечено достоверное (50%) снижение прироста количества сосудов. Таким образом провоспалительная активация IFN- $\gamma$  в условиях моделируемой «физиологической» гипоксии подавляет ангиогенную активность МСК *in vitro* и *in vivo*. Полученные результаты дают основание полагать, что провоспалительная активация МСК *in vivo* может снизить их ангиогенный потенциал, негативно влияя на процессы репаративного ремоделирования. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№14-15-00693).*

#### **ИЗМЕНЕНИЕ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ КАРКАСОВ ЛЕГКИХ ПРИМАТОВ ПРИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ**

**Е.В. Кувейда<sup>1</sup>, Е.А. Губарева<sup>1</sup>, С.В. Крашенинников<sup>2</sup>, Т.Е. Григорьев<sup>2</sup>, И.С. Гуменюк<sup>1</sup>, А.С. Сотниченко<sup>1</sup>, И.В. Гилевич<sup>1</sup>, Д.Д. Карал-оглыз<sup>3</sup>, С.Н. Чвалун<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар; <sup>2</sup>Курчатовский НБИКС-центр НИЦ «Курчатовский институт», Москва; <sup>3</sup>НИИ медицинской приматологии, Сочи, Россия

Методы регенеративной медицины могут стать альтернативой органной трансплантации. Однако даже щадящая обработка детергентами приводит к изменению свойств биологических каркасов. Нами изучены особенности биомеханического поведения трех органокомплексов легких макак-резус (Macaque mulatta) до и после децеллюляризации. Эксплантацию проводили на базе НИИ медицинской приматологии после одобрения протоколов локальным этическим комитетом. Децеллюляризацию легких выполняли последовательной интратрахеальной перфузией водными растворами 2% дезоксихолата натрия и 0,1% Тритона X-100. Морфологическая характеристика образцов осуществлялась после фиксации, дегидратации и

заключении в парафин по стандартной методике. Качество децеллюляризации оценивали при окрашивании гематоксилином и эозином и флуорофором DAPI. Качественное содержание коллагеновых и эластических волокон внеклеточного матрикса (ВКМ) оценивали при иммуногистохимическом исследовании (ИГХ). Количественное содержание белков ВКМ определяли в программе ImageJ. Биомеханические тесты до и после децеллюляризации выполняли на Инстрон 5965 путем циклических испытаний на одноосное сжатие и однократное одноосное сжатие с постоянной скоростью движения зажимов в среде фосфатного буфера. Морфологическое исследование легких после децеллюляризации не выявило значимого повреждения альвеолярной структуры. ИГХ не показало структурных изменений компонентов ВКМ. При количественной оценке после децеллюляризации установлено снижение содержания эластина на 24,35% ( $p=0,0437$ ) при сохранении содержания коллагена. При биомеханических тестах децеллюляризованных легких не наблюдалось существенного падения пиковых нагрузок, что свидетельствует об отсутствии повреждений коллагенового каркаса. В то же время монотонное смещение начала роста напряжения до 55% сжатия по мере увеличения номера цикла «нагрузка-разгрузка» говорит о более низкой скорости релаксации макромолекулярной сетки коллагена, не армированного клеточным компонентом, и снижении эластичности легких. Дополнительное армирование биологического каркаса белками ВКМ позволит предотвратить снижение эффективного объема легкого после децеллюляризации.

### **ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко *Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия*

Изучение процессов регенерации, а также возможности инициации и стимуляции их – одна из главнейших задач современной медицины. Вот почему феномен прекондиционирования вызывает интерес у большинства ученых. Цель исследования: изучить влияние дистантного ишемического прекондиционирования (ДИП) на состояние резецированной печени крыс. Материалы и методы: исследование выполнено на 220 белых крысах линии Wistar массой 210–220 г. Резекцию печени осуществляли на вторые сутки эксперимента в объеме 70%. ДИП проводили 10-минутным пережатием левой бедренной артерии, каждые 48 часов первые семь суток эксперимента. Состояние печени оценивали по показателю летальности, уровню микроциркуляции в печени, выраженности цитолиза, синтетической функции печени и результатам морфологического исследования. Результаты: в контрольной группе показатель летальности 40%. Уровень микроциркуляции в печени снижается на 50% и начинает восстанавливаться лишь после 14 суток, однако к 90 суткам ниже показателя в интактной группе. АлАТ и АсАТ на 2-е сутки  $108\pm 4$  МЕ/л и  $184\pm 7$  МЕ/л, восстанавливаются к 21 суткам. МНО на 7-е сутки –  $4\pm 0,2$ , на 21-е –  $6\pm 0,1$ , на 28-е –  $4\pm 0,1$ ). Масса печени на 2-е сутки увеличивается в 2 раза, к 7-м несколько уменьшается, затем увеличивается, однако на 28-е сутки достоверно меньше массы печени интактных крыс. При микроскопии – на отдаленных сроках сохраняется неравномерное кровенаполнение сосудов, очаги зернистой дистрофии гепатоцитов, очаги склерозирования и воспалительной инфильтрации портальных трактов. В группе с ДИП летальность 15%. Уровень микроциркуляции в группе с ДИП снижается на 15% и восстанавливается до 21-х суток. АлАТ нормализуется на 7-е сутки, АсАТ на 14-е. МНО на 7-е сутки –  $2,8\pm 0,03$ , восстанавливается к 14-м суткам. Масса печени на 2-е сутки увеличивается в 2 раза, достигает показателя интактной группы к 21 суткам. При микроскопии резецированной печени на отдаленных сроках нарушений микроциркуляции и признаков повреждения гепатоцитов в группе с ДИП не выявлено. Выводы: дистантное ишемическое прекондиционирование стимулирует регенерацию резецированной печени крыс.

### **МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОЦЕНКЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТРИЦ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ПРИ СУБКУТАННЫХ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ТЕСТАХ**

А.Н. Иванов<sup>1</sup>, М.Н. Козадаев<sup>1</sup>, И.Е. Шутров<sup>1</sup>, Д.М. Пучиньян<sup>1</sup>, О.В. Матвеева<sup>1</sup>, А.С. Федонников<sup>1</sup>, Ю.Е. Сальковский<sup>2</sup>, Г.П. Любунь<sup>2</sup>, И.А. Норкин<sup>1</sup> <sup>1</sup>Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии; <sup>2</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Перспективы развития регенеративной физиологии и медицины связаны с созданием 3D матриц (скаффолдов), которые могут выступать в качестве субстрата для заселения клетками. При их интеграции в ткани определяющую роль играют функциональные изменения и ремоделирование микроциркуляторного русла, что обусловлено необходимостью обеспечения адекватной трофики при регенерации. В этой связи большой интерес вызывает исследование патогенетических взаимосвязей сдвигов параметров микроциркуляции с процессами заселения скаффолда клетками, а также реактивными изменениями тканей, окружающих матрицу, что и послужило целью настоящего исследования. В ходе проведения субкутанных имплантационных тестов скаффолдов из поликапролактона (ПКЛ) с адсорбированным на их поверхности чужеродным белком выявлены с помощью неинвазивного метода лазерной доплеровской флоуметрии критерии отсутствия биосовместимости матриц: стойкое повышение перфузии кожи над зоной имплантации и снижение миогенного тонуса микрососудов, коррелирующие с динамикой морфологических проявлений воспалительной реакции. При имплантации ПКЛ-скаффолдов без чужеродного белка умеренное транзиторное повышение перфузии, не сопровождающееся выраженными изменениями активных механизмов модуляции локального кровотока, является прогностически благоприятным и соответствует транзиторным альтеративным и экссудативным реакциям, которые оказывают стимулирующее влияние на пролиферативные процессы, обуславливающие васкуляризацию и заселение клетками, что доказывает биосовместимость матриц данного типа. Таким образом, изменения микроциркуляции кожи над областью имплантации матриц соответствуют морфологической картине тканевых реакций, а их исследование с помощью лазерной доплеровской флоуметрии может быть использовано в качестве дополнительного теста для оценки биосовместимости скаффолдов при субкутанных имплантационных тестах.

### **УЧАСТИЕ УРОКИНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И ВЫЖИВАЕМОСТИ НЕЙРОНОВ**

К.Д. Рысенкова, П.С. Климович, Е.В. Семина, К.А. Рубина, В.А. Ткачук

МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, кафедра биохимии и молекулярной медицины, Москва, Россия

Урокиназная система включает в себя сериновую протеазу урокиназу (uPA) и урокиназный рецептор (uPAR). Связывание uPA с uPAR активирует внеклеточный протеолиз и обеспечивает ремоделирование внеклеточного матрикса при регене-



рации сосудов и нервов. uPA также активирует внутриклеточную сигнализацию, стимулирует миграцию и пролиферацию клеток. Урокиназную систему также относят к навигационным молекулам: было показано влияние uPA и uPAR на процессы морфогенеза при регенерации нервов. Мы исследовали влияние uPAR на активацию внутриклеточной сигнализации, дифференцировку в нейроны и выживаемость клеток нейробластомы Neuro2a. Оказалось, что чем дольше по времени дифференцировка в нейроны, тем выше экспрессия uPAR. Через 72 ч после начала дифференцировки экспрессия uPAR была выше на 50% по сравнению с исходным уровнем. При этом uPAR на мембране со-локализовался с рецептором эпидермального фактора роста EGFR – важнейшего маркера дифференцировки, а при гиперэкспрессии uPAR его со-локализация с EGFR возрастала. Известно, что для дифференцировки нейронов важен высокий уровень фосфорилирования EGFR и экспрессия NeuN в ядре. Несмотря на то, что экспрессия uPAR не влияла на экспрессию EGFR и NeuN, тем не менее, блокирование uPAR антителами, препятствующими его взаимодействию с uPA, приводило к быстрому (5 мин) снижению уровня фосфорилирования EGFR, а на более отдалённых сроках (24 ч) подавляло экспрессию NeuN. Кроме того, блокирование uPAR активировало EGFR-зависимую внутриклеточную сигнализацию в нейронах с участием киназ p38 и Akt, и снижало фосфорилирование киназы Erk1/2. Известно, что такая сигнализация в нейронах снижает жизнеспособность клеток и стимулирует апоптоз, поэтому мы оценили пролиферацию и деградацию ДНК в дифференцированной Neuro2a. Оказалось, что блокирование uPAR приводит к 4-х кратному снижению пролиферации, разрушению ДНК и появлению фрагмента (89 кДа) фермента PARP-1, свидетельствующего об активации апоптоза. Таким образом, нами впервые показана роль uPAR в поддержании дифференцированного состояния нейронов: выживаемость нейронов зависит от активности uPAR как на уровне внутриклеточной сигнализации, так и на уровне экспрессии маркеров дифференцировки. Блокирование uPAR снижает пролиферацию нейронов и индуцирует апоптоз в клетках.

### **ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ГЛЮКОЗНОЙ ДЕПРИВАЦИИ И Пониженном Содержании Кислорода**

**М.В. Лобанова, М.И. Ездакова** ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Одной из перспективных методик применения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) является терапевтический ангиогенез. Однако при введении в ишемизированные области ММСК сталкиваются с неблагоприятными условиями микроокружения, которые могут приводить к гибели значительной части клеток в течение нескольких суток после трансплантации. При этом основную роль в повреждении клеток играют отсутствие поступления энергетических субстратов, ростовых факторов и окислительный стресс. Известно, что чувствительность к данным воздействиям может определяться степенью адаптации к парциальному давлению кислорода в среде культивирования *in vitro*. В данной работе была проведена оценка устойчивости ММСК (Annexin V-FITC/PI, проточная цитофлуориметрия), культивируемых в среде с содержанием кислорода 20%, 5% при кратковременном (72 ч) снижении уровня глюкозы до 10% от контроля и изменении концентрации O<sub>2</sub> с 20% и 5% до 1%. Жизнеспособность клеток при 20% и 5% O<sub>2</sub>, а также снижении его содержания с 20% и 5% до 1% была высокой (97–98%). Кратковременная глюкозная депривация приводила к гибели значительной доли ММСК, постоянно культивируемых при 20% и 5% O<sub>2</sub>. Количество живых клеток снижалось до 35–45%, а доля ММСК, окрашенных PI+ или An+PI+, резко возрастала. При этом в культурах, на которые глюкозная депривация оказывала действие совместно со снижением содержания кислорода с 20% и 5% до 1%, жизнеспособность поддерживалась на уровне 94–95%. Данный эффект может быть обусловлен тем, что при снижении содержания кислорода в среде происходит сдерживание роста АФК в клетках. Показано, что уменьшение концентрации глюкозы в среде приводит к увеличению продукции АФК клетками в 1,5–2 раза, а в культурах, подвергавшихся дополнительно снижению содержания кислорода, образование АФК было в среднем на 30% ниже. Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что культивирование в условиях снижения содержания кислорода способствует поддержанию жизнеспособности ММСК при действии глюкозной депривации, что происходит, вероятно, вследствие сдерживания продукции АФК. *Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 16-34-01336 мол\_а.*

### **РОЛЬ ТРАНСПОРТНОГО БЕЛКА ТРАНСТИРЕТИНА И НЕЙРОПЕПТИДАЗЫ НЕПРИЛИЗИНА В ФОРМИРОВАНИИ ПАМЯТИ И РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ**

**И.А. Журавин, Д.С. Васильев, Н.М. Дубровская, Н.Н. Наливаева**

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

Известно, что пренатальная гипоксия, вызванная патологически протекающей беременностью и родами, является одной из главных причин нарушения физического и умственного развития детей. В наших исследованиях на модели острой гипоксии в период беременности крыс установлено, что у потомства наблюдается отставание в развитии, коррелирующее с нарушениями структуры и пластичности нервной ткани, изменение свойств медиаторных систем и систем трансдукции сигналов в коре мозга, гиппокампе и стриатуме, приводящее к когнитивному дефициту в дальнейшем онтогенезе. У животных, перенесших пренатальную гипоксию, выявлено изменение уровня содержания и активности ряда ферментов, метаболизма белка предшественника амилоидного пептида (APP), а также содержания и активности тиреоидных гормонов. В частности, пренатальная гипоксия приводит к снижению содержания и активности нейропептидазы неприлизина (НЕП), являющегося одним из основных ферментов катаболизма амилоидного пептида, патологическое накопление которого приводит к нейродегенерации и болезни Альцгеймера. Эти наблюдения дают основания полагать, что организм после пренатального стресса имеет измененный характер эпигенетической регуляции экспрессии важных нейрональных генов, в результате чего может меняться реакция животных на действие факторов окружающей среды и нарушаться процесс нормального формирования развития и когнитивных функций. Введение животным ингибитора гистондеацетилазы вальпроата натрия приводит к повышению связывания транскрипционного фактора AICD, образующегося при расщеплении APP, с промотером гена НЕП и восстановлению уровня содержания его белкового продукта и энзиматической активности в коре и гиппокампе. Полученные нами данные о сходном механизме эпигенетической регуляции гена транстиретина – переносчика ретинола, амилоидного пептида, а также тиреоидных гормонов, участвующих в развитии организма, открывают перспективы направленной фармакологической регуляции активности ферментов и белков, связанных с транспортом и катаболизмом амилоидного пептида. Это позво-

лит прогнозировать риск возникновения и своевременную коррекцию нейродегенеративных изменений и когнитивного дефицита, связанных с патологией развития. *Поддержано частично РФФИ (проекты 13-04-00388, 16-04-00694) и средствами бюджета по госзаданию 01201351571.*

### **ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ И КОМПЕНСАТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В НОВОЙ МОДЕЛИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У КРЫС**

**И.В. Екимова, Д.В. Плаксина, К.В. Лапшина, А.Р. Газизова, Ю.Ф. Пастухов**

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

Болезнь Паркинсона (БП) широко распространена во всем мире и до сих пор остается неизлечимым заболеванием. Причины неизлечимости – поздняя постановка диагноза и несоответствие традиционного лечения современному представлению о молекулярных механизмах патогенеза БП, в основе которого лежит нарушение конформации белка  $\alpha$ -синуклеина. Эпидемиологические и экспериментальные исследования БП указывают на то, что в 90% случаев основной вклад в конформационные изменения молекулы белка  $\alpha$ -синуклеина вносят нейротоксины: ингибиторы дыхательной цепи митохондрий (пестициды, МФТП и др.) и ингибиторы убиквитин-протеасомной системы (УПС). Существует единое мнение, что создание нейротоксических моделей доклинической стадии БП у животных может ускорить поиск немоторных маркеров и новых молекулярных мишеней для терапии БП. Одной из таких моделей, принятых мировым сообществом, является хроническая модель доклинической стадии БП, созданная с помощью нейротоксина МФТП на мышах. Разработка моделей доклинической стадии БП путем применения ингибиторов УПС ранее никем не проводилась. В нашей лаборатории впервые разработана модель доклинической стадии БП у взрослых крыс Вистар на основе интраназального способа доставки в мозг специфического ингибитора ферментативной активности протеасом лактацистина. Модель характеризуется: 1) наличием патологических  $\alpha$ -синуклеин позитивных включений в нейронах обонятельной луковицы, черной субстанции (ЧС), вентральной тегментальной области и развитием нейровоспаления в этих структурах, 2) вовлечением в дегенерацию различных отделов головного мозга (обонятельной луковицы, нигростриатной и мезокортикальной дофамин (ДА)-эргических систем, 3) допороговым уровнем гибели нейронов в ЧС и отсутствием моторных феноменов, 4) сопряженной активацией компенсаторных процессов, направленных на замедление нейродегенерации и поддержание уровня ДА (судя по увеличению нейропротективных резервов Hsp70 и содержания фермента синтеза ДА тирозингидроксилазы). По совокупности признаков, созданная модель соответствует ключевым патогенетическим характеристикам ранней стадии БП у человека и может быть использована для изучения фундаментальных механизмов работы мозга на начальных этапах нейродегенеративного процесса при БП и разработки новых подходов превентивного лечения.

*Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 16-15-00278).*

### **АНКСИОЛИТИЧЕСКАЯ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРНОГО ПЕПТИДА HLDF-6 НА МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ТРЕВОЖНЫХ РАССТРОЙСТВ**

**Ю.А. Золотарев<sup>1</sup>, Г.И. Ковалёв<sup>2</sup>, Н.В. Кост<sup>3</sup>, М.Э. Воеводина<sup>3</sup>, О.Ю. Соколов<sup>3</sup>, А.К. Дадаян<sup>1</sup>, Е.А. Кондрахин<sup>2</sup>, Е.В. Васильева<sup>2</sup>, А.П. Богачук<sup>4</sup>, В.М. Липкин<sup>4</sup>, Н.Ф. Мясоедов<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН; <sup>2</sup>НИИ фармакологии им. В.В. Закусова; <sup>3</sup>Научный центр психического здоровья; <sup>4</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

При выполнении доклинических исследований амидной формы пептида HLDF-6 в качестве препарата для лечения болезни Альцгеймера и ишемического инсульта было показано его высокая ноотропная и нейропротекторная активность, превосходящая при этом известные препараты сравнения. Ранее было показано, что гормон HLDF (Human Leukaemia Differentiation Factor), впервые обнаруженный в культуре клеток HL-60, присутствует в плазме и спино-мозговой жидкости человека, выполняя важные регуляторные функции. В его составе был идентифицирован шестичленный фрагмент HLDF-6 (41TGENHR46), полностью воспроизводящий дифференцирующую активность полноразмерного гормона. Пептид TGENHR-NH2 обладает высокой способностью восстанавливать нарушенные регуляторные функции в организме, и с этим связана его высокая положительная активность при различных патологиях. Нами было показано, что пептид имеет высокую анксиолитическую активность, превосходящую известные препараты сравнения (Диазепам). Пептид в отличие от препаратов сравнения не имеет отрицательных побочных эффектов и эффективно улучшает память, что делает этот пептид перспективным в плане внедрения в клиническую практику в качестве высокоэффективного противотревожного средства, предназначенного для коррекции психических и неврологических расстройств. Пептид также показал высокую нейропротекторную активность на модели болезни Паркинсона. Это единственный на сегодня в мире препарат, который при хроническом введении восстанавливает нарушенную дофаминергическую систему стриатума – критического отдела мозга при этом заболевании. На основе модели преclinical стадии болезни Паркинсона, вызванной введением мышам умеренных доз (2×15 мг/кг) нейротоксина МФТП, показано, что хроническое интраназальное введение пептида TGENHR-NH2 в течение 3 недель приводит как к ослаблению эффектов, вызванных введением МФТП в тестах “Pole Test” и “Grid Test”, так и к достоверному увеличению уровня дофамина в стриатумах мышей линии C57Bl/6, с 74 до 85% от контроля.

### **АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: ОТ МОДЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ К КЛИНИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ**

**П.А. Сломинский<sup>1</sup>, М.И. Шадрин<sup>1</sup>, С.Н. Иллариошкин<sup>2</sup>, М.В. Угрюмов<sup>3</sup>** *<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН; <sup>2</sup>Научный центр неврологии; <sup>3</sup>Институт биологии развития им. Кольцова РАН, Москва, Россия*

В настоящее время очевиден сложный характер патогенеза болезни Паркинсона (БП) с вовлечением в формирование клинической картины заболевания различных метаболических систем, нарушение функционирования которых приводит к развитию недостаточности дофаминергической системы. Один из возможных подходов к изучению этиопатогенеза заболевания связан с анализом изменения транскриптома в процессе развития патологического процесса. Такой анализ возможен в первую очередь на моделях БП на животных, так как в этом случае возможно изучение разных (в том числе ранних) стадий заболевания и изменений транскриптома в различных структурах мозга. Нами проведен полнотранскриптомный анализ двух

моделей БП модели развернутой клинической стадии (введение 6-ГДА в стриатум крыс) и моделей ранней и доклинической стадии БП (введение различных доз МФТП мышам). Кластерный анализ полученных при этом данных позволил выявить основные метаболические процессы, связанные с развитием заболевания как ранее описанные и четко связанные с патогенезом БП (митохондриальная дисфункция, убиквитин-зависимый протеолиз белков), так и новые, играющие важную роль на ранних этапах патогенеза (везикулярный транспорт). Полученные данные полнотранскриптомного анализа были сопоставлены с данными полнотранскриптомного анализа мРНК лимфоцитов периферической крови пациентов с БП и было показано, что и в лимфоцитах пациентов с БП изменена экспрессия генов, связанных с процессами везикулярного транспорта. Детальный анализ уровня мРНК отдельных генов в периферической крови пациентов с БП позволил выявить несколько генов, уровень экспрессии которых изменен на самых ранних стадиях развития патологического процесса при БП – но не при других нейродегенеративных заболеваниях. С другой стороны, моделирование БП на грызунах может быть использовано для поиска новых методов терапии БП. Один из возможных подходов к такой терапии связан с активацией экспрессии эндогенных нейротрофинов. Изменение экспрессии генов нейротрофинов и их рецепторов наблюдается у крыс 6-ГДА индуцированным паркинсонизмом и нами показано, что уровень мРНК этих генов изменяется в ответ на введение аналогов природных нейропептидов, DNP5-5 и АКТГ(4–10). Можно предположить, что эти пептиды могут влиять на компенсаторные возможности дофаминергической системы мозга.

### **ОСОБЕННОСТИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ В МОДЕЛЯХ ХРОНИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЙ МОЗГА**

**М.Ю. Степанчев, Н.А. Лазарева, О.А. Недогреева, Н.В. Гуляева**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Нейродегенеративные заболевания (НДЗ) представляют собой вызов для исследователей в области нейробиологии. Современные методы лечения НДЗ не приводят к выздоровлению пациентов. Это обусловлено, в частности, отсутствием полного понимания патогенеза НДЗ. Основной характеристикой большинства НДЗ является гибель популяций нейронов, как правило, обладающих сходной медиаторной специфичностью и расположенных в определенных областях головного мозга. Дегенеративные изменения в клетках начинаются намного раньше, чем возникают клинические симптомы патологии. Важной характеристикой начала нейродегенеративного процесса в мозге является нарушение синтеза белка, вызванное дисфункцией рибосом. Это может объяснять появление на ранних стадиях заболеваний нейромедиаторного дефицита, в результате значительного снижения содержания и/или полного исчезновения основных ферментов синтеза нейромедиаторов в нейронах. На модели нейродегенерации у крыс, вызванной бета-амилоидным (БА) пептидом (25–35), нами было показано снижение числа нейронов, экспрессирующих холинацетилтрансферазу (ХАТ), в медиальной перегородке. При этом не отмечалось выраженной клеточной гибели. Более того, уровень экспрессии мРНК ХАТ в этом отделе мозга был сходен с таковым у контрольных животных. Это дало основания предположить, что снижение уровня ХАТ могло быть связано с нарушением трансляции. Начало нейродегенеративного процесса может быть связано с изменением трофического обеспечения нейронов, в частности, недостаточной продукцией, секрецией, аберрантным процессингом и/или рецепцией нейротрофических факторов семейства нейротрофинов. Это характерно для экспериментальной патологии, вызванной БА(25–35) у крыс. С другой стороны, возникновение холиннергического дефицита при бульбэктомии у мышей связано со снижением содержания фактора роста нервов в мозге. Холиннергические нейроны подвержены нейродегенерации при болезни Альцгеймера. Можно предположить, что нарушение нейротрофинового сигналинга, экспрессии ХАТ и утрата медиаторной специфичности являются ранним и определяющим дальнейшую судьбу нейрона звеном в развитии нейродегенеративной патологии. *Работа поддержана РФФИ, проект № 16-04-01054а.*

### **НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЯ И НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ – СОПРЯЖЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**А.А. Колачева**

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

В основе патогенеза болезни Паркинсона (БП) лежит прогрессирующая дегенерация нигростриатных дофаминергических (ДА-ергических) нейронов, тела которых локализованы в черной субстанции (ЧС), а их аксоны проецируются в стриатум. Важнейшее направление терапии БП – поиск нейропротекторов, которые смогут замедлить гибель нейронов. Цель данной работы – исследование динамики дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов на модели ранней клинической стадии БП у мышей для ее использования в качестве тест-системы для оценки эффективности нейропротекторов. Модель ранней клинической стадии БП у мышей воспроизводили четырехкратным введением специфического токсина ДА-ергических нейронов (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина, МФТП) с интервалом 2 ч в дозе 12 мг/кг. Показано, что дегенерация тел ДА-ергических нейронов начинается через 4 ч после последней инъекции МФТП и продолжается 2, а количество аксонов в стриатуме уже снижено через 2 ч после двух инъекций МФТП, и их деградация идет еще в течение 8 ч. Оценку функционального состояния ДА-ергических нейронов осуществляли по активности тирозингидроксилазы, скорость-лимитирующего фермента синтеза ДА, а также по содержанию фермента и уровню ДА. Активность и содержание ДА в ЧС падают через 3 ч после последней инъекции МФТП до 50% и 25% соответственно, и увеличиваются к 24 ч (активность ТГ восстанавливается до контроля, а содержание ДА до 70%), при этом содержание ТГ в нейронах не изменяется. В стриатуме активность ТГ через 3 ч в значительной степени снижена (5%), но постепенно восстанавливается до 32%. Содержание ТГ в аксонах также ниже контрольного уровня, что приводит к значительному дефициту ДА в стриатуме (10% от контроля) на всех исследованных сроках. Для проверки эффективности применения динамики дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов в качестве тест-системы использовали номифензин – ингибитор обратного захвата ДА. Введение номифензина с МФТП и отдельно МФТП приводит к снижению ДА-ергических аксонов в стриатуме через 12 ч после последней инъекции МФТП на 10% и 50% от контроля соответственно. Таким образом, охарактеризована динамика дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов и доказана возможность ее использования в качестве тест-системы для оценки эффективности потенциальных нейропротекторов.

**ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА РАННЕГО ПАРКИНСОНИЗМА: СОВМЕСТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММ, ЭЛЕКТРОМИОГРАММ И ТРЕМОРА****Ю.В. Обухов, И.А. Малюта, К.Ю. Обухов***Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Московский физико-технический институт, Москва, Россия*

В докладе описаны новые методы анализа динамики электроэнцефалограмм ЭЭГ, электромиограмм (ЭМГ) и тремора, полученные при их помощи новые маркеры диагностики ранней стадии болезни Паркинсона (БП) и представлены результаты классификации раннего паркинсонизма по этим маркерам. Проведено ЭЭГ обследование 73 человек, из них 30 пациентов с дрожательной формой болезни Паркинсона, 14 – с ригидной формой, 10 – со смешанной дрожательно-ригидной, 19 – с акинетико-ригидной и 31 человек группы контроля. Также проведены совместные обследования ЭЭГ, ЭМГ и тремора другого 31 пациента с БП дрожательно-ригидной формы на 1-й стадии по шкале Хен–Яра и 18 человек из контрольной группы. Анализ сигналов выполнялся с помощью вейвлет-преобразования Морле. Для количественного анализа динамики частотно-временных распределений локальных максимумов использовались динамические и интегральные гистограммы экстремумов. Обнаружено, что на начальной стадии БП экстремумы вейвлет спектрограмм тремора и огибающей ЭМГ в "больших" конечностях частотно коррелируют с экстремумами в моторной зоне контралатерального полушария. Напротив, сигналы в еще "здоровых" конечностях не скоррелированы с ЭЭГ контралатерального еще "здорового" полушария мозга. Величина экстремумов тремора в «больной» правой руке в несколько раз больше таковой в «здоровой» левой руке. Это означает, что наличие ритма ЭЭГ в низкочастотном диапазоне 4–6 Гц и его межполушарная асимметрия, является признаком паркинсонизма на ранней стадии. Другим набором признаков является увеличенная дезорганизация динамических гистограмм вейвлет гистограмм ЭЭГ при БП в частотном диапазоне выше тета ритм  $f > 6$  Гц. Для классификации БП на начальной стадии использовалась логистическая модель бинарной классификации в пространстве ЭЭГ признаков БП, в которой зависимая переменная, т. е. результат диагностического вывода, принимает два значения  $\{0,1\}$ , где 0 означает "здоров" и 1 – "болен". Точность диагностики начальной стадии БП по набору признаков ЭЭГ превышает 80%, а при наборе признаков ЭЭГ и тремора превышает 90%.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ СНА НА НАЧАЛЬНОМ ЭТАПЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ПРОТЕАСОМНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ****Ю.Ф. Пастухов, В.В. Симонова, М.А. Гузеев, И.В. Екимова***Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Белки отвечают за все процессы в мозге и организме. Нарушения укладки белков являются наиболее серьезной угрозой для выживания нервных клеток и молекулярной основой старения мозга и развития нейродегенеративных заболеваний. Убиквитин-протеасомная система (УПС) препятствует этим нарушениям, осуществляя своевременную и избирательную деградацию большинства аномальных белков, включая ключевые регуляторные белки. В исследовании *postmortem* у пациентов с болезнью Паркинсона (БП) найдены отчетливые признаки ослабления функции УПС в структурах мозга, особенно в черной субстанции (ЧС). Ранее нами впервые показано, что природный ингибитор УПС лактацистин (ЛЦ) при введении в ЧС воспроизводит у крыс Вистар симптомы доклинической стадии БП, а парадоксальный сон (ПС) может служить ранним немоторным признаком БП. Известно, что почти все пациенты с БП имеют расстройства сна, но нет единого мнения, какие из них могут быть использованы в качестве ранних маркеров БП. Задача настоящего исследования – определить нарушения сна в новой модели доклинической стадии БП у крыс при интраназальной доставке ЛЦ, вовлекающей в дегенерацию различные отделы головного мозга (не только ЧС). Установлено, что ослабление функции УПС приводит к отчетливой перестройке микроструктуры медленноволнового сна (МВС): уменьшению длительности эпизодов, увеличению их числа и представленности в них микроактиваций, прогрессирующему снижению глубокого МВС (дельта сна), а также возрастанию общего времени состояния дремоты. Эти изменения свидетельствуют, что на начальном этапе нейродегенерации сон становится более фрагментарным и поверхностным. Поскольку с дельта сном связывается реализация ключевой биологической функции – повышения скорости синтеза белков, то его уменьшение может способствовать снижению восстановительной функции нервных клеток и ослаблению молекулярных механизмов противодействия нейродегенерации. Выявленные ранние нарушения сна могут послужить основой для поиска немоторных маркеров доклинической стадии БП в клинических исследованиях. *Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 16-15-00278).*

**МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ АВ ПЕПТИДОМ****О.В. Галзитская, О.М. Селиванова, А.К. Сурин, Е.И. Григорашвили, В.В. Марченков, М.Ю. Суворина, У.Ф. Джус, Н.В. Довидченко***Институт белка РАН, Пуццо, Россия*

Как показали недавние исследования – амилоидообразование в некоторых случаях является патологическим процессом (образование бляшек в мозгу при болезни Альцгеймера), в то время как в других случаях может являться адаптационной особенностью организма. По упрощенной схеме процесс формирования фибрилл проходит в три основные стадии: измененное состояние мономера, формирование олигомерной структуры и образование зрелых фибрилл. Самый загадочный момент в этой схеме – процесс перехода олигомера в зрелую фибриллу. Вопрос о размере зародыша фибрилл остается открытым. Изучение амилоидных структур и процесса их формирования были проведены для синтетических и рекомбинантных препаратов Аβ40 и Аβ42. После того, как экспериментальные данные были проанализированы, то выяснилось, что процесс амилоидообразования как для Аβ40, так и для Аβ42 пептидов проходит по сценарию ветвления с образованием ядер вторичной нуклеации. Стоит отметить, что размеры ядер (как первичной, так и вторичной нуклеации) для агрегатов Аβ42 пептида оказались больше, чем для агрегатов Аβ40 пептида. Так, ядро фибриллы Аβ42 равно 3 мономерам, а ядро вторичной нуклеации 2, в то время как для фибрилл Аβ40 размеры ядер равны 2 и 1 мономерам. Одним из аспектов изучения амилоидогенеза является определение участков белковой цепи, формирующих остов амилоидной фибриллы. Нами были теоретически предсказаны амилоидогенные участки пептида Аβ40, способные формировать амилоидную структуру – это участки 16–21 и 32–36 а.о. При помощи метода тандемной масс-спектрометрии эти участки были определены экспериментально. Показано, что участки пептида Аβ40 с 16 по 22 и с 28 по 40-й а.о. устойчивы к воздействию протеаз, т.е. есть входят в остов амилоидной

фибриллы. Полученные нами результаты хорошо коррелируют с результатами теоретического предсказания. Детали механизма формирования фибрилл оказались довольно необычными в выбранных нами экспериментальных условиях. Оказалось, что мономером фибриллы служит не одиночный пептид, а олигомер, состоящий из нескольких пептидов, уложенных в виде кольца. К тому же морфология фибрилл, по-видимому, представляет собой стопки колец, «склеенных» пересекающимися частями – феномен, ранее не описанный в литературе. *Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (#14-14-00536), 04.06.2016*

**ОДНОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ АГОНИСТА ЭНДОКАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ WIN-55,212-2 ПОСЛЕ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОДАВЛЯЕТ РАННЮЮ СУДОРОЖНУЮ АКТИВНОСТЬ, НО НЕ ПРЕДОТВРАЩАЕТ РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС**

**Е.М. Сулейманова, Л.В. Виноградова**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Эндоканнабиноидная система играет важную роль в ограничении синаптической передачи, препятствуя распространению избыточного возбуждения. Активация эндоканнабиноидных рецепторов подавляет выброс глутамата, оказывая острый антиконвульсантный эффект. Целью данной работы было изучение влияния ранней стимуляции эндоканнабиноидной системы на эпилептогенез, вызванный эпилептическим статусом (ЭС). Исследование проводили на литий-пилокарпиновой модели ЭС и височной эпилепсии у крыс. Через 4 часа после окончания ЭС крысам вводили агонист эндоканнабиноидных рецепторов WIN-55,212-2 (5 мг/кг), контрольной группе вводили эквивалентный объем растворителя (5% DMSO, 1% Tween-80). Регистрация ЭЭГ активно передвигающихся крыс проводилась с помощью системы NeuroLogger (TSE Systems, Германия), для чего за 2 недели до ЭС крысам вживляли кортикальные и гиппокампальные электроды. Дополнительно проводили видеорегистрацию поведения крыс. Для оценки электрографических и поведенческих изменений в ранний постстатусный и латентный периоды эпилептогенеза анализировали записи, полученные в первые 34 часа после окончания ЭС, и две 30-часовые записи, полученные через 1 и 2 недели после ЭС. Для оценки частоты возникновения спонтанных судорог в хронический постстатусный период мониторинг продолжали в течение 5 месяцев. В первые два дня после ЭС у крыс наблюдались спонтанные неконвульсивные и конвульсивные эпилептические приступы. У крыс, получивших WIN, частота и тяжесть конвульсивных приступов была значительно ниже, чем у контрольных крыс. Через 1–2 недели после ЭС таких приступов больше не наблюдалось, но появились короткие неконвульсивные разряды частотой 4–6 Гц. У крыс, получивших WIN, число таких разрядов было достоверно меньше, чем у крыс контрольной группы. Через 5 месяцев после ЭС спонтанные судороги развились приблизительно у 50% крыс в обеих группах. Средняя частота возникновения приступов в день составила  $2.25 \pm 0.9$  у контрольных крыс и  $2.06 \pm 0.9$  у крыс группы WIN. Таким образом, введение агониста эндоканнабиноидных рецепторов подавляло эпилептическую активность в ранний период после ЭС, но не влияло на развитие спонтанных судорог в хронический постстатусный период. *Работа проводилась при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проекты №№ 14-04-01184, 16-34-01282.*

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА E. COLI И ЭКСАЙТОТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ ГЛУТАМАТА НА НЕЙРОНЫ В КУЛЬТУРЕ**

**А.М. Суриин<sup>1,2,3</sup>, З.В. Бакаева<sup>1</sup>, И.А. Красильникова<sup>1</sup>, И.И. Бабкина<sup>3</sup>, О.Ю. Лисина<sup>2,4</sup>, И.В. Чеботарь<sup>1</sup>, В.Г. Пинелис<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Научный центр здоровья детей МЗ РФ; <sup>2</sup>НИИ общей патологии и патофизиологии РАН; <sup>3</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогов; <sup>4</sup>Московский технологический университет, Москва, Россия*

Инфекции центральной нервной системы относятся к наиболее тяжелым формам заболеваний в силу неврологических осложнений с длительными последствиями и высокой смертностью. Фрагменты клеточной стенки и экзотоксины бактерий вызывают чрезмерную продукцию провоспалительных и апоптотических сигнальных молекул, приводящих к повреждению и гибели клеток мозга. С другой стороны, показано, что при инсультах, черепно-мозговой травме и некоторых нейродегенеративных заболеваниях развивается гиперстимуляция ионотропных глутаматных рецепторов (глутаматная эксайтотоксичность), которая сопровождается экспрессией воспалительных и проапоптотических факторов, участвующих и в механизме действия бактериальных токсинов. В настоящей работе исследовано влияние бактериального эндотоксина (липолисахарида *E. coli*, ЛПС), нейротоксических доз глутамата и сочетанное действие этих факторов на изменения внутриклеточной концентрации свободного  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ) и выживаемость клеток в культивируемых гранулярных нейронах из мозжечка крысы. ЛПС (0,1 и 1 мкг/мл) не влиял на уровень  $[Ca^{2+}]_i$  в покоящихся нейронах и не увеличивал доли нейронов, в которых глутамат (Glu, 100 мкМ) индуцировал отсроченную  $Ca^{2+}$  дисрегуляцию. Однако ЛПС значительно замедлял восстановление пониженного уровня  $[Ca^{2+}]_i$  после прекращения действия Glu. Деполаризация митохондрий в постглутаматный период показала, что замедление восстановления  $[Ca^{2+}]_i$  связано с повышенным содержанием  $Ca^{2+}$  в матриксе митохондрий после совместного действия ЛПС и Glu. ЛПС (1 мкг/мл) и Glu снижали выживаемость культивируемых нейронов мозжечка соответственно на 20% и 60–70%. Сочетанное действие ЛПС и Glu дополнительно понижало долю выживших нейронов до 10–20% по сравнению с одним Glu. Таким образом, впервые показано, что бактериальный эндотоксин ЛПС может усиливать эксайтотоксическое действие Glu на культивируемые нейроны. Возможно, увеличение токсического действия высоких доз Glu обусловлено повышенным поглощением  $Ca^{2+}$  митохондриями в присутствии ЛПС. *Исследование поддержано грантами РФФИ 14-04-90450, 15-04-07885, 16-04-00792 и 16-04-01528.*

**ГАМКЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГИППОКАМПА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ ОСИ ПРИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**

**А.Е. Умрюхин<sup>1,2</sup>, И.А. Шафаревич<sup>1</sup>, Е.А. Чижонкова<sup>1</sup>, М.А. Оплатчикова<sup>1</sup>, А.Р. Гатапов<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ; <sup>2</sup>НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва, Россия*

В соответствии с представлениями теории функциональных систем П.К. Анохина, получившей развитие в научной школе К.В. Судакова, достижение необходимого организму социального или биологического результата выступает системообразующим фактором, организующим включение и динамическое взаимодействие процессов организма, обеспечивающих дос-

тижение приспособительного результата. В условиях конфликтных ситуаций, порождающих психоэмоциональный стресс, первичные реакции развиваются в структурах головного мозга с последующим вовлечением в процессы адаптации периферических механизмов. Гиппокамп среди ряда функций играет роль надгипоталамического центра, контролирующего активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Механизмы его действия на паравентрикулярные ядра гипоталамуса включают как глюкокортикоид зависимые пути, так и глюкокортикоид независимые влияния. Важную роль в обеспечении тонических длительных функций мозга и состояний организма играют механизмы несинаптической, или диффузной нейропередачи (Vizi E.S., 1998).

В проведенных нами опытах с помощью метода микродиализа было выявлено возрастание содержания ГАМК в дорсальном гиппокампе у поведенчески активных крыс линии Вистар во время часовой иммобилизации. На фоне иммунизации активных крыс конъюгатом глутамата с БСА содержание ГАМК не изменялось во время стрессорной нагрузки, однако увеличивалось в пять раз после ее окончания. Увеличение содержания ГАМК после окончания стрессорной нагрузки сопровождалось у иммунизированных крыс снижением содержания кортикостерона в крови. Иммунизация крыс конъюгатом глутамата также сопровождалась усилением экспрессии фермента синтеза ГАМК – глутаматдекарбоксилазы 67. На основании результатов экспериментов можно сделать заключение о том, что иммунизация конъюгатом глутамата с БСА специфически изменяет гиппокампальные ГАМКергические механизмы стрессорной нагрузки. В основе повышения уровня ГАМК в гиппокампе может лежать повышение экспрессии фермента синтеза ГАМК – глутаматдекарбоксилазы 67. Повышение уровня ГАМК в гиппокампе после стрессорной нагрузки сопровождается снижением содержания кортикостерона в крови. Таким образом, в основе глюкокортикоид-независимого подавляющего влияния гиппокампа на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового механизма может лежать повышение внеклеточного уровня ГАМК в дорсальном гиппокампе.

### **ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ И ДРАМАТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА: ЛЕТАЛЬНЫЙ ИСХОД ИЛИ АДАПТАЦИЯ**

**Н.М. Парамонова<sup>1</sup>, Д.М. Морозова<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Считается, что в первые 72 часа после травмы мозга происходят процессы, определяющие тяжесть и исход травмы. Огнестрельные ранения мозга, в ряду экстремальных факторов весьма актуальные и в мирное время, вызванные фокусированным высокоскоростным ударом, могут с первых минут модифицировать клеточные мембраны и макромолекулы даже в случаях закрытой ОЧМТ, без повреждения костей черепа и образования раневого канала. Для выявления возможных причин ранней гибели в экспериментальной модели ОЧМТ у кроликов, погибших в первые минуты после ранения, исследовали ультраструктурные изменения неокортекса и гиппокампа в отдаленной от места удара зоне т. н. «молекулярного сотрясения». Пробоподготовку проводили по стандартной для электронной микроскопии прописи. На фоне реактивных изменений системы микроциркуляции наблюдали острый отек некоторых отростков нервных и глиальных клеток, окруженных обычным, малоизмененным нейропилем. Оптически пустые, резко расширенные профили не всегда дифференцируемых отростков образовывали друг с другом и соседними клетками протяженные и многочисленные контакты по типу *gap* и *tight junction*, формируя цепочки из 4-6 (и более) звеньев, в состав которых входили и нервные и глиальные структуры. Длина *gap junction* в травмированной коре на порядок больше, чем в норме (в гиппокампе – в 6-8 раз больше). Предполагаем, что энергия снаряда приводит к внутриклеточному превращению связанной воды в свободную, что резко увеличивает объем клетки (Ling, 2001), а ударная волна распространяет отек вдоль всего нейрона (глии) и его отростков. Это в свою очередь способствует образованию многочисленных *gap junction* с соседними клетками на всех возможных участках. Обладая энергетически более выгодной проводимостью нервных импульсов по сравнению с химическими синапсами, щелевые контакты в данном случае создают по сути спонтанный электрический синцитий, что может вызвать дезинтеграцию жизненно важных функций всего мозга и привести к мгновенной гибели. У животных, проживших несколько часов после ранения, основная масса первичных, спонтанно образованных щелевых контактов инволюировала, по-видимому, за счет уменьшения внутриклеточных отеков и диффузии воды в межклеточные пространства. На вторые сутки увеличилось число *gap junctions*, локализованных вблизи активных зон синапсов с морфологическими признаками нарушений передачи нервных импульсов, указывая на их компенсаторную роль в процессе адаптации к травме.

### **ВЛИЯНИЕ НАРКОЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ**

**Д.Н. Силачѳв<sup>1</sup>, Э.А. Усатикина<sup>1</sup>, И.Б. Певзнер<sup>1</sup>, Л.Д. Зорова<sup>1</sup>, В.А. Бабенко<sup>1</sup>, М.В. Гуляев<sup>2</sup>, Ю.А. Пирогов<sup>3</sup>, Е.Ю. Плотников<sup>1</sup>, Д.Б. Зоров<sup>1</sup>** <sup>1</sup>НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Факультет фундаментальной медицины, МГУ имени М.В. Ломоносова; <sup>3</sup>Физический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Ишемическое прекондиционирование (ИП) вызывает адаптацию органа в ответ на короткий период ишемии, защищающая его от последующей пролонгированной ишемии и реперфузионного повреждения. Известно также явление удаленного ИП (УИП), когда короткие периоды ишемии/реперфузии в одном органе могут защитить другой орган от патологического воздействия. Исследования эффективности УИП задних конечностей с использованием различных протоколов, в том числе с применением наркотических препаратов, достаточно противоречивы, а механизмы реализации нейропротекторного действия УИП изучены недостаточно. Внедрение применения УИП в клиническую практику требует дополнительных исследований, в том числе в контексте взаимодействия с наркотическими препаратами. Целью данной работы было изучить механизм развития ишемической толерантности головного мозга при ИП других органов, а также оценить влияние наркотических препаратов на этот феномен. Ишемию головного мозга крысы вызывали окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА) путем введения покрытой силиконом нейлоновой нити. Объем инфаркта головного мозга определяли через 24ч методом МРТ. Поведенческие тесты проводились за 1 сут до операции и через 1 сут после ОСМА. УИП задних конечностей проводили за 24ч до ОСМА 3-кратными периодами ишемии/реперфузии (5+5 мин) на фоне хлоралгидрата (ХГ), золетила или без наркоза. Было показано, что УИП на фоне ХГ и золетила вызывает снижение объема повреждения мозга на 25% и 45%, соответственно, и уменьшает неврологические симптомы. УИП без анестезии приводило только к снижению неврологического дефицита. Анестезия с помощью ХГ или золетила сама по себе оказывала прекоординирующее воздействие на головной мозг, так, и ХГ,

и золетил при введении за 24ч до ОСМА улучшали сенсомоторные функции, а золетил дополнительно снижал объем повреждения мозга. В то же время УИП без применения наркоза значительно повышало уровень таких цитопротекторных сигналов как фосфорилированная форма GSK-3 $\beta$ , BDNF и HSP70 в мозге через сутки после нанесения прекодиционирующих стимулов. Таким образом, наблюдается синергетическое действие УИП и наркотических препаратов приводящее к усилению нейропротекции. *Работа поддержана грантом РФФИ 15-34-20074.*

### **ЭКСПРЕССИЯ ГЛИКОПРОТЕИНА-P В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ НА ФОНЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

**Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.В. Шулькин, М.В. Гацаного**

*Рязанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Рязань, Россия*

Гликопротеин-P (Pgp) – АТФ-зависимый белок-транспортёр, локализованный в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ) и препятствующий абсорбции в мозг ряда лекарственных средств. Цель работы – оценить экспрессию Pgp в ГЭБ на фоне окклюзии общей сонной артерии и окклюзии-реперфузии и ее зависимость от редокс-статуса ткани мозга. Работа выполнена на 90 крысах-самцах wistar, разделенных на 3 группы: интактные животные (n=6), крысы, которым окклюзировали общую сонную артерию в течение 30, 60, 90 мин, 4, 12 ч, 5 и 14 суток (n=42) и животные, которым моделировали 30-минутную ишемию мозга с реканализацией той же длительности (n=42). Гистологический материал подвергали стандартной иммуногистохимической обработке. В ткани мозг также определяли выраженность окислительного стресса. В ходе исследования установлено, что экспрессия Pgp уменьшалась через 12 ч окклюзии на 59,2%, а на 5-е сутки увеличивалась на 65,9%. Ишемия-реперфузия приводила к снижению экспрессии Pgp через 4 и 12 ч после реперфузии на 61,3% и 74,8% соответственно. При ишемии концентрация ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) возрастала через 1,5 ч на 27,5% и оставалась повышенной до 14-х суток. Уровень сульфгидрильных (SH) групп снижался через 60 мин на 29,2%, оставался сниженным до 12-го ч, затем от нормы не отличался. Активность глутатионпероксидазы (G-per) снижалась через 1,5 ч на 26,7%, оставалась сниженной до 12-го ч и нормализовалась к 5-м суткам. При окклюзии-реперфузии уровень ТБК-РП увеличивался через 30 мин после реперфузии на 84,9% и оставался достоверно повышенным до конца эксперимента. Концентрация SH-групп снижалась через 30 мин на 25,3%, нормализовалась к 12-му ч и вновь снижалась к 5-м суткам наблюдения. Активность G-per снижалась через 60 мин на 39,1%, а затем повышалась до нормы к 5-му дню эксперимента. Выявлена зависимость между экспрессией Pgp и активностью G-per в ткани мозга  $R_s=0,352$ ,  $p=0,024$ . *Работа поддержана грантом РФФИ 16-44-620292 p\_a.*

### **ГЕОМЕТРИЯ ПОРЫ КАК ОТРАЖЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГАМКА РЕЦЕПТОРА**

**А.В. Россохин** *Научный центр неврологии, Москва, Россия*

Рецептор  $\gamma$ -аминоасляной кислоты типа А (ГАМКАР) опосредует процессы быстрого торможения в ЦНС. Проницаемость поры ГАМКАР для проникающих ионов, а также для молекул блокаторов, связывающихся в пору, зависит от площади поперечного сечения поры. Существующие оценки размеров поры ионных каналов получены в статических структурах. Мы исследовали, как диаметр поры ГАМКАР зависит от геометрии M2 спиралей и конформации боковых цепей аминокислотных остатков, образующих стенки поры. Мы построили модели  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$  ГАМКАР, соответствующие открытому, закрытому и десенситизированному состояниям, на основе рентгеновской структуры  $\alpha 3$  глицинового рецептора, ЭМ структуры  $\alpha 1$  глицинового рецептора и рентгеновской структуры  $\beta 3$  ГАМКАР, соответственно. Мы использовали метод Монте-Карло минимизации энергии, чтобы определить насколько диаметр поры может увеличиваться в результате отталкивания гибких боковых цепей от электронейтрального псевдо-атома переменного диаметра, который протягивали вдоль оси поры. Мы показали, что диаметр поры, определенный в статической структуре ГАМКАР, является существенно недооцененным. В среднем по всей длине поры различие динамической и статической оценок составляет приблизительно 3 Å. Построенные нами модели выявили сужения поры на уровнях колец остатков -2', 9' и 20', диаметры которых зависят от функционального состояния рецептора. Известно, что кольца -2' и 9' формируют десенситизационные и активационные ворота рецептора. Наши результаты позволяют предсказать, что кольцо 20' также выполняет воротные функции. Мы показали, что гибкость боковых цепей остатков -2', 9' и 20' зависит от функционального состояния ГАМКАР, таким образом, отражая различие в плотности упаковки трансмембранного домена в закрытом, открытом и десенситизированном состояниях. ГАМКАР являются мишенью для эндогенных и экзогенных блокаторов и модуляторов, многие из которых связываются в пору канала. В районе цитоплазматического вестибюля поры находится зона связывания неконкурентных блокаторов, таких как пенициллин, пикротоксин, различных инсектицидов. Корректная оценка размеров поры позволяет предсказать доступность специфического сайта связывания для лигандов различной химической структуры и размера. *Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант №15-04-02010.*

### **ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КОРЫ И МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО И МРТ-МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ.**

**Е.И. Краснощкова, П.А. Зыкин, Л.А. Ткаченко, Р.А. Насыров** *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия*

С развитием методов магнитно-резонансной томографии неизменный интерес исследователей и врачей привлекает организация межполушарных связей коры мозга детей разного возраста, как здоровых, так и с заболеваниями ЦНС различного генеза. В настоящем исследовании проводили морфометрический анализ мозолистого тела, corpus callosum – CC, на срединных сагитальных томограммах мозга недоношенных раннего грудного возраста (n=6) и детей 2-11 лет с диагнозом ДЦП (n=60). Для сравнения исследовали томограммы мозга ровесников детей указанных групп без неврологических патологий по заключению невролога и радиолога (n=60). Принимая во внимание строгою топографию каллозальных волокон, возрастную динамику мозолистого тела, а также его гипоплазии, связывают с закономерностями развития или поражения определенных областей коры. Собственная разработка метода объективной оценки состояния CC основана на анализе закономерностей пренатального кортикогенеза. Исследование проведено с помощью иммуномаркеров элементов цитоскелета (MAP2 и N200), рилина, кальций-связывающих протеинов. Всего изучено 11 правых полушарий мозга плодов в возрасте 18-28 недель геста-

ции, без патологий, по заключению патологоанатома, и с отрицательной реакцией на нейроинфекции: герпес, цитомегаловирус, Эпштейна-Барр. Отмечен гетерохронный характер развития коры, установлено, что первые MAP2-позитивные нейроны появляются в слое eV коры верхней височной, задней лобной и передней теменной долей к 20 неделе гестации, в течение второго триместра их количество возрастает, клетки появляются и в слое eIII. В других областях коры в этот период MAP2-позитивные клетки не выявлены. Основываясь на том, что MAP2 маркирует не только стадии дифференцировки нейронов, но и критический период их развития с повышенной уязвимостью, учитывая локализацию таких клеток, мы разработали метод оценки соотношения передних (колени CC2 и передняя часть ствола CC3) и задних (перешеек CC6 и валик CC7) сегментов комиссуры:  $kCC = (CC2 + CC3) \times CC6/CC7$ . В результате были получены показатели, которые позволили охарактеризовать как возрастную динамику развития мозолистого тела, так и с высокой достоверностью различать мозг детей из групп контроля, недоношенных и с ДЦП. *Работа выполнена по гранту СПбГУ №1.38.333.2015, на оборудовании РЦ «РМиКТ» НП СПбГУ.*

### **ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ИССЛЕДОВАНИИ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА**

**Л.А. Ткаченко<sup>1</sup>, Н.А. Сидорова<sup>2</sup>, Е.И. Краснощекова<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия*

Психофизиологические данные указывают на корреляцию между степенью отклонения психомоторного развития детей и сроком пренатального неблагополучия плода или преждевременного рождения. Предполагается, это обусловлено разной степенью зрелости областей коры на момент неблагоприятного воздействия и связано с нарушением процессов дифференцировки нейронов, формирующих корковые связи. Исследование направлено на выработку критериев структурной зрелости функционально специализированных областей коры мозга человека в течение второй половины гестации на примере развития проекционных и ассоциативных полей верхней височной извилины. Для определения последовательности дифференцировки нейронов проводили иммуноцитохимическое выявление белков цитоскелета (в сравнении с цитоархитектоническим становлением коры (Нисель, DAPI). Белок ассоциированный с микротрубочками (MAP2) использовали как маркер этапа стабилизации дендритов и дифференцировки нейронов, для оценки развития аксонов и зрелости нейронов использовали белок тяжелой цепи нейрофиламентов (N200). Работа проведена на аутопсийном мозге 10 плодов 24–35 недель гестации и одобрена этическим комитетом СПбГУ (IRB 00003875). На 24 неделе гестации MAP2-позитивные клетки формировали компактный пласт на границе eIV-eV слоев коры каудальной верхней височной извилины. К 28 неделе область их локализации увеличилась, наблюдали различия дифференцировки нейронов в медиальной и латеральной части извилины, соответствующих складке проекционных слуховых и ассоциативных полей. С 31 недели гестации области, гетерогенные по дифференцировке нейронов, соответствовали цитоархитектоническим полям. В полях 41 и 22 MAP2-позитивные клетки выявлены в слое eV, в поле 42 отмечено начало дифференцировки нейронов слоя eIII. N200 – позитивные нейроны в течение исследованного периода выявляли только в маргинальной зоне (eI), что указывает на относительную незрелость корковой пластинки по сравнению с формациями препластинки. Иммуноцитохимическое картирование позволяет определять критические периоды дифференцировки инициальных нейронов кортикофугальных и ассоциативных трактов, которые, как показывают наши исследования, приходится на разные временные периоды пренатального развития для разных областей коры. *Работа поддержана СПбГУ: грант №1.38.333.2015, РЦ РМиКТ.*

### **НЕЙРОННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МАРГИНАЛЬНОЙ ЗОНЫ КОРКОВЫХ ФОРМАЦИЙ ПОЛУШАРИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

**П.А. Зыкин, И.А. Моисеенко, Л.А. Ткаченко, Д.Д. Андреева, Т.А. Шалоня, Е.И. Краснощёкова**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Пренатальное развитие неокортекса человека до сих пор нельзя назвать полностью изученным, особенно это относится ко второму и третьему триместрам гестации. Интерес к пренатальному кортикогенезу человека связан с новыми данными о неврологических заболеваниях и их тесной связи с процессом закладки и дифференцировки коры. Так, методом МР-томографии показано уменьшение толщины коры в энторинальной области у пациентов с диагностированным аутизмом и СДВГ. Маргинальная зона коры - часть препластинки, объединяющая все корковые формации, играет ключевую роль в процессах миграции нейронов и формировании клеточных слоев по принципу «изнутри-наружу». В связи с эволюционной неоднородностью коры полушарий, сравнительное изучение её клеточного состава представляет несомненный интерес, как с точки зрения онто-, филогенетического развития, так и для понимания механизмов патогенеза. Нами был изучен нейронный состав маргинальной зоны трёх корковых формаций у плодов человека на 22–24 неделях гестации. Показаны различия в распределении нейронов и волокон, выявляемых нейромаркерами MAP2, рилин, N200, парвальбумин. В древней (периамгдаллярной) коре маргинальная зона содержит только крупные рилин-позитивные нейроны. В межуточной коре (медиальной энторинальной), помимо рилин-позитивных нейронов, в составе маргинальной зоны обнаружены скопления MAP2-позитивных клеток. В латеральной энторинальной коре, по мере её перехода в неокортекс, появляется сплетение N200-позитивных волокон, так называемый плексус. Рилин-позитивные клетки всех описанных корковых формаций имеют парвальбумин-позитивное ядро и, судя по морфологии, являются клетками Кахаля–Ретциуса. По составу иных элементов, позитивных к белкам цитоскелета MAP2 и N200, маргинальная зона древней, межуточной и новой коры различается.

### **НЕЙРОННЫЕ И НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНТЕГРАТИВНОЙ ЗОНЫ А5 МОСТА И ЕЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ В КОНТРОЛЕ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ**

**В.С. Татарников, Е.Н. Глазкова, Н.П. Романчук, В.Ф. Пятин**

*Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия*

В исследовании было изучены межклеточные и медиаторные интегративные взаимодействия центральной респираторной, проприо-, хемо-, баро- и ноцицептивной афферентации с симпатизирующими нейронами области А5 моста у крыс. Установлены мультисенсорные входы к каждой из норадренергических клеток зоны А5, которые моносинаптически контро-



лируют преганглионарные нейроны спинного мозга при гипоксии, изменении системного артериального давления, ноцицептивной стимуляции. Однако сами симпатизирующие нейроны, а также кластер барорецептивных нейронов находятся под тормозным влиянием со стороны открытых нами в зоне А5 проприоцептивных нейронов. При гипоксическом стимулировании физиологическая роль норадренергических А5 нейронов направлена на увеличение висцерального симпатического тонуса, что предотвращает резкое снижение АД, которое может возникнуть при расслаблении гладких мышц артерий за счёт активации NO-ергического механизма сосудов. Также как при гипоксии, все исследованные нами норадренергические А5 нейроны выражено увеличивали залповую активность (в 5–6 раз) на термический болевой стимул ("tail-lick" тест). Это показывает важную физиологическую роль норадренергических А5 клеток в механизмах регуляции висцеральных функций при боли. Нейроны области А5 моста имеют дыхательную модуляцию (в основном постинспираторную) паттерна их активности, который при выключении центральной инспираторной активности становится тоническим. Предполагается, что норадренергические А5 клетки получают тормозную афферентацию от инспираторных нейронов дыхательного центра. Регуляцию висцеральных функций при гипоксии, активации каротидного симпатического хеморефлекса и болевой стимуляции можно отнести к основным функциям нейронной сети зоны А5 при участии глутамат- и ГАМК-ергической систем. Обсуждается, что зона А5 моста является одним из центральных уровней интеграции мультимодальных афферентных входов и регуляции висцеральных функций.

### **МЕДИОДОРСАЛЬНОЕ ЯДРО ТАЛАМУСА КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ПРИ СМЕШАННЫХ ФОРМАХ ЭПИЛЕПСИИ**

**К.Р. Аббасова, Р.В. Солодков, А.М. Зыбина, Д.Е. Колотова, К.Н. Куличенкова**  
*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва*

Медиодорсальное ядро (МД), не входит в сеть генерации пик-волновых разрядов, типичных для абсансной эпилепсии, но модулирует активность разных элементов этой сети за счет множественных афферентных и эфферентных связей. В ряде работ показано, что электрическая стимуляция МД ядра оказывает влияние на продолжительность и тяжесть приступов лимбической эпилепсии. Т. о., данное ядро может являться перспективной мишенью для электрической стимуляции мозга, способной положительно влиять на течение как абсансной, так и лимбической эпилепсии. Целью работы было изучить эффекты электрической стимуляции МД ядра на характеристики пик-волновых разрядов при абсансной эпилепсии при низко- и высокочастотной стимуляции. Работа выполнена на самцах крыс линии WAG/Rij (n=14), являющейся генетической моделью абсансной эпилепсии. Регистрирующие униполярные электроды вживлялись во фронтальную кору, стимулирующие биполярные электроды в МД ядро. Показано, что низкочастотная стимуляция при 10 Гц достоверно снижает общую продолжительность и количество пик-волновых разрядов в течение часа стимуляции, эффект стимуляции сохраняется в течение следующего часа в условиях прекращения стимуляции. 72,8% разрядов при стимуляции полностью прерывалась. Стимуляция с частотой 130 Гц не вызывала снижения продолжительности и количества пик-волновых разрядов во время стимуляции и в следующий час после стимуляции. Т. о. МД ядро таламуса может модулировать течение абсансной эпилепсии, влияя на его частотно-временные характеристики. Это позволяет рассматривать МД ядро как перспективную мишень для глубокой стимуляции мозга не только при лимбической форме эпилепсии, но и при абсансной. Это особенно важно для смешанных форм эпилепсии, когда подростковая абсансная эпилепсия может переходить в судорожную форму. Эффективность низкочастотной стимуляции показан для ряда структур, например, для хвостатого ядра, это позволяет предположить, что механизм влияния стимуляции МД на параметры пик-волновых разрядов может быть связан, в том числе и с базальными ганглиями. Также можно предположить, что влияние стимуляции МД на абсанс - эпилепсию связано с его двусторонними связями с ретикулярным ядром таламуса (RTN), входящее в сеть генерации пик-волновых разрядов.

### **ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СЕРТОНИНА НА АКТИВНОСТЬ БАРРЕЛ КОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС *IN VIVO***

**Г.Р. Валеева, Д.Р. Ахметшина, А.В. Захаров, Д.Е. Винокурова, А.Р. Насретдинов, Р.Н. Хазипов**  
*Казанский федеральный университет; Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия; Средиземноморский институт нейробиологии INSERM-Inmed U901, Марсель, Франция; Университет Экс-Марсель II, Марсель, Франция*

Известно, что блокирование обратного захвата серотонина, при котором происходит увеличение концентрации серотонина во внеклеточном пространстве, приводит к нарушению формирования соматотопических карт в баррел коре новорожденных крыс и мышей. В предыдущих *in vitro* исследованиях было показано, что серотонин, действуя на пресинаптические рецепторы, значительно подавляет высвобождение глутамата и ингибирует таламокортикальную синаптическую передачу в срезах мозга новорожденных крыс и мышей. На основе этих данных, можно предположить, что причиной дефектов развития баррел коры при повышении уровня серотонина могут являться нарушение кортикальной активности и связанное с этим нарушение механизмов синаптической пластичности, что в итоге приводит к неправильному развитию таламокортикальной сети. Однако на сегодняшний день данных о том, как влияет повышенное содержание серотонина во внеклеточной среде на раннюю таламокортикальную активность в развивающейся баррел коре *in vivo*, не существует. В данной работе с помощью многоканальной внеклеточной регистрации локального полевого потенциала и потенциалов действия отдельных нейронов мы исследовали действие циталопрама, селективного блокатора обратного захвата серотонина, на сенсорно-вызванную и спонтанную активность в баррел коре новорожденных крыс в условиях *in vivo*. Мы показали, что внутрибрюшинная инъекция циталопрама (10–20 мг/кг) приводит к уменьшению амплитуды и увеличению задержки возникновения сенсорного потенциала, к уменьшению мощности и частоты сенсорно-вызванных гамма осцилляций, а также к уменьшению мощности и частоты возникновения спонтанных всплесков активности в четвертом (таламорцепиентном) слое баррел коры крыс в возрасте 2–5 дней после рождения. Кроме того, во всех слоях баррел коры новорожденных крыс под действием циталопрама уменьшалась частота генерации потенциалов действия как во время спонтанной активности, так и во время сенсорного ответа. Основываясь на данных наблюдениях, мы предполагаем, что подавление ранней таламокортикальной активности играет значительную роль в нарушении соматотопической организации баррел коры, вызванном применением блокаторов обратного захвата серотонина или другими факторами, повышающими внеклеточную концентрацию серотонина.

**ИЗМЕНЕНИЯ СВОЙСТВ АМРА РЕЦЕПТОРОВ В КОРЕ И ГИППОКАМПЕ ПОСЛЕ ПИЛОКАРПИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА У КРЫС****А.В. Зайцев, С.Л. Малкин, Д.В. Амахин, Е.А. Вениаминова, К.Х. Ким, О.Е. Зубарева, Л.Г. Магазаник***Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных нарушений ЦНС, примерно 1% населения страдает от этого заболевания, при этом в настоящее время с помощью доступных в клинической практике препаратов судорожные припадки не удается полностью купировать примерно в 30% случаев, что существенно ухудшает качество жизни больных. Для обеспечения новых эффективных методов лечения фармакорезистентных форм эпилепсии и предотвращения возникновения эпилепсии в результате провоцирующих воздействий, а также для коррекции вызванных судорожными состояниями когнитивных нарушений необходим поиск и изучение новых потенциальных фармакологических мишеней. Ранее было показано, что глутаматергическая система широко вовлечена в реализацию судорожных состояний, а глутаматные рецепторы претерпевают динамические изменения после судорожных состояний. В данной работе было исследовано какие изменения происходят в субъединичном составе ионотропных глутаматных рецепторов АМРА типа в коре головного мозга и гиппокампе крыс после эпилептического статуса при литий-пилокарпиновой модели эпилепсии. Методами молекулярной биологии, электрофизиологии и фармакологии было выявлено, что после эпилептического статуса уменьшается экспрессия 2-й субъединицы АМРА рецепторов. Смена субъединичного состава приводит к появлению в синапсах пирамидных нейронов кальций-проницаемых АМРА рецепторов, отсутствующих в норме. Избыточный вход кальция через эти рецепторы приводит к нарушению нормального функционирования нейронов и даже их гибели, что может являться одним из механизмов эпилептогенеза. Обнаружено, что изменения субъединичного состава рецепторов носят транзиторный характер: возникают в первые часы после статуса, достигают максимума на 1–3 сутки, к концу первой недели существенно уменьшаются. Полученные результаты могут быть использованы для разработки новых методов терапии эпилепсии.

*Работа поддержана грантом РФФИ 16-15-10202.***ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ЛИГАНДОВ TRPV1 РЕЦЕПТОРОВ****М.С. Комарова, М.В. Николаев, Н.Н. Потапова, Д.Б. Тихонов***Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Ионные каналы семейства TRPV являются важной мишенью для многих фармакологически активных соединений. Однако, несмотря на большую медицинскую потребность в новых специфичных соединениях, модулирующих работу этих каналов, их разработка затрудняется недостаточным пониманием молекулярных механизмов взаимодействия лигандов с TRPV белками. Основной проблемой является полимодалность TRPV, т.е. они могут быть активированы лигандами разной природы, связывающимися в разных участках молекулы рецептора. В данной работе исследовались механизмы действия пептидных токсинов из яда морских анемонов (АРНС1, АРНС2, АРНС3), а также низкомолекулярного соединения – SB-366791. Исследование выполнено методом локальной фиксации потенциала на клетках линии СНО, экспрессирующих TRPV1 рецепторы. Показано, что активность токсинов зависит как от природы стимула, активирующего канал (капсаицин, закисление среды), так и от его силы. При низких уровнях активации рецепторов капсаицином пептидные токсины оказывают потенцирующее действие, а при высоких – ингибирующее. При активации закислением наблюдалось только потенцирующее действие, которое было максимально при низких уровнях активации. В отличие от пептидных токсинов, которые связываются с внеклеточной частью канала, SB-366791 связывается в капсаициновом участке и ингибирует ответы на капсаицин конкурентным образом. Относительно его действия при активации TRPV1-рецепторов закислением в литературе имеются значительные расхождения, связанные с тем, что действие этого соединения оценивалось в разных условиях. Наше исследование по влиянию SB-366791 на активацию TRPV1-рецепторов закислением среды выявило, что SB-366791 ингибирует протон-вызванные токи, при этом его действие имеет рН-зависимый, но неконкурентный характер. Таким образом, соединения с разной химической структурой (пептиды и низкомолекулярные вещества) могут оказывать схожее действие на рецепторы, связываясь с разными сайтами связывания (пептиды – с наружным сайтом, низкомолекулярные – с внутренним. Детальное представление о молекулярных механизмах действия модуляторов TRPV1 важно для предсказания их противоболевой активности и разработки новых классов противоболевых препаратов.

*Работа поддержана программой президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».***СТРИХНИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ГЛИЦИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КАК МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИШЕНЬ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА****Ю.В. Буканова, И.Н. Шаронова, В.Г. Скребицкий***Научный центр неврологии, Москва, Россия*

Бета амилоидный пептид ( $\beta$ ) представляет собой олигомерный белок, состоящий из 39–42 аминокислотных остатков. Полагают, что  $\beta$  играет ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера, поскольку он обладает нейротоксическими свойствами и его повышенная концентрация обнаруживается в крови и тканях при развитии этого заболевания. Однако низкий уровень  $\beta$  выявляется в мозге в течение всей жизни, и появляется все больше данных, свидетельствующих о физиологической роли этого пептида. В частности, показано, что в низких, пиколярных концентрациях  $\beta$  улучшает синаптическую пластичность и процессы памяти (Puzzo et al., 2012).  $\beta$  может действовать через разные мишени, включая лиганд-управляемые каналы, такие как ацетилхолиновые рецепторы и глутаматные рецепторы NMDA типа. Мы обнаружили, что  $\beta$ , помимо этих мишеней, может взаимодействовать со стрихнин-чувствительными глициновыми рецепторами, экспрессируемыми в пирамидных нейронах гиппокампа. При регистрации глицин-активируемых токов в изолированных нейронах гиппокампа мы обнаружили, что как фрагмент В (25–35), так и полноразмерный пептид 1–42 в пиколярных концентрациях (10 пМ–100 нМ) дозо-зависимым образом усиливает десенситизацию глицин-активируемого тока при короткой (600 мс) ко-аппликации с агонистом. Этот эффект развивался быстро и был легко обратим, что указывает на взаимодействие  $\beta$  с экстраклеточным сайтом на глициновом рецепторе. Перфузия нейрона в течение 5–10 мин раствором, содержащим 100 пМ  $\beta$ , приводила также к уменьшению пиковой амплитуды тока. Этот эффект развивался в течение нескольких минут и был сильнее

выражен при насыщающих концентрациях агониста. Полученные результаты позволяют предполагать, что  $\beta$  взаимодействует с глициновыми рецепторами посредством разных механизмов – путем усиления десенситизации и быстрого ингибирования рецептора, а также оказывает медленно развивающееся подавление амплитуды тока, возможно, через какие-то внутриклеточные механизмы. Обнаруженные изменения активности глициновых рецепторов под действием  $\beta$  могут приводить к ослаблению тонического торможения нейронов гиппокампа, связанного с активностью экстраинаптических глициновых рецепторов, что может способствовать пластическим перестройкам синаптической передачи.

*Поддержано грантом РФФ 16-15-00235.*

### **НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИСТАНТНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГИППОКАМПА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНСУЛЬТЕ В НЕОКОРТЕКСЕ: СЕПТО-ТЕМПОРАЛЬНЫЙ ГРАДИЕНТ**

**М.В. Онуфриев, О.А. Левченко, М.Ю. Степанчев, Ю.В. Моисеева, Н.А. Лазарева, Н.В. Гуляева**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Большинство ишемических инсультов обусловлены окклюзией средней мозговой артерии, результатом которой является очаговое поражение мозга, затрагивающее различные области коры больших полушарий. Вторичные повреждения развиваются в регионах мозга, которые располагаются вне области инфаркта, в том числе и в гиппокампе, с повреждением которого связано развитие когнитивных нарушений и постинсультной депрессии. Гиппокамп является анатомически и функционально неоднородной структурой, в т. ч. для него характерен септо-темпоральный (дорсовентральный) градиент. В работе исследовали динамику развития кортикостероидного и нейровоспалительного ответов в дорсальной (ДГ) и вентральной (ВГ) частях гиппокампа крыс после окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА). На 3-ий день после ОСМА существенное повышение уровня кортикостерона в крови сопровождалось увеличением его содержания в ДГ и ВГ ипсилатерального полушария, а также в ВГ, но не в ДГ контралатерального полушария. В ишемическом полушарии увеличение уровня интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) в ВГ наблюдалось уже на 3-ий день, тогда как в ДГ только на 7-ой день после ОСМА. Уровень ИЛ-1 $\beta$  не изменился в ДГ, но понизился в ВГ контралатерального полушария на 14-ый день после ОСМА. Таким образом, усиление кортикостероидного ответа происходит в обеих частях гиппокампа ипсилатерального полушария в остром периоде ишемического инсульта и сопровождается развитием нейровоспаления в ВГ, тогда как в ДГ провоспалительные изменения наблюдаются в подостром периоде. *Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-04-01177а.*

### **УЧАСТИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ВЫЖИВАЕМОСТИ КЛЕТОК НЕРВНОЙ ТКАНИ БЕСПОЗВОНОЧНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

**М.С. Колосов<sup>1</sup>, М.А. Командиров<sup>2</sup>, А.А. Гендзелевская<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Южный федеральный университет; <sup>2</sup>Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия*

Обмен нейротрофическими факторами поддерживает выживаемость нервных и глиальных клеток при повреждающих воздействиях на нервную ткань у млекопитающих. У беспозвоночных элементы нейротрофической сигнальной системы (рецепторы и лиганды) долгое время не обнаруживались, хотя феноменология указывает на то, что межклеточная коммуникация с участием нейротрофинов, вероятно, имеет место. В последнее время появились данные, свидетельствующие о наличии у некоторых беспозвоночных функциональных аналогов нейротрофинов и их рецепторов. У речного рака, в частности, были обнаружены белки иммунологически сходные с рецепторами p75 и CNTFR млекопитающих. В настоящей работе изучался вопрос участия нейротрофической сигнализации в регуляции выживаемости клеток нервной ткани речного рака при действии окислительного стресса. Для этого использовались блокаторы рецепторов нейротрофинов p75 и TrkA. На переживающих препаратах изолированного механорецептора речного рака мы не наблюдали достоверных изменений в уровнях выживаемости нервных и глиальных клеток при инкубации с ингибиторами рецепторов p75 или TrkA в течение 10 часов. Ингибитор рецепторов p75 в условиях фотодинамически-индуцированного окислительного стресса не влиял на уровни выживаемости клеток, тогда как ингибитор рецепторов TrkA почти на треть повышал численность апоптотических глиальных клеток, вызванных окислительным стрессом. Полученный результат дает необходимые основания заключить о наличии у речного рака функциональной системы нейротрофической сигнализации, включающей рецепторы, сходные по строению с рецепторами TrkA млекопитающих; а также об участии этой сигнальной системы в поддержании выживаемости глиальных клеток при действии окислительного стресса. *Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-99468.*

### **ЭФФЕКТ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ АГОНИСТА ЭНДОКАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ WIN-55,212-2 НА РАЗВИТИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА**

**М.А. Борисова, Е.М. Сулейманова, Л.В. Виноградова, К.Р. Аббасова** *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия*

Эпилептический статус (ЭС) — это опасное состояние, вызывающее серьезные нарушения в работе и строении головного мозга. Среди наиболее часто встречающихся последствий — высокая смертность, развитие височной эпилепсии, нейродегенерация в различных областях мозга и другие расстройства. Недавно открытое свойство эндоканнабиноидов ограничивать выделение нейромедиаторов из пресинаптических терминалей делает эндоканнабиноидную систему привлекательным объектом в исследовании эпилепсии и эпилептического статуса в частности. Работа проводилась на модели литий-пилокарпинового ЭС у крыс. Через 4 часа после окончания ЭС группе WIN вводили агонист эндоканнабиноидных рецепторов WIN-55,212-2 (5 мг/кг; группе DMSO вводили эквивалентный объем растворителя — 5% DMSO). Через 5 месяцев проводили батарею поведенческих тестов: тест на потребление сахарозы, тесты «Темно-светлая камера» (ТСК), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Открытое поле» (ОП), «Водный лабиринт Морриса» (ВЛМ), а также подсчитывали число пирамидных нейронов в полях CA1, CA3 и области хилуса гиппокампа. Смертность крыс в группе WIN после перенесения ЭС была достоверно ниже (7% — в группе WIN и 56% — в группе DMSO), при этом инъекция не предотвращала развитие височной эпилепсии. Тест на потребление сахарозы показал, что крысы группы DMSO проявляли более выраженное депрессивноподобное поведение, чем крысы других групп. Тесты ТСК, ПКЛ и ОП показали, что крысы, перенесшие ЭС,

демонстрировали гиперактивность и снижение тревоги. В тесте ПКЛ у крыс группы DMSO отмечалось большее число дефекаций, чем у контрольной группы. В тесте ВЛМ крысы, перенесшие ЭС, достоверно хуже обучались, чем крысы контрольной группы. Подсчет нейронов показал, что у крыс, перенесших ЭС, произошла значительная редукция поля CA1 и области хилуса гиппокампа, при этом число клеток в области хилуса у крыс группы WIN было достоверно больше, чем у крыс группы DMSO. Таким образом, введение WIN-55,212-2 вызывало снижение смертности и гибели нейронов гиппокампа в области хилуса, но не предотвращало развитие эпилепсии и поведенческих расстройств после эпилептического статуса. *Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (проекты №14-04-01184\_a, 16-34-01282\_мол\_a).*

### **ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО КИНДЛИНГА В РАННЕМ ВОЗРАСТЕ У КРЫС WISTAR: МРТ И ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

**К.Н. Куличенкова, Д.Е. Колотова, К.Р. Аббасова**

*Кафедра физиологии человека и животных, Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Выработку киндинга можно рассматривать как процесс эпилептизации мозга. Фармакологический киндинг является одной из распространённых моделей развития генерализованных лимбических судорог, и в процессе его выработки происходит изменение реакции на подпороговую дозу пентилентетразола (ПТЗ): от полного отсутствия поведенческих изменений в начале киндинга и генерализованных тонико-клонических судорог в конце. Целью данной работы было исследование отставленных эффектов длительной эпилептизации мозга при помощи ПТЗ у 25-ти дневных крыс во взрослом состоянии. ПТЗ начинали вводить 25 дневным крысятам (опытная группа) каждый второй день в дозе 25 мг/кг (в/бр) до достижения тонико-клонических судорог при максимальном количестве инъекций – 30 раз. Контрольной группе крыс вводили физраствор по той же схеме. В возрасте 3 и 6 месяцев животные исследовались на магнитно-резонансном томографе. Было проанализировано время T2 релаксации для ряда лимбических и корковых структур, а также измерен объём гиппокампа. В возрасте 7–8 месяцев мозги животных фиксировались формалином, срезы мозга были окрашены кризил-фиолетом. Оценивали плотность нейронов в ряде корковых структур и в гиппокампе. Было показано, что в возрасте 3-х месяцев объём гиппокампа у крыс в контрольной и опытной группе после проведенного фармакологического киндинга не отличаются. У этих же крыс в возрасте 6 месяцев показана редукция объёма гиппокампа в опытной группе по сравнению с контролем. МРТ-исследование показало достоверное снижение времени T2 релаксации в соматосенсорной коре в обоих возрастах. Результаты гистологического исследования коррелируют с данными МРТ: в соматосенсорной коре для крыс, перенесших фармакологический киндинг в раннем возрасте, показано достоверное снижение плотности нейронов по сравнению с группой контрольных животных, так же как и в дорзальном и вентральном гиппокампе. МРТ и гистологические исследования показали, что длительная эпилептизация мозга в раннем возрасте имеет долговременные повреждающие эффекты. Наиболее чувствительными структурами к действию фармакологического киндинга в наших исследованиях показаны гиппокамп – как один из основных субстратов генерализованных лимбических судорог – и соматосенсорная кора.

### **ПОЛУЧЕНИЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF В НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

**Е.А. Епифанова, Е.В. Митрошина, А.А. Бабаев**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) – важная сигнальная молекула, участвующая в регуляции нейрогенеза, роста и выживаемости нейронов в центральной нервной системе. BDNF участвует в дифференциации нейронов, формировании синапсов, а также является активным корректором метаболизма нейронов. Показано, что при нейродегенеративных заболеваниях и повреждениях центральной нервной системы BDNF выступает в роли нейротрофического фактора. Он способствует стимуляции эндогенной репарации функционально активных нейронных сетей. Поэтому одним из подходов может быть терапевтическое повышение уровня BDNF. В связи с этим целью исследования является разработка стратегии и получение аденоассоциированного вирусного вектора для экспрессии в клетках мозга нейротрофического фактора BDNF. Нами были использованы стандартные техники клонирования для создания аденоассоциированного вектора с фрагментом гена BDNF. Была выделена суммарная матричная РНК мозга мыши, проведена реакция обратной транскрипции и амплификация клонируемого фрагмента гена BDNF. Затем этот фрагмент был заколонирован в плазмиду, содержащую сильный человеческий промотер белка синапсина, необходимый для экспрессии клонируемого фрагмента в нейронах. Затем для сборки вируса этой плазмидой были котрансфицированы HEK293T клетки совместно с хелперными плазмидами (DJ и rDP5 хелперные системы). Вирус был собран и очищен с использованием фермента бензоазы, а затем дополнительно очищен и сконцентрирован на колонках Amicon Ultra для достижения необходимой чистоты вирусного препарата, так как это может быть критично для культуры первичных нейронов. Завершающим этапом стало инфицирование первичной нейрональной культуры полученными вирусами для подтверждения их работоспособности. В результате была показана работоспособность обоих вирусов, собранных с помощью двух разных хелперных систем. Экспрессия достигала своего максимума на 5-7 день. Причем экспрессия вируса, собранного с помощью DJ хелперной системы, была более сильная. Экспрессия была подтверждена микроскопическим, иммуноцитохимическим и ПЦР методами. Таким образом был успешно получен и протестирован аденоассоциированный вирусный вектор, несущий фрагмент гена BDNF.

### **УРОВНЕВАЯ ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКИХ ПРЕАНГЛИОНАРНЫХ НЕЙРОНОВ**

**В.В. Порсева, М.Б. Корзина, А.А. Стрелков**

*Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

Сложность изучения спинальных интернейронов заключается в их нейрохимическом разнообразии, которое с позиций функциональной принадлежности до сих пор не полностью объяснено. Целью данного исследования явилось изучение топографии и структурной характеристики симпатических преанглионарных нейронов, иммунореактивных к белку кальбиндину 28 кДа в промежуточной области серого вещества второго грудного и четвертого поясничного сегментов спинного мозга у

белых крыс. Особенности распределения иммунореактивных (ИР) нейронов изучали на поперечных криостатных срезах спинного мозга (СМ) толщиной 14 мкм иммуногистохимическим методом у самок крыс Wistar (n=5) в возрасте 90 дней. В промежуточной области СМ на обоих уровнях выявлены субпопуляции ИР нейронов, расположенные вдоль дорсальной части пластинки VII в виде "цепочек" нейронов, направляющихся от задней серой спайки до латерального рога – в Т2 и до латерального края – в L4 серого вещества СМ на границе пластинок V и VII. ИР нейроны имели вытянутую и треугольную форму тел, располагались параллельно медиолатеральной оси, от клеточных тел отходили 2-3 отростка, которые переплетаясь с отростками соседних клеток, формировали клеточную "цепочку". На каждом поперечном срезе СМ в этой области выявлялось три субпопуляции ИР нейронов, при этом самой многочисленной была группа клеток в области латерального рога в Т2 (4–5 клеток), малочисленными (2–3 клетки) – группы клеток, локализованные дорсально от центрального канала и непосредственно в центральной области дорсальной части пластинки VII на обоих уровнях и в области латерального края в L4. Средняя площадь сечения данных КАБ ИР интернейронов не превышала 100 мкм<sup>2</sup>, но в Т2 была больше, чем в L4 на 13%. Топография КАБ ИР нейронов Т2 СМ позволяет отнести данные группы клеток к симпатическим преганглионарным нейронам, которые формируют на протяжении пластинки VII промежуточно-латеральное автономное ядро, состоящее из основной части, расположенной в латеральном роге, центрального ядра, расположенного дорсально от центрального канала, и вставочного ядра, расположенного между основной частью и центральным ядром. Аналогичные по топографии и форме КАБ ИР нейроны, определяемые на уровне L4 СМ, вероятно, являются симпатическими преганглионарными нейронами.

### **ИЗМЕНЕНИЕ ВХОДА ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКАХ ДВИГАТЕЛЬНОГО НЕРВНОГО ОКОНЧАНИЯ ЛЯГУШКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПУРИНОВ**

Э.Ф. Хазиев<sup>1,3,4</sup>, А.В. Головахина<sup>3</sup>, А.Н. Ценцевицкий<sup>1,3</sup>, Э.А. Бухараева<sup>1,3</sup>, Е.Е. Никольский<sup>1,2,3</sup>, Д.В. Самигуллин<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, <sup>2</sup>Казанский государственный медицинский университет, <sup>3</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, <sup>4</sup>Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казань, Россия

В двигательном нервном окончании (НО) лягушки при передаче возбуждения с нервной клетки на мышечную ацетилхолин (АХ) не только вызывает генерацию постсинаптического потенциала, но и активирует пресинаптические холинорецепторы, запуская регуляцию выброса последующих порций медиатора. Ранее фотометрическим методом оценки кальциевого метаболизма нами было показано, что изменение квантового состава под действием АХ опосредовано изменением входа ионов Ca<sup>2+</sup> в НО через потенциалчувствительные Ca<sup>2+</sup>-каналы. Вместе с АХ в синаптическую щель выделяется комедиатор АТФ. Подобно действию АХ, АТФ и его производное вещество аденозин могут модулировать параметры синаптической передачи. Причем электрофизиологическими методами показано, что параметры секреции (квантовый состав и синхронность выделения квантов медиатора) под действием АТФ и аденозина изменяются в разных участках нервной терминали лягушки в зависимости от удаленности от ствола нерва, что указывает на наличие проксимо-дистального градиента выделения медиатора из НО в синаптическую щель. В данной работе изучалось действие АТФ и аденозина на изменение входа Ca<sup>2+</sup> в разных участках НО. Эксперименты выполняли на изолированном нервно-мышечном препарате m. cutaneus pectoris лягушек *Rana ridibunda*. Оценку относительного изменения уровня Ca<sup>2+</sup> (Ca<sup>2+</sup>-транзист) производили при помощи флуоресцентного красителя Oregon Green Bapta 1. Оптическую регистрацию Ca<sup>2+</sup>-транзиста осуществляли высокоскоростной камерой Neuro CCD (Redshirt Imaging). По результатам экспериментов АТФ (100 мМ) уменьшал амплитуду Ca<sup>2+</sup>-транзиста во всей терминали на 12,5±1,7% (n=15, P<0,05), в проксимальной части – на 14,6±3,5% (n=16, P<0,05), в центральной – на 11,0±1,5% (n=15, P<0,05), в дистальной – на 9,4±5,5% (n=15, P<0,05). Аденозин (100 мМ) снижал амплитуду Ca<sup>2+</sup>-транзиста во всей терминали на 11,1±4,6% (n=9, P<0,05), в проксимальной части – на 11,1±4,6% (n=9, P<0,05), в центральной – на 12,4±4,0% (n=10, P<0,05), в дистальной – на 10,7±2,7% (n=11, P<0,05). Наблюдаемые ранее эффекты пуринов на параметры секреции могут быть опосредованы их влиянием на вход Ca<sup>2+</sup> в НО. *Работа поддержана грантами: РФФИ №16-34-00817 (ХЭФ), №16-04-01051 (СДВ) и №15-04-02983 (БЭА); Президиума РАН "Механизмы интеграции молекулярных систем при реализации физиологических функций"*.

### **МИКРОЭЛЕМЕНТЫ И НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И ТРАНЗИТОРНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ АТАКИ**

Л.Л. Клименко<sup>1</sup>, А.В. Скальный<sup>2</sup>, А.А. Турна<sup>3</sup>, М.С. Савостина<sup>4</sup>, А.Н. Мазилина<sup>4</sup>, И.С. Баскаков<sup>1</sup>, М.Н. Буданова<sup>1</sup>, А.И. Деев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; <sup>2</sup>Центр биотехнической медицины; <sup>3</sup>Институт повышения квалификации ФМБА России; <sup>4</sup>Клиническая больница № 123 ФМБА России, Москва, Россия

Исследования последних лет доказывают, что макро- и микроэлементы — неотъемлемая часть нейротрофической системы мозга и нарушение элементного гомеостаза является важным звеном в многофакторном патогенезе дисциркуляторных заболеваний мозга. Несмотря на очевидное сходство ишемического инсульта (ИИ) и транзиторной ишемической атаки (ТИА), особенности этиопатогенеза этих нозологических групп все же не позволяют отождествлять их. С целью дифференциальной диагностики ИИ и ТИА в клинических условиях методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой на атомно-эмиссионном спектрометре Optima 2000 DV (Perkin Elmer, США), проведено исследование макро- и микроэлементного баланса в сыворотке крови пациентов-мужчин, средний возраст 67±0,5 лет с диагнозом ИИ (n=50) и ТИА (n=37). В качестве маркеров повреждения мозговой ткани при ишемизации мозга была определена концентрация нейроспецифических белков S100, аутоантител к NR2 и белка VEGF (vascular endothelial growth factor) – методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Лазурит» фирмы «Вектор-бест» (Россия), с использованием реагентов фирмы «Randox» (Великобритания). Сравнительный анализ, проведенный в группах пациентов с ИИ и ТИА по методам Манна-Уитни и Крускала-Уоллеса показал достоверное различие концентрации микроэлементов Fe, Cu, Se, Mn и Zn (p<0,001). Концентрация нейроспецифических белков в исследованных группах также имела достоверное различие (p<0,0001). Корреляционный анализ выявил достоверную связь этих микроэлементов с нейроспецифическими белками (p<0,05). Поскольку исследованные микроэлементы входят в состав многочисленных ферментов нервной и глиальных тканей, принимают участие в реакциях окислительного фосфорилирования и обладают нейропротекторными свойствами.

ми, их достоверное различие у пациентов с диагнозами ИИ и ТИА свидетельствует о глубоком различии этиопатогенеза этих дисциркуляторных заболеваний. Данный вывод подтверждается и достоверным различием концентрации нейроспецифических белков, а также их связью с микроэлементами, что свидетельствует о возможности дифференциальной диагностики ИИ и ТИА с помощью микроэлементного анализа.

### **ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА ПРИ ИНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗКАХ**

**А.И. Рабаданова, Д.У. Черкесова, З.А. Тайгибова, Т.Р. Ражабкадиева**

*Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия*

Масштабы и содержание современной информационной нагрузки на человека создает угрозу его здоровью и способствует развитию стрессовых состояний, нервного истощения, бессонницы и других негативных расстройств, таких как фобии, депрессии, агрессивность, ухудшение работы мозга, нарушение когнитивных функций. Целью наших исследований явилось изучение биоэлектрической активности мозга при информационных перегрузках. В исследованиях принимали участие 15 человек (от 22 до 30 лет), страдающих компьютерной зависимостью. Регистрацию ЭЭГ проводили посредством 20-канального электроэнцефалографа и программного обеспечения. Результаты наших исследований показали, что у людей, страдающих компьютерной зависимостью в покое наблюдается снижение индекса альфа-ритма (на 55%) и повышение выраженности всех остальных ритмов (бета1 – на 100%, бета2 – на 75%, дельта – на 100% и тета-ритма – на 114%). Интегральный индекс ЭЭГ, рассчитанный по соотношению альфа/тета, свидетельствует о нарушении стабилизации корковой активности. Сдвиг частотных диапазонов в медленноволновую область свидетельствует о перестройках в работе процессов, регулирующих, условия протекания когнитивной деятельности. Увеличение индекса бета-волн указывает на возбуждение структур головного мозга, связанное с дисфункцией гипоталамо-диэнцефальных образований, а медленноволновая активность в некоторых областях коры связана с инактивирующим влиянием модулирующих систем мозга.

### **ЗАДЕРЖКА МИТОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ НЕЙРОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ТРАНСПЛАНТАТАХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО НЕОКОРТЕКСА КРЫСЫ В ПЕРВЫЕ ЧАСЫ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ**

**Е.С. Петрова** *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

Осуществляли трансплантацию фрагментов дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря крысы в поврежденный седалищный нерв взрослых животных. Модель нейротрансплантации эмбриональных закладок ЦНС в эктопические места позволяет изучать изменение гистогенеза в развивающемся мозге после повреждения. Ранее показано, что в тканевых нейротрансплантатах, развивающихся в нерве, дифференцируются нервные и глиальные клетки. Ранние сроки после трансплантации изучены недостаточно. Цель исследования заключалась в изучении пролиферативной активности нейроэпителиальных клеток переднего мозгового пузыря крысы E13 через три часа после аллотрансплантации в поврежденный нерв.

Работа выполнена на крысах Вистар весом 180–200 г. Исходным материалом для трансплантации служили фрагменты дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря эмбриона крысы 13 сут развития, содержащие, главным образом, нейроэпителиальные (нейральные створчатые/прогениторные) клетки. Пересадку осуществляли в проксимальный отдел поврежденного путем передавливания зажимом седалищного нерва крысы. Через 3 ч после операции проксимальные отделы нервов, содержащие трансплантаты, фиксировали в смеси цинк-этанол-формальдегид. За час до фиксации крысам-реципиентам внутрибрюшинно вводили бромдезоксидеозин (BrdU) в дозе 50 мг/кг. ДНК-синтезирующие клетки идентифицировали с помощью моноклональных мышинных антител к BrdU. Для выявления митотически делящихся клеток применяли антитела к фосфорилированному гистону H3, который является селективным маркером митотически делящихся клеток. Иммуногистохимические реакции проводили на парафиновых срезах толщиной 5 мкм.

Установлено, что через 3 ч после пересадки в трансплантатах наблюдается резкое снижение числа гистон H3-иммунопозитивных нейроэпителиальных клеток по сравнению с исходным материалом (стенка переднего мозгового пузыря), то есть наблюдается задержка митотического деления. При этом практически все нейроэпителиальные клетки оказались BrdU-иммунопозитивными, что свидетельствует о том, что они находятся в фазе S/G2 клеточного цикла. Таким образом, в работе установлено, что задержка митотического деления в нейроэпителиальных клетках трансплантатов через 3 ч после пересадки осуществляется после фазы синтеза ДНК, а не в период G1.

### **ДЕЙСТВИЕ MDL-12330A НА цАМФ-ОПОСРЕДУЕМЫЕ БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В НЕИННЕРВИРОВАННОМ АМНИОНЕ КУРИНОГО ЭМБРИОНА**

**О.В. Бойко** *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Сократительные реакции изолированного амниона куриного эмбриона (11-14-сут.) регистрировали в изометрическом режиме. Активация М-холинергических и серотониновых рецепторов неиннервированного амниона вызывает сократительные реакции, а торможение вызванных сокращений опосредуется бета-адренергическими рецепторами. Бета-адреномиметик изопроterenол (5нМ – 1мкМ) и активатор аденилатциклазы (АЦ) форсколин (2,5–5 мкМ) действуют синергично, полностью блокируют сократительную активность амниона и взаимно усиливают эффекты друг друга, что свидетельствует о вовлечении цАМФ-зависимых механизмов в реализацию реакции амниона на бета-адренергические агонисты. Ингибитор АЦ MDL-12330A (1–10 мкМ) вызывает незначительное расслабление интактного препарата (не более 10% от максимальной реакции на карбахол) и снижение амплитуды и частоты вызванных карбахолом сокращений. Тоническая реакция на карбахол под воздействием MDL-12330A снижалась на 35% как в случае предварительного введения ингибитора (10 мин), так и на фоне действия карбахола. При этом блокирующая способность изопроterenола и форсколина либо не изменялась совсем, либо снижалась не более чем на 10-20%. Таким образом, полностью действие изопроterenола и форсколина MDL-12330A не отменяет. Известно, что MDL-12330A способен ингибировать фосфодиэстеразы, катализирующие гидролиз цАМФ, возможно, это действие может маскировать его блокирующее влияние на АЦ. В литературе отмечается меньшая эффективность MDL-12330A по сравнению с ингибитором АЦ SQ 22536 (Emery A.C. et al., 2013). Установлено, что хотя MDL-12330A широко используется как избирательный ингибитор АЦ, он проявляет ряд неспецифических свойств, в том числе в отличие от SQ 22536 он блокирует потенциалзависимые K<sup>+</sup>-каналы в панкреатических бета-клетках (Li X. et al., 2013). Есть сообщение об

активирующем действии MDL-12330A на АЦ в ганглиях *Planorbarius corneus* (Feretti M.E. et al., 1996). Таким образом, при исследовании биологических реакций, опосредуемых цАМФ, следует учитывать неспецифические эффекты ингибитора АЦ MDL-12330A. *Работа поддержана грантом РФФИ № 14-0400845.*

### **АГОНИСТЫ И АНТАГОНИСТЫ БЕТА-АДРЕНорецепторов – МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-АДРЕНорецепторов мембран коры головного мозга крыс**

**Л.А. Нестерова** *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Исследовано влияние активации и ингибирования  $\alpha$ -адренорецепторов изопропилнорадреналином и пропранололом на связывание специфических неселективных антагонистов  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторов [ $^3\text{H}$ ]празозина и [ $^3\text{H}$ ]RX821002 в мембранах коры головного мозга крыс. Для  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторов лиганд-рецепторное взаимодействие соответствует модели: один по аффинности пул рецепторов и присоединение двух молекул лиганда к одному рецептору. Параметры связывания [ $^3\text{H}$ ]празозина –  $K_d=1.85\pm 0.16$  нМ,  $V_{\text{max}}=31.14\pm 0.35$  фмоль/мг белка,  $n=2$ . Параметры связывания [ $^3\text{H}$ ]RX821002 –  $K_d=1.57\pm 0.27$  нМ,  $V_{\text{max}}=7.24\pm 1.63$  фмоль/мг белка,  $n=2$ . При активации  $\beta$ -адренорецепторов связывание радиоактивных лигандов с  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторами происходит по такой же модели. Чувствительность  $\alpha 1$ -адренорецепторов к [ $^3\text{H}$ ]празозину и их количество увеличивается на 27% и 84%, соответственно. Чувствительность  $\alpha 2$ -адренорецепторов к [ $^3\text{H}$ ]RX821002 снижается на 56%, а их концентрация увеличивается на 69%. Пропранолол изменяет характер связывания обоих лигандов: определяются два пула рецепторов. Для [ $^3\text{H}$ ]празозина –  $K_{d1}=1.13\pm 0.09$  нМ,  $K_{d2} = 6.07\pm 1.06$  нМ,  $V_{m1} = 11.36\pm 1.77$  фмоль/мг белка,  $V_{m2} = 51.09\pm 0.41$  фмоль/мг белка,  $n=2$ . Для [ $^3\text{H}$ ]RX821002 –  $K_{d1}=0.61\pm 0.02$  нМ,  $K_{d2} = 3.41\pm 0.13$  нМ,  $V_{m1} = 1.88\pm 0.03$  фмоль/мг белка,  $V_{m2} = 9.27\pm 0.08$  фмоль/мг белка,  $n=2$ . Концентрация активных рецепторов ( $V_{\text{max}}$ ) возрастает в два раза для обоих лигандов. Предполагается, что  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторы в субклеточных фракциях мембран коры головного мозга крыс существуют в виде димеров. Модулирующее действие изопропилнорадреналина и пропранолола на связывание специфических антагонистов  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторами проявляется в изменении общего характера связывания обоих лигандов, активации связывания [ $^3\text{H}$ ]празозина и ингибировании связывания [ $^3\text{H}$ ]RX821002. *Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-04-00845.*

### **ПЕРОКСИД ВОДОРОДА КАК МОДУЛЯТОР ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУЖДЕНИЯ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ МЫШИ**

**А.Р. Гиниятуллин, А.Н. Акулов, А.М. Петров** *Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) является одной из самых долгоживущих активных форм кислорода (АФК), постоянно образующихся в живых клетках в ходе их метаболических процессов в норме, а так же в ответ на воздействие ряда стрессовых факторов. Например, в волокнах скелетной мышцы уровни АФК резко возрастают при развивающейся гипоксии или гипертермии, определяя развитие клеточной дисфункции и повреждение ткани. Ранее нами было показано, что в НО лягушки, эндогенный  $\text{H}_2\text{O}_2$  играет роль одного из звеньев внутриклеточного сигнального каскада пуриnergического контроля процесса секреции медиатора из двигательного НО. Результаты проведенных экспериментов на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы мыши, с применением электрофизиологического метода регистрации постсинаптических токов концевой пластинки (ТКП), а также оптических (CM-H2DCFDA, Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit, FM 1-43) методик оценки интенсивности экзоцитоза и количественной оценки уровней эндогенных гидропероксидов в исследуемом объекте (FOX-1), позволили сделать заключение об обратимом доза - зависимом снижении интенсивности процесса секреции медиатора из двигательного окончания, при аппликации  $\text{H}_2\text{O}_2$  в низких, близких к эндогенным (~10 мкМоль) внутриклеточным количествам данного оксиданта. При этом необходимо отметить, что при регистрации ТКП, проводился анализ динамики изменения амплитуды вызванных ответов как при низкочастотной, так и высокочастотной (близкой к нативной) ритмической активности двигательного нерва. А использование прооксиданта бутионин-сульфоксимида (L-BSO) инициирующего снижение уровня глутатиона (GSH) клетки, одного из основных антиоксидантов, позволило при проведении данных экспериментов изменять уровень эндогенных АФК ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), что повышает значимость полученных результатов данного исследования. Данные полученные при применении мембрано-проникающего умеренного окислителя хлорамина-T (200мкМоль), позволяют говорить о внутриклеточной локализации АФК чувствительных эффекторных молекул. В свете этих фактов можно предположить, что эндогенные АФК ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) образуемые в первую очередь в нервной и в меньшей степени мышечной клетке, могут определять интенсивность секреции медиатора из двигательного нервного окончания мыши. *Работа поддержана РФФИ грант № 16-04-00211/16.*

### **РОЛЬ МИОЗИНОВОГО МОТОРА В ПРОЦЕССАХ ЭКЗОЦИТОЗА И СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ**

**А.Л. Зефирова, П.Н. Григорьев** *Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Немышечные миозины обнаружены в различных клетках и принимают участие в различных процессах, в том числе клеточного деления и движения, а также перемещения различных грузов. Миозин также обнаружен в нервных окончаниях, однако литературные данные об его участии в процессах везикулярного цикла оказались противоречивыми. В экспериментах на двигательных нервных окончаниях кожно-грудной мышцы лягушки с использованием внутриклеточного микроэлектродного отведения постсинаптических сигналов и флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы секреции медиатора и экзоцитоза синаптических везикул в условиях блокады миозина нервных окончаний. В качестве селективных ингибиторов киназы легких цепей миозина и немышечного миозина II типа были использованы, соответственно, ML-7 и (-)-блебистатин. Обнаружено, что действие обоих блокаторов приводило к более выраженной динамике депрессии секреции медиатора при высокочастотном раздражении (20 имп/с) в начальные 20–25 секунд раздражения. Экспозиция как ML-7, так и блебистатина приводила к замедлению выгрузки красителя FM 1-43 в начальные 2 минуты высокочастотного раздражения. Полученные данные свидетельствуют о том, что миозин принимает участие в процессах рециклирования синаптических везикул в двигательных нервных окончаниях холоднокровных. *Исследование поддержано грантом РФФИ №14-04-01232-а.*

**МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РАЗМЕРОВ КВАНТА МЕДИАТОРА****О.П. Балежина, А.Е. Гайдуков, П.О. Богачева***Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Квант медиатора – это элементарная (минимальная) порция медиатора, высвобождаемая из окончаний химических синапсов при экзоцитозе одной синаптической везикулы. Электрофизиологическим проявлением кванта медиатора являются т.н. миниатюрные постсинаптические потенциалы (МПСП), амплитуда которых является, хотя и косвенным, но широко применяемым мерилем величины кванта медиатора. В настоящее время становится очевидным, что размер одиночных квантов и амплитуда одноквантовых мини-сигналов – физиологически значимый параметр, способный эффективно регулировать интенсивность передачи наряду с числом выбрасываемых квантов. В ЦНС известны примеры облегчения передачи путем увеличения амплитуды МПСП вследствие повышения плотности постсинаптических рецепторов. Возможность пресинаптической регуляции размеров квантов медиатора также доказана, но остается менее изученной. Целью нашей работы было выявление механизмов пресинаптической ауторегуляции размеров квантов медиатора АХ в нервно-мышечных синапсах мышцы с участием депонированного кальция, пресинаптических ферментов и ауторецепторов к кальцитонин-генродственному пептиду (КГРП). Проводили анализ миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП). Впервые установлено, что при усилении выброса депонированного кальция через риаодиновые рецепторы под действием кофеина и риаодина происходит увеличение размеров кванта АХ, проявляющийся в увеличении средней амплитуды МПКП на 25–30%. Эффект предотвращается действием Са-буфера ЭГТА-АМ, а также блокаторами накачки АХ в везикулы везамиколом и блокатором Н-АТФазы. Прирост амплитуды МПКП, вызванный действием риаодина, удается предотвратить с помощью блокатора рецепторов КГРП (КГРП8-37), а также блокаторов ферментов СаМКП и ПКА. Выдвинута гипотеза, согласно которой выброс депонированного кальция в терминалях вызывает избирательный СаМКП-зависимый экзоцитоз везикул, содержащих эндогенный КГРП, который, накапливаясь в синаптической щели и действуя аутокринно на пресинаптические ауторецепторы, запускает каскад с участием ПКА, направленный на усиление накачки АХ в везикулы и увеличение размера квантов АХ. Обсуждаются режимы работы моторных синапсов, при которых может реализовываться данный механизм регуляции размеров квантов АХ.

**СИНАПТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗАХ ЭНТОРИНАЛЬНОЙ КОРЫ И ГИППОКАМПА КРЫСЫ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ЭПИЛЕПТОПОДОБНОМ СОСТОЯНИИ****Д.В. Амахин, А.В. Чижов, Ю.Л. Ергина, Н.П. Веселкин, А.В. Зайцев***Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Эпилепсия – распространенное заболевание ЦНС, во многих случаях не поддающееся медикаментозному лечению. В исследовательской практике для изучения механизмов эпилептических судорог широко применяются *in vitro* модели судорожных состояний в переживающих срезах головного мозга крысы. Подобные модели – удобный инструмент исследования механизмов синхронизации нейронной активности, а также тестирования потенциальных противосудорожных препаратов. Нами было проведено исследование синхронизованной синаптической активности в пирамидных нейронах глубоких слоев энторинальной коры, осуществлявшееся с применением одновременной регистрации пар нейронов методом пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка». Использование перфузирующего раствора с высоким содержанием ионов калия (8 мМ), низким содержанием ионов магния (0.25 мМ) и 50 мкМ 4-аминопиридина приводит к возникновению трех последовательно сменяющих друг друга режимов синаптической активности. Первый соответствует интериктальным разрядам и представляет собой высокоамплитудные залпы ГАМК-опосредованных ТПСТ длительностью около 1 с. Второй соответствует иктальным разрядам (длительность 30–80 секунд); он всегда начинался с высокоамплитудного залпа ТПСТ, переходящий в идущие с высокой частотой стандартизованные паттерны синаптических токов. Данные устойчивые паттерны, составляющие тело иктального разряда, имели длительность около 1 с и, как правило, начинаются с ТПСТ, переходящего в залп ВПСТ. После прохождения нескольких иктальных разрядов возникал третий режим активности, в котором данные стандартизованные паттерны генерировались с относительно постоянной частотой (10–30 раз в минуту). Это позволило нам определить последовательность активации постсинаптических рецепторов в ходе подобной активности. Было продемонстрировано, что возникающая на начальном этапе активация ГАМК-рецепторов, с незначительной задержкой сменяется доминирующей активностью NMDA-рецепторов, тогда как вклад токов, опосредованных AMPA рецепторами, был мал. Таким образом, существует несколько устойчивых режимов синхронизованной активности в энторинальной коре, соответствующих нескольким типам эпилептической активности. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, проект 16-15-10201.*

**НАРУШЕНИЯ ВЫРАБОТКИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ В ГИППОКАМПе КРЫС ПОСЛЕ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА****К.Х. Ким, К.А. Крюков, Т.Ю. Постникова, Л.Г. Магазаник, А.В. Зайцев***Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

После эпилептического статуса у больных часто наблюдаются нарушения памяти, однако физиологические механизмы этого явления до конца не исследованы. Считается, что долговременная синаптическая потенция (ДВСП) и депрессия являются нейронными механизмами памяти. В данной работе мы исследовали изменения ДВСП в нейронных сетях гиппокампа крыс при литий-пилокарпиновой и пентилентетразоловой моделях эпилепсии, а также роль в этом изменений субъединичного состава NMDA рецепторов. Для исследования ДВСП регистрировали полевые внеклеточные потенциалы в срезе гиппокампа (зона CA1, str. radiatum) при стимуляции коллатералей Шаффера. Потенциацию синаптических ответов вызывали с помощью тета-стимуляции. Величину ДВСП оценивали через 30 минут после окончания стимуляционного протокола. В качестве селективного антагониста GluN2B-содержащих NMDA каналов использовали ифенпродил (3 мкМоль/л). В контрольной группе животных амплитуда ответов после стимуляционного протокола составляла  $179 \pm 9\%$  от базового уровня ( $n=10$ ). Величина ДВСП после эпилептического статуса у крыс пентилентетразоловой группы не изменялась, тогда как в литий-пилокарпиновой группе, где эпилептический статус продолжался дольше, величина ДВСП была достоверно снижена в течении первой недели (от 127 до 145% в различные сроки,  $F_{4,35}=5.07$ ,  $p<0.01$ ). При добавлении ифенпродила ДВСП фор-



мировалась лишь на уровне  $146 \pm 10\%$  от базового ( $n=7$ ). В литий-пилокарпиновой группе добавление ифенпродила достоверно не меняло выработку ДВСП ( $131 \pm 9\%$ ,  $n=9$ ) и ДВСП не отличалась от результатов контрольной группы. Результаты свидетельствуют о том, что длительный эпилептический статус приводит к нарушению выработки ДВСП в гиппокампе. В норме GluN2B-содержащие NMDA рецепторы играют важную роль в формировании долговременной синаптической пластичности, после эпилептического статуса их роль в потенцировании синаптической передачи уменьшается, что возможно обусловлено изменением субъединичного состава NMDA рецепторов. *Работа поддержана программой Президиума РАН №19 и грантами РФФИ № 16-04-00998 и 15-04-02951.*

### **ПРИМЕНЕНИЕ МЕМАНТИНА ПРЕДОТВРАЩАЕТ КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У КРЫС, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ЭПИЛЕПТИЧЕСКИМ СТАТУСОМ В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ**

**Н.Я. Лукомская, С.В. Калеменин, О.Е. Зубарева, В.В. Сизов, В.В. Лаврентьева, К.Х. Ким, А.В. Зайцев, Л.Г. Магазаник**  
*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Нарушения когнитивных функций и памяти являются частым следствием височной эпилепсии, при этом наиболее серьезные нарушения наблюдаются у пациентов с длительными повторяющимися судорожными припадками. В данной работе исследована способность мемантина, неконкурентного блокатора NMDA типа глутаматных рецепторов, предотвращать повреждение когнитивных функций у крыс в возрасте 6–7 недель в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии. Мемантин вводили крысам в дозе 10 мг/кг через 3 часа после инъекции пилокарпина, приводящей к развитию эпилептического статуса. Нарушения поведения оценивали на 8–15-е сутки после индукции судорог в тестах «Открытое поле», «Угашение ориентировочно-исследовательского поведения в открытом поле», «Водный лабиринт Морриса». У крыс, перенесших эпилептический статус, наблюдались нарушения исследовательского поведения и пространственной памяти, ослаблялась реакция угашения ориентировочного поведения. Введение мемантина полностью предотвращало эти расстройства. Таким образом, блокада NMDA рецепторов непосредственно после эпилептического статуса позволяет предотвратить возможные когнитивные нарушения. *Работа поддержана программой Президиума РАН №19 и грантами РФФИ № 16-04-00664, 16-04-00998.*

### **ХОЛИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВХОДА КАЛЬЦИЯ В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СИНАПСАХ ХОЛОДНОКРОВНЫХ И ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Д.В. Самигуллин, Э.Ф. Хазиев, Н.В. Жиликов, Э.А. Бухараева, Е.Е. Никольский**  
*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

В нервно-мышечных синапсах теплокровных и холоднокровных животных ацетилхолин, выделяющийся в синаптическую щель, осуществляет передачу сигнала между мотонейроном и мышечной клеткой. Наряду с этой функцией передатчика возбуждения, ацетилхолин выполняет функцию модулятора синаптической передачи. Эта модуляция осуществляется посредством активации пресинаптических холинорецепторов, расположенных на мембране клетки. Механизм регуляции выброса квантов медиатора, следующий за активацией этих рецепторов может включать в себя изменение пресинаптического уровня  $Ca^{2+}$ . Для выяснения роли пресинаптических холинорецепторов в регуляции входа  $Ca^{2+}$  в нервные окончания холоднокровных и теплокровных животных в нашей лаборатории была налажена методика регистрации  $Ca^{2+}$  транзientа в нервно-мышечном синапсе. Методика основана на применении флуоресцентных  $Ca^{2+}$ -чувствительных одноволновых красителей, которые изменяют интенсивность свечения в зависимости от концентрации  $Ca^{2+}$  ( $Ca^{2+}$ -транзient). Эксперименты выполненные на синапсах холоднокровных животных показали, что аппликация ацетилхолина и его негидролизуемого аналога – карбахолина, а также «накопление» эндогенного ацетилхолина при блокаде холинорецепторов, приводила к уменьшению  $Ca^{2+}$ -транзientа и вызванных токов концевой пластинки, что свидетельствует о холинергической модуляции синаптической передачи посредством изменения пресинаптического уровня  $Ca^{2+}$ . Было выяснено, что действие холинергических агентов на  $Ca^{2+}$ -транзient в синапсах холоднокровных животных связано с активацией никотиновых рецепторов и мускариновых рецепторов типа M2. Эксперименты, проведенные на синапсах теплокровных животных, показали участие мускариновых рецепторов в регуляции входа кальция в нервные окончания мышцы. *Работа поддержана грантами Программы № 7 Президиума РАН и Российского фонда фундаментальных исследований. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.*

### **СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ СПОНТАННОЙ СИНАПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СПИНАЛЬНЫХ МОТОНЕЙРОНАХ**

**Н.И. Калинина<sup>1</sup>, Г.Г. Курчавый<sup>1</sup>, А.В. Зайцев<sup>1</sup>, Н.П. Весёлкин<sup>1,2</sup>** *<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Эндогенный моноамин серотонин (5-НТ) является одним из древнейших нейротрансмиттеров. Серотонинергические нейроны дают проекции в вентральный рог спинного мозга. На пресинаптическом уровне 5-НТ рецепторы могут модулировать выделение основных нейротрансмиттеров, таких как глутамат, ГАМК, ацетилхолин и др. (Fink, G, 2007). В настоящей работе с помощью методики внутриклеточного отведения потенциалов проведено исследование модулирующего влияния 5-НТ на миниатюрную синаптическую активность, обусловленную спонтанным выделением медиаторов, в поясничных мотонейронах спинного мозга лягушки *Rana ridibunda*. Действие 5-НТ на частоту различных фармакологически изолированных фракций миниатюрных постсинаптических потенциалов (мПСП) было разнонаправленным. 5-НТ (30 мкМ) увеличивал частоту глутаматергической (АМПА) фракции, не влиял на частоту ГАМКергической фракции и уменьшал частоту глицинергической фракции мПСП. 5-НТ не оказывал влияния на кинетические параметры и амплитуду всех видов мПСП. Суматриптан (10 мкМ), агонист 5-НТ1Б рецепторов, уменьшал частоту тормозной фракции мПСП. 8-ОН-ДРАТ (10 мкМ), агонист 5-НТ1А/7 рецепторов, и  $\alpha$ -Ме-5-НТ (10 мкМ), агонист 5-НТ2 рецепторов, не влияли на частоту мПСП. Доля глутаматергических мПСП во всей популяции мПСП составила около 42%, глицинергических мПСП – 49% и ГАМКергических мПСП – 19%. Общая сумма частот трех фракций мПСП превысила на 10% частоту всей популяции мПСП, что, по-видимому, объ-

яняется наличием смешанных ГАМК-глициновых мТПСП, которые в данном случае учитывались дважды. Полученные результаты позволяют сделать вывод о вовлеченности 5-НТ рецепторов (предположительно 5-НТ1В) в механизм пресинаптической модуляции спонтанного везикулярного выделения глутамата и глицина из пресинаптических окончаний. Так как 5-НТ усиливает выделение глутамата и уменьшает выделение глицина, то суммарно он смещает баланс между синаптическим возбуждением и торможением в сторону возбуждения в спинальных нейронных сетях. Таким образом, 5-НТ участвует в контроле моторного выхода и обеспечивает его облегчение. *Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН №19 и гранта РФФИ №15-04-05782.*

### **СИНАПТИЧЕСКИЕ И ВНЕСИНАПТИЧЕСКИЕ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**

**А.В. Семьянов**

*НИИ нейронаук, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Головной мозг зачастую рассматривается как большой нейронный коннектом, в котором информация кодируется в паттернах потенциалов действия и сохраняется в виде синаптической пластичности или появлении новых синаптических связей. Однако, недавние исследования показали, что астроциты обладают сложными паттернами кальциевых событий, которые изменяются под действием нейронной активности. Эти кальциевые ответы регулируют различные астроцитарные функции, включая высвобождение глиопередатчиков и морфологические изменения астроцитарных отростков. Таким образом, можно предположить, что информация в астроцитах кодируется в виде частоты кальциевых событий, по принципу формирования паттернов нейронных потенциалов действия. Было выдвинуто предположение, что высвобождаемый синапсами глутамат запускает кальциевые события в тонких перисинаптических отростках астроцита (ПОА) посредством активации метаболитных рецепторов глутамата (mGluR). Однако наши исследования показали, что кальциевые депо, необходимые для запуска кальциевых ответов посредством mGluR отсутствуют в ПОА. Таким образом, роль значительная роль mGluR в запуске кальциевых событий в ПОА маловероятна. С другой стороны, мы показали, что активация «внесинаптических» mGluR в астроцитах приводит к увеличению размеров, спонтанно возникающих в этих клетках, кальциевых событий, без существенного увеличения их частоты. Данные результаты указывают на то, что астроцитарный ответ на нейронную активность кодируется в изменениях пространственных характеристик кальциевых событий, что является принципиально отличным от кодирования информации в нейронах в виде временных последовательностей потенциалов действия.

*Данная работа была поддержана грантом РФФИ № 16-14-00201*

### **ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА ГИГАНТСКИЕ ДЕПОЛЯРИЗУЮЩИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ И ЭПИЛЕПТИФОРМНУЮ АКТИВНОСТЬ В СРЕЗАХ ГИППОКАМПА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ**

**Г.Ф. Ситдикова, Е.Д. Курмашева, А.В. Яковлев** *Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Сероводород (H<sub>2</sub>S) относится к эндогенным газомедиаторам, участвующим в регуляции освобождения медиатора и нейрональной возбудимости в различных областях мозга. Роль H<sub>2</sub>S в растущих и развивающихся нейрональных сетях остается неизвестной. Целью работы явился анализ эффектов H<sub>2</sub>S на спонтанную нейрональную активность в срезах гиппокампа новорожденных крысят. Гидросульфид натрия (NaHS) (100 мМ), классический донор H<sub>2</sub>S вызывал двухфазные эффекты с начальной активацией и последующей дозозависимой депрессией сетевых гигантских депполяризующих потенциалов (ГДП) и нейрональной спайковой активностью. Субстрат синтеза H<sub>2</sub>S L-цистеин (1 мМ) также вызывал начальное усиление и последующее ингибирование ГДП и нейрональной активности. Анализ клеточных механизмов действия NaHS и L-цистеина показал, что оба соединения вызывали ТТХ-нечувствительную депполяризацию нейронов в области СА3 гиппокампа, что, по-видимому, лежит в основе начального роста частоты ГДП и спайковой активности. В основе депполяризующего действия NaHS, по-видимому, лежит снижение амплитуды выходящих K<sup>+</sup> токов. Кроме того, было показано, что H<sub>2</sub>S сдвигал вправо потенциалзависимость активации и инактивации Na<sup>+</sup> токов, что может приводить к уменьшению нейрональной возбудимости и ингибированию сетевой активности. Также анализировали влияние NaHS на ответы глутаматных и ГАБАА-рецепторов. Оказалось, что NaHS вызывал снижение амплитуды НМДА-опосредованных токов без существенного эффекта на АМПА- и ГАБАА-токи, вызванные аппликацией соответствующих агонистов. Кроме того, было показано, что H<sub>2</sub>S угнетал разряды, подобные интериктальным, вызываемые бикукуллином. Таким образом, через ингибиторное действие на Na<sup>+</sup> каналы и НМДА рецепторы H<sub>2</sub>S может предотвращать повышенную нейрональную возбудимость типичную для развивающихся гиппокампальных сетей. *Работа поддержана грантом РФФИ №14-15-00618.*

### **БЕЛКИ ЦИТОСКЕЛЕТА СЕПТИНЫ КАК ОДИН ИЗ ВАЖНЫХ ФАКТОРОВ РЕГУЛЯЦИИ КИНЕТИКИ СЕКРЕЦИИ НЕЙРОМЕДИАТОРА В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СИНАПСАХ**

**В.Ф. Хузахметова, Л.Ф. Нуруллин, Э.А. Бухараева** *Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия*

Надежная передача информации с клетки на клетку в синапсах теплокровных животных обеспечивается слаженной работой всех элементов аппарата экзоцитоза, в том числе белков цитоскелета, осуществляющих координацию везикул и белков активной зоны секреции в ходе секреторного процесса. К ним относится семейство GTP-связывающих белков септинов. Септины – это 30-65-кДа белки, кодируемые 14 генами у млекопитающих. Нарушение работы этих белков может быть одной из причин возникновения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, шизофрения и болезнь Альцгеймера. Предполагается, что септины, образуя микрофиламенты, могут влиять на характер взаимодействия между синаптической везикулой и активной зоной секреции в центральных и периферических синапсах, изменяя пространственно-временную связь белков аппарата экзоцитоза с входящими через потенциал-зависимые Ca<sup>2+</sup>-каналы ионами кальция, и таким образом регулируя секрецию нейромедиатора. Известно, что характер секреции квантов медиатора в синапсах меняется в ходе развития организма, однако до сих пор неизвестно, какую роль при этом играют септины. В экспериментах на нервно-мышечных синапсах крыс и мышей нами установлено, что синтетический цитокинин форхлорфенурон, изменяющий организацию септинов и предотвращающий их связывание с белками SNARE-комплекса, снижает квантовый состав и частоту спонтанной секреции медиатора дозо-зависимым образом, а также уменьшает число вызванных ответов, появляющихся с большими синаптическими задержками, т.е. синхронизирует секрецию нейромедиатора в нервно-мышечном соединении

теплокровных. Эффект синхронизации секреции наблюдается в синапсах как взрослых, так и животных на ранних стадиях постнатального развития. Поскольку при аппликации форхлорфенурана происходит уменьшение ответов с большими синаптическими задержками, можно заключить, что диссоциация септиновых филаментов воздействует в первую очередь на более удаленные от активной зоны везикулы, причем в незрелых синапсах изменение активности септинов может обуславливать переход от микродоменного характера связывания ионов кальция и освобождения медиатора к нанодоменному механизму, характерному для взрослых животных. *Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-02983.*

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА ЭКЗОЦИТОЗА 5 $\alpha$ -ХОЛЕСТАН-3-ОНА НА РАЗВИТИЕ  
КАИНАТ- И ПЕНИЦИЛЛИН  
ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС**

**Р.Д. Мухамедзянов, А.В. Захаров, А.Л. Зефилов** *Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Известно, что холестерин, содержащийся в цитоплазматической мембране, под воздействием различных ферментов может окисляться. В результате чего образуются окисхолестеролы, которые обладают высокой биологической активностью. Ранее в нашей лаборатории (Петров А.М. и др.) на нервно-мышечном синапсе мыши было показано, что окисленный вариант холестерина 5-альфа-холестан-3-он (5X3) обладает свойством угнетать экзоцитоз везикул медиатора из нервных окончаний. Считается, что основную роль в формировании и генерализации эпилептической активности играет дисбаланс между процессами возбуждения, за которое преимущественно отвечает глутаматэргическая система и процессами торможения, за которое отвечает ГАМКэргическая система в центральной нервной системе. Целью нашего исследования явилось изучить влияние 5X3 на динамику двух форм экспериментальной эпилепсии вызванных воздействием на «антагонистические» системы мозга, а именно на ГАМКэргическую и глутаматэргическую. Опыты проведены на крысах линии Вистар. Для отведения биопотенциалов использовали серебряные электроды, диаметром 0,5 мм., контактирующие с корой головного мозга. Эпилептическую активность вызывали путем аппликации, либо натриевой соли бензилпенициллина в концентрации 20000 Ед./мл. (пенициллин индуцированная эпилепсия), либо каиновой кислоты в концентрации 1 мкг/50 мкл. (каионат индуцированная эпилепсия) в теменную долю коры правого полушария через трепанационное отверстие. Через 2–3 минуты после аппликации бензилпенициллина развивались характерные эпилептические разряды. Через 1 минуту после аппликации каината развивалась характерная спайк-волновая эпилептическая активность. 5X3 апплицировали в то же трепанационное отверстие в концентрации 300 нМ, через 15 мин после аппликации веществ. В экспериментах с пенициллин индуцированной эпилепсией, происходило достоверное снижение частоты и амплитуды эпилептических разрядов на 50% от исходных значений. Однако через 10 минут частота и амплитуда эпилептических разрядов восстанавливалась. В экспериментах с каионат индуцированной эпилепсией, наоборот происходило постепенное увеличение амплитуды характерной спайк-волновой активности, которая через 15 минут возрастала в 2 раза. *Работа выполнена при поддержке грантов: РФФИ № 14-04-01232А, РНФ № 14-15-00847.*

**ГАМКБ РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННАЯ ДОЛГОВРЕМЕННАЯ МОДУЛЯЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИНАПТИЧЕСКОЙ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕЖДУ СВ1-ПОЗИТИВНЫМИ ИНТЕРНЕЙРОНАМИ И ПИРАМИДНЫМИ НЕЙРОНАМИ СА1  
ОБЛАСТИ ГИППОКАМПА МЫШИ**

**Ф.Ф. Валиуллина, Д.Д. Джэппи, А.В. Розов** *Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

ГАМКБ эргические интернейроны модулируют как афферентные входы, так и эфферентную активность и возбудимость пирамидных глутаматэргических нейронов, и тем самым способны синхронизировать активность больших популяций нейронов. Поэтому долговременная модуляция эффективности тормозных синапсов может иметь важное значение в функционировании гиппокампа. Хотя число исследований долговременной пластичности ГАМКБ эргических синапсов растёт, они во многом противоречивы. Так сообщают, что и долговременная депрессия (ДВД) и долговременная потенциация (ДВП) вызываются одним и тем же протоколом стимуляции. Возможно, объяснением этого служит вовлечение в процесс разных сигнальных систем. В СА1 области гиппокампа около 90% интернейронов, которые имеют на своей мембране первый тип каннабиноидных рецепторов (СВ1 рецепторы), экспрессируют холецистокинин (ССК). Следовательно, функциональное присутствие СВ1 рецепторов может быть использовано для идентификации тормозных входов к пирамидным нейронам СА1 области гиппокампа от ССК-положительных интернейронов. По литературным данным известно, что эти интернейроны вовлечены в генерацию тета ритма, который лежит в основе исследовательского поведения и сна. Поэтому, целью данной работы являлось изучение природы долговременной пластичности в синапсах между интернейронами, экспрессирующими СВ1 рецепторы (ССК+), и пирамидными нейронами СА1 области гиппокампа *in vitro*. Используя метод патч-кламп регистрации на срезах гиппокампа мыши, мы обнаружили, что стимуляция интернейрона, экспрессирующего СВ1 рецепторы, в комбинированной тета/гамма частоте (пачка из 5 ПД частотой 50 Гц, разделенная 200 мс интервалами) вызывает устойчивую долговременную депрессию. ДВД индуцируется в постсинапсе и требует активации ГАМКБ рецепторов. Мы также показали, что ДВД в этих синапсах включает ГАМКБ рецептор опосредованное угнетение аденилат циклазы и впоследствии уменьшение активности протеинкиназы А. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

**ИНГИБИТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНДОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА НА СИНАПТИЧЕСКУЮ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗУ**

**С.Е. Проскурина<sup>1,2</sup>, К.А. Петров<sup>1,2,3</sup>, А.И. Маломуж<sup>1,2</sup>, И.В. Ковязина<sup>1,2</sup>, А.Д. Харламова<sup>2,3</sup>, Э. Креши<sup>4</sup>, Е.Е. Никольский<sup>1,2,3,5</sup>**

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; <sup>2</sup>Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань;

<sup>3</sup>Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань; <sup>4</sup>Университет Декарта (Université Paris Descartes),

Париж, Франция, <sup>5</sup>Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

Одним из ключевых ферментов, обеспечивающих синаптическую передачу возбуждения в холинэргических синапсах, является ацетилхолинэстераза (АХЭ), которая ограничивает время воздействия медиатора ацетилхолина (АХ) на рецепторы постсинаптической мембраны, расщепляя его до холина и ацетата. Частичное ингибирование АХЭ экзогенными ингибито-

рами широко применяется в медицине для компенсации уменьшения количества секретируемого ацетилхолина и снижения чувствительности постсинаптической мембраны к этому медиатору при болезни Альцгеймера, миастении гравис и т. д.). Учитывая, что частичное ингибирование АХЭ действительно крайне эффективный способ увеличения фактора надежности синаптической передачи, легко представить, что модуляция активности АХЭ веществами эндогенной природы также может иметь место, например, как один из механизмов кратковременной синаптической пластичности. Однако до недавнего времени не было свидетельств о возможности ингибирования активности синаптической АХЭ веществами эндогенной природы. Нами было показано, что синаптическая АХЭ доза-зависимым образом снижает свою активность при добавлении донора оксида азота (NO) SNAP. Активация комплекса NMDAR-NOS глутаматом и глицином и, связанное с этим увеличение продукции эндогенного NO, также приводило к частичному ингибированию АХЭ в нервно-мышечном синапсе. Этот эффект устранялся применением блокаторов NMDAR или NOS и не проявлялся на фоне ингибирования АХЭ. В экспериментах с мутантными животными, нокаутированными по генам якорных субъединиц АХЭ (CoIQ или PRiMA) было показано отсутствие специфического действия эндогенного NO по отношению к различным изоформам фермента. Активация NOS и последующее усиление синтеза NO может быть обусловлено дефосфорилированием NOS фосфатазами PP1 и PP2A. Так, на фоне блокады этих фосфатаз, изменений активности АХЭ при аппликации аминокислот не происходило. Можно заключить, что вещества эндогенной природы действительно способны ингибировать синаптическую АХЭ, одним из таких ингибиторов является оксид азота.

### **ЦИКЛИЧЕСКОЕ МОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА НА АКТИВНОСТЬ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ВИСЦЕРАЛЬНЫЕ НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕФЛЕКСЫ**

**А.Г. Чумак<sup>1</sup>, В.А. Кульчицкий<sup>1,2,3</sup>** <sup>1</sup>Белорусский государственный университет; <sup>2</sup>Институт физиологии НАН Беларуси; <sup>3</sup>Межведомственный исследовательский центр искусственного интеллекта, НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В опытах на наркотизированных крысах регистрировали спонтанные колебания тонической симпатической эфферентной импульсации в разные фазы дыхательного цикла. Сопоставляли также характер рефлекторных ответов в эфферентных симпатических волокнах при раздражении брыжеечных нервов с активностью центрального генератора инспираторной активности. Электрическая стимуляция афферентных волокон краниальных брыжеечных нервов сопровождается угнетением тонической эфферентной импульсации. Одновременно происходит потенциация вызванных рефлекторных ответов в симпатических эфферентных волокнах почечного нерва. В этих условиях в краниальных брыжеечных нервах тоническая симпатическая эфферентная импульсация активируется, что сопровождается потенциацией вызванных ответов. Ноцицептивное раздражение интероцепторов тонкой кишки (растяжение кишки баллоном под давлением, достигающим 20 мм рт.ст.) сопровождается кратковременным торможением и последующим стойким усилением тонической симпатической эфферентной активности в почечных нервах. Зафиксировано, что рефлекторные ответы в висцеральных нервах (почечный, брыжеечный), вызванные надпороговой электрической стимуляцией краниальных брыжеечных нервов, стабильно угнетаются в инспираторную фазу дыхательного цикла. Внутривенное введение блокатора NMDA-рецепторов кетамина сопровождается нивелированием потенциации вызванных ответов вплоть до их угнетения. Полученные результаты подтверждают высказанную нами ранее гипотезу о наличии общих (или идентичных) механизмов формирования ноцицептивных реакций, инициированных как соматическим, так и висцеральным афферентным входом (в частности, с интероцепторов кишки).

### **CALCIUM HANDLING BY THE PODOCYTES IN DIABETIC NEPHROPATHY**

**D.V. Ilatovskaya, O. Palygin, V. Levchenko, L.S. Shuyskiy, A. Staruschenko**

*Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA*

Excessive increase in intracellular calcium  $[Ca^{2+}]_i$  in podocytes is one of the major risk factors that leads to their loss. Subsequently, this results in an impairment of glomerular filtration barrier (GFB) and proteinuria, which essentially accompanies such kidney diseases as diabetic nephropathy (DN). Key mediators of  $Ca^{2+}$  flux in the podocytes are ion channels of the transient receptor potential canonical (TRPC) family. Dahl Salt-Sensitive rats injected with streptozotocin (STZ-SS) and type 2 diabetic nephropathy (T2DN) rat (generated by crossing GK with FHH rat) were used as type 1 and type 2 diabetes models, respectively. Patch-clamp and confocal imaging were performed on podocytes of the isolated glomeruli. Basal  $[Ca^{2+}]_i$  was found to be enhanced in both STZ-SS and T2DN rats compared to respective controls. Angiotensin II (Ang II) application resulted in increased total calcium influx and single TRPC channels activity in podocytes of STZ-SS rats compared to vehicle injected animals. Western blotting and IHC analyses, along with the data obtained using TRPC modulators SKF 96365,  $La^{3+}$ , and knockout mouse models, are consistent with TRPC6 being the main channel in podocytes mediating this effect. We further assessed the effects of ATP on podocytes during DN. The response to ATP in Wistar rat podocytes was dose-dependent, similarly to what we previously reported for Sprague Dawley rats. However, it was substantially enhanced in GK rats, with dose-response curve shifted towards lower ATP concentrations. Importantly, the ATP-triggered calcium transient was further enhanced in T2DN compared to GK rat podocytes, and was found to be dose-independent within the measured concentration range. This phenomenon was observed in both young (12 week old) and aged (9–12 month old) animals. Western blotting revealed a significantly higher expression of P2X7 receptors in the cortex of T2DN and GK strains compared to Wistar rats, and a decrease in P2Y1 expression, which we previously identified as the main P2 receptor in normal podocytes. These studies have a strong potential for advancing the understanding of calcium-mediated effects on podocytopenia in DN initiation, and identification of new pharmacological targets designed to maintain podocyte integrity and function in DN.

### **КАЛЬЦИЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ NMDA РЕЦЕПТОРОВ НА/К-АТФАЗОЙ И НА/СА-ОБМЕННИКОМ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАНОКЛАСТЕРАХ ЛИПИДНЫХ МИКРОДОМЕНОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ НЕЙРОНОВ**

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

В настоящее время стало очевидным, что многие генетически детерминированные заболевания связаны с одиночными мутациями генов, кодирующих различные рецепторы или ионные каналы. В частности, определенные мутации гена GRIN2A, кодирующего GluN2A субъединицу NMDA рецепторов человека, вызывают эпилептические энцефалопатии, сопровождающиеся обширными нарушениями функционирования мозга человека и вызывающие значительное ухудшение

когнитивных функций и поведения (Lesca et al., *Nature Genetics*, 2013, doi:10.1038/ng2726). Подобные мутации приводят к изменению кинетики десенситизации NMDA рецепторов, что показывает значение «правильных» параметров их активации для функционирования мозга. В наших исследованиях впервые обнаружены мембранные механизмы регуляции  $Ca^{2+}$  зависимой десенситизации NMDA рецепторов Na/Ca-обменником плазматической мембраны (Sibarov et al., *J Pharmacol Exp Ther.*, 2015, doi:10.1124/jpet.115.227173). Подобная регуляция может реализовываться только при тесном взаимодействии этих интегральных белков, поскольку  $Ca^{2+}$  зависимая десенситизация NMDA рецепторов обеспечивается разрушением связи внутриклеточного сегмента GluN1 субъединицы с кальмодулином, при связывании им ионов  $Ca(2+)$ , входящего в нейрон через каналы NMDA рецепторов. Основываясь на наших данных о том, что субнанолярные концентрации уабаина посредством взаимодействия с Na/K-АТФазой обеспечивают нейропротекцию в условиях эксайтотоксического стресса, приводя к усилению выведения  $Ca^{2+}$  из нейронов Na/Ca-обменником плазматической мембраны (Sibarov et al., *J Pharmacol Exp Ther.*, 2013, doi:10.1124/jpet.112.198341), можно предполагать также вовлеченность Na/K-АТФазы в регуляцию  $Ca(2+)$  зависимой десенситизации NMDA рецепторов. Очевидно, подобная регуляция должна осуществляться в нанометровой внутриклеточной области примембранного слоя и может обеспечиваться только в случае плотной «упаковки» NMDA рецепторов, Na/Ca-обменника и Na/K-АТФазы в липидных микродоменах плазматической мембраны. Таким образом, фармакологические агенты не обладающие прямым действием на NMDA рецепторы, но модулирующие активность Na/Ca-обменника и Na/K-АТФазы, могут изменять кинетику  $Ca(2+)$  зависимой десенситизации NMDA рецепторов.

*Работа поддержана грантом РНФ (проект № 16-05-10192).*

### **ПУРИНЕРГИЧЕСКИЙ СИНАПС ВКУСОВЫХ КЛЕТОК**

**С.С. Колесников, Р.А. Романов, О.А. Рогачевская, М.Ф. Быстрова** *Институт биофизики клетки РАН, Пущино*

Вкусовые клетки типа II, специализирующиеся в распознавании горьких и сладких стимулов и аминокислот, являются основным типом хемосенсорных клеток вкусовой почки. Эти клетки не образуют классические химические синапсы, и поэтому долгое время оставалось неясным, каким образом они коммуницируют со вкусовым нервом. Нами было показано, что клетки типа II используют неканонический механизм для афферентной нейротрансдукции, используя АТФ в качестве нейротрансмиттера. Последний секретируется  $Ca^{2+}$ -независимым и потенциал-зависимым образом при участии АТФ-проницаемых ионных каналов и стимулирует P2X рецепторы на окончании вкусового нерва. До недавнего времени считалось, что АТФ-проницаемый канал формируется канальным белком паннексин 1 (Panx1). В конце 2013 г. было показано, что генетический нокаут гена *CALHM1*, кодирующего канальный белок, приводит к подавлению секреции АТФ вкусовыми клетками и к потере вкусовой чувствительности у генетически модифицированных мышей. Эти факты свидетельствуют о том, что именно CALHM1 является ключевой субъединицей АТФ-проницаемого канала вкусовых клеток. Стимулы, вызывающие секрецию АТФ, т.е. открывающие АТФ-проницаемые каналы, не вызывают во вкусовых клетках типа II сколь-нибудь значимых  $Ca^{2+}$  сигналов, ассоциирующихся со входом наружного  $Ca^{2+}$ . Этот факт не находит непосредственного объяснения, поскольку размер водной поры CALHM1 оценивается в 14 Å. Между тем, в клетках типа II имеется атипичная митохондрия, примыкающая к плазматической мембране в месте ее сопряжения с нервным окончанием. Мы предположили, что эта митохондрия со-локализована с АТФ-проницаемыми каналами, образуя локальный компартмент для секреции АТФ, в котором поддерживается не зависящий от остальной части клетки уровень АТФ и  $Ca^{2+}$ . Эта модель объясняет, почему открытие АТФ-проницаемых каналов не приводит к изменению тотального  $Ca^{2+}$  в цитоплазме клеток типа II. Проведенные эксперименты с использованием различных методов физиологии клетки свидетельствуют в пользу существования специализированного митохондриального компартмента, обеспечивающего в клетках типа II контролируемую секрецию АТФ.

*Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00224а.*

### **ДИСРЕГУЛЯЦИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

**Е.В. Казначеева, К.В. Скобелева, М.А. Рязанцева** *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием среди людей старше 60 лет. На долю БА с поздним началом приходится почти половина случаев деменции в пожилом возрасте. Этиология БА до конца не изучена, в связи с этим не существует эффективного лечения. В последнее десятилетие нарушение кальциевого гомеостаза в нейронах рассматривается как одно из ключевых событий при развитии патологии БА и других нейродегенеративных заболеваний, поэтому элементы кальциевой сигнализации в нейронах представляют собой привлекательную мишень для разработки новых фармакологических агентов для лечения. Нарушения активности различных типов кальциевых каналов и регуляции внутриклеточной концентрации кальция были показаны непосредственно в клетках пациентов с БА. Большинство случаев наследственной формы БА вызвано мутациями в гене пресенилин-1 (PS1). Недавние исследования показали, что, по всей видимости, к нарушениям кальциевого гомеостаза приводит накопление полноразмерного белка PS1, который в результате мутаций снижает способность к эндопротеолизу. В последние несколько лет особое внимание уделяется депо-управляемым кальциевым (SOC) каналам, как новым возможным мишеням для разработки лекарственных препаратов в терапии БА. Нами показано, что при накоплении полноразмерного белка PS1 происходит значительное усиление активности SOC каналов в клеточных и нейрональных моделях БА, не связанное с изменениями уровня экспрессии основных каналообразующих и регуляторных белков данных каналов. Патологические изменения активности SOC каналов в клеточных моделях БА происходят за счет гиперактивности кальциевых сенсоров STIM. Ингибитор SOC каналов 2-APB, действующий на сенсоры STIM восстанавливает функцию памяти в трансгенных *Drosophila melanogaster*, экспрессирующих мутантный человеческий белок PS1 DE9 в нейронах холинэргической нервной системы.

*Работа поддержана грантами РНФ 14-14-0720.*

**ДВУПОРОВЫЕ КАЛЬЦИЕВЫЕ КАНАЛЫ И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ****П.В. Авдонин, Е.С. Фёдорова, И.Л. Жарких, А.Д. Надеев, С.К. Труфанов, Г.Ю. Миронова, Е.Б. Цитрин, Н.В. Гончаров***Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Несколько лет назад у лизосом и родственных им эндолизосомальных везикул была обнаружена новая функция. Оказалось, что эти органеллы подобно эндо/саркоплазматическому ретикулуму представляют собой внутриклеточное хранилище ионов кальция. В эндолизосомах функционирует уникальный механизм активного транспорта этих ионов, который обеспечивают протонная АТФаза и Са/протонный обменник. В ответ на возбуждение клеток в эндолизосомах открываются кальциевые каналы особого типа – двупоровые каналы (two-pore channels – ТРС), активатором которых является вторичный мессенджер NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate). Данный механизм представлен в трёх царствах многоклеточных организмов – животных, растениях и грибах. Исследования физиологической функции эндолизосом и каналов ТРС как нового типа регуляторов кальций-зависимых процессов находятся на начальной стадии. В результате проведенной нами работы получены данные, указывающие, что каналы ТРС участвуют в поддержании тонуса кровеносных сосудов при действии норадреналина и в вазодилатации, вызванной гистамином. Опыты на культивируемых гладкомышечных клетках аорты крысы и эндотелиальных клетках пупочной вены человека подтвердили данные *ex vivo* с изолированными сосудами. Обнаружено также, что в эндотелиальных клетках функционирование каналов ТРС связано с образованием активных форм кислорода. На модели изолированного сердца моллюска *H. pomatia* показано, что работа эндолизосомальных каналов ТРС необходима для сохранения спонтанного ритма сердечных сокращений. С другой стороны, нарушение обмена ионов кальция в лизосомах и эндолизосомальных везикулах в результате гиперактивации каналов ТРС может быть причиной развития сердечной аритмии. Продолжение исследований в данном направлении открывает перспективы для понимания фундаментальных закономерностей работы сердца и сосудов, а также создает основу для разработки новых фармакологических подходов к коррекции функций сердечно-сосудистой системы.

*Исследования поддержаны грантами Российского научного фонда №14-15-01004 и РФФИ №14-04-00951.*

**КОМПЬЮТЕРНЫЕ МОДЕЛИ БЛОКА НАТРИЕВОГО КАНАЛА МЕСТНЫМИ АНЕСТЕТИКАМИ, ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКИМИ И ПРОТИВОСУДОРОЖНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ****Д.Б. Тихонов, Б.С. Жороб** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия, Университет им. Мак Мастерса, Гамильтон, Канада*

Местные анестетики, антиаритмические и противосудорожные лекарственные вещества блокируют потенциал-зависимые натриевые каналы по общему механизму, описанному гипотезой модулированного рецептора. Эти вещества, как правило, имеют полярные группы, по меньшей мере одно ароматическое кольцо и могут содержать или не содержать катионную группу. Химическое разнообразие этих веществ отражает их различную активность и кинетику действия. Многочисленные мутационные исследования выявили общую область связывания этих веществ в поре канала, однако нет общих представлений о том как они блокируют канал. Открытыми остаются вопросы о механизме блока (электростатический, стерический или гидрофобный), природе зависимости действия от состояния канала, и атомных деталях сайтов связывания. Мы создали гомологическую модель эукариотического натриевого канала на основе рентгеновской структуры бактериального натриевого канала NavMs и использовали ее для докинга различных веществ. К ним относятся лидокаин и его четвертичный аналог QX-314, кокаин, хинидин, ламотригин, сипатригин, карбамазепин, фенитоин и лакозамид. Мы обнаружили, что ион натрия в селективном фильтре канала притягивает электронейтральные молекулы, но отталкивает катионные молекулы. Поэтому мы далее осуществляли докинг электронейтральных и катионных молекул, соответственно, в модели канала с натрием и без натрия. Расчеты предсказали комплексы с весьма похожими геометрическими характеристиками. Все вещества образуют контакты с фенилаланином в спирали IVS6, который экспериментально известен как их главный детерминант связывания. Электронейтральные лиганды связывают ион натрия, который оказывается в том же положении, что и аммониевая группа катионных лигандов, а именно в области сужения канала где находится селективный фильтр. В этом положении даже относительно небольшие лиганды могут блокировать ток по электростатическому и стерическому механизму. Мы впервые предлагаем общий фармакофор для заряженных и электронейтральных блокаторов. Он включает в себя катион (аммониевая группа или связанный с лигандом ион натрия), которые, как правило, соединены цепочкой из четырех химических связей. *Работа поддержана РФФИ и NSERC.*

**ПРОТОН-AКТИВИРУЕМЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ И ИХ ЛИГАНДЫ****Д.Б. Тихонов** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Ионные каналы, активируемые закислением внеклеточной среды (ASIC), широко распространены в центральной и периферической нервной системе. Многочисленные эксперименты с генами, кодирующими субъединицы ASIC, показали, что на периферии ASICs отвечают за восприятие болевых стимулов, сопровождающих воспаление, переломы, опухоли, гематомы и послеоперационные раны, а также участвуют в механорецепции. В центральной нервной системе ASICs вовлечены в процессы синаптической пластичности, памяти и обучения, страха и депрессии, наркотической зависимости и хемочувствительности. Соответственно, лиганды ASIC каналов могут иметь существенное практическое значение. Одной из важнейших проблем, связанных с участием ASIC в разнообразных физиологических и патологических процессах, является вопрос их активации в ЦНС. Вследствие выраженного феномена десенситизации, ASIC способны проводить только транзистентные токи, то есть отвечают на быстрое снижение pH, но не на медленные длительные изменения. Быстрые процессы могут наблюдаться, например, при синаптической передаче. И действительно, недавно было показано участие ASIC в синаптических процессах. Однако обнаруженные токи оказались чрезвычайно малы. Возможным решением проблемы активации ASIC является участие эндогенных лигандов, модулирующих их активацию. В дополнение к известным классам лигандов ASIC в ИЭФБ РАН недавно было обнаружено и охарактеризовано модулирующее действие гидрофобных моноаминов. В зависимости от структуры соединений и субъединичного состава ASIC моноамины способны оказывать как потенцирующие так и ингибирующее действие. Это дало возможность рассматривать эндогенные моноамины как потенциальные лиганды ASIC. Среди исследованных эндогенных соединений было обнаружено специфическое действие гистамина на каналы ASIC1a. Потенциация гис-

тамином носила ярко выраженный рН-зависимый характер. Наиболее активное действие гистамин оказывает при слабых уровнях активации, что, вероятно, соответствует физиологическим условиям. Представляется вероятным, что гистамин и другие эндогенные моноамины могут модулировать работу ASIC в центральной и периферической нервной системе. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-14-00122.*

#### **СТРАТЕГИИ АНТИИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ. РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ**

**Д.Б. Зоров, Е.Ю. Плотников, Д.Н. Силачев, Л.Д. Зорова, И.Б. Певзнер, С.Д. Зоров, В.А. Попков, В.А. Бабенко, С.С. Янкаускас**

*Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Международный лазерный центр, Факультет биоинформатики и биоинженерии МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Тканевые патологии, опосредованные ишемией (например, инфаркт миокарда или инсульт головного мозга), с сопутствующими процессами, такими как воспаление и интоксикация, занимают основное место среди причин смертности. Эти патологии в большинстве своем сопровождаются окислительным стрессом в ткани и учитывая то, что основным генератором и мишенью окислительного стресса являются митохондрии, основным вниманием в последнее время стало сосредотачиваться на митохондриях. Стала преобладать точка зрения, что защита митохондрий является основной стратегической целью защиты ткани от ишемического повреждения. В результате своей работы мы выделяем три подхода в антиишемической стратегии с центральным местом, занимаемым митохондриями. 1 – ишемическое пре- или пост-кондиционирование (включая удаленное кондиционирование), при котором в результате кратких эпизодов ишемии активируются защитные сигнальные пути. Мы показываем, что разнообразие активируемых этих сигнальных путей заканчивается их слиянием на едином ключевом ферменте – киназе гликогенсинтазы  $\beta 3$ , которая сосредоточена на митохондриях и отвечает за активацию митохондриального этапа индукции гибели клетки (например в сердце, мозге или почке). Вызванное защитной сигнализацией ингибирование этой киназы запрещает ненужную гибель постмитотических клеток, что является конечной целью. 2 – фармакологическое прекодиционирование, имитирующее протекание ишемического прекодиционирования, проводится при помощи препаратов, являющихся лигандами защитных путей (бета-блокаторы, опиоиды, активаторы митохондриального АТР-чувствительного  $K^+$ -канала (мКАТР) и другие). Расшифровка с нашим участием природы мКАТР стала не только важной вехой в исследованиях структуры защитной сигнализации, но и определила направления повышения энергоотдачи митохондрий, в частности, при работе сердца. 3 – клеточные технологии, позволяющие обеспечить уменьшение и репарацию повреждения за счет внедрения в пораженную ткань стволовых и прогенитарных клеток, обеспечивающих либо их направленную дифференцировку, либо осуществляющих паракринное лечебное действие. Во всех этих случаях важную роль играют митохондрии, перемещающиеся из стволовых клеток в клетки пораженной ткани.

*Поддержано Российским научным фондом, грант №14-15-00147.*

#### **ДЕМАСКИРОВКА ВАЗОКОНСТРИКТОРНОГО ЭФФЕКТА АГОНИСТА СЕРТОНИНОВЫХ 2В РЕЦЕПТОРОВ BW723C86 С ПОМОЩЬЮ $Na_3VO_4$**

**Г.Ю. Миронова, П.П. Авдонин, Е.Б. Цитрин, П.В. Авдонин** *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

В сосудах серотониновые 2В рецепторы (5HT2B) выполняют преимущественно вазодилаторную функцию. Однако, при некоторых патологиях они работают как вазоконстрикторы. Это может быть связано как с повышением экспрессии 5HT2B в гладкомышечных клетках сосудов (ГМК), так и с увеличением эффективности передачи сигнала от 5HT2B на системы мобилизации кальция в ГМК. Целью работы было проверить, экспрессируются ли сократительные 5HT2B в норме в ГМК, а также выявить основные компоненты их сигнального пути. Объектами исследования были изолированные аорта и брыжеечная артерия крысы, ГМК выделенные из аорты крысы. Изменения внутриклеточной концентрации кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) и активных форм кислорода (АФК) в ГМК регистрировали с помощью флуоресцентных зондов Fura-2 и DCFH-DA соответственно. Сокращение изолированных сосудов исследовали с помощью миографа. Методом количественной ПЦР было показано, что во всех объектах исследования экспрессируются 5HT2B, их наличие в ГМК было также подтверждено методами иммунофлуоресценции и Western-гибридизации. Известно, что активатор 5HT2B BW723C86 вызывает сокращение сосудов крыс с ДОКА-солевой гипертензией. При этой патологии в клетках сосудов накапливаются АФК, происходит ингибирование тирозиновых фосфатаз (РТР) и, как следствие, накопление продуктов тирозинового фосфорилирования. Для воспроизведения таких условий мы использовали  $Na_3VO_4$ , который ингибирует РТР по сходному механизму. По итогам экспериментов на ГМК,  $Na_3VO_4$  значительно увеличивал кальциевые ответы BW723C86. Антагонист 5-HT2B RS127445 подавлял этот эффект, что говорит о специфичности действия BW723C86. Также этот эффект ингибировали антагонист тирозиновых Src киназ PP2, антиоксидант N-ацетилцистеин и ингибитор NADPH-оксидаз VAS2870. Эксперименты с DCFH-DA показали, что BW723C86 на фоне  $Na_3VO_4$  увеличивает образование АФК в ГМК. В экспериментах на изолированных сосудах была выявлена демаскировка вазоконстрикторного эффекта BW723C86 на фоне  $Na_3VO_4$ . Таким образом, показано, что в ГМК в норме экспрессируются вазоконстрикторные 5-HT2B. Выявлены условия демаскировки их сократительного эффекта и показано, что увеличение  $[Ca^{2+}]_i$  в ответ на активацию 5-HT2B связано с образованием АФК и работой тирозиновых Src киназ.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда №14-15-01004.*

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОПРЯЖЕНИЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ – УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ КЛЕТОЧНОЙ МЕХАНОТРАНСДУКЦИИ**

**В.И. Чубинский-Надеждин** *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Механозависимые процессы вовлечены в основные аспекты жизнедеятельности клеток, включая регуляцию таких ключевых реакций как пролиферация, клеточная подвижность, апоптоз и дифференцировка. Центральной задачей представляется выявление молекулярных звеньев механотрансдукции и взаимосвязей между ними в ходе передачи механического стимула. Одними из основных участников процессов передачи сигнала являются механочувствительные (МЧ) кальций-проницаемые катионные каналы. С помощью метода патч-кламп нами были исследованы биофизические свойства и особенности функционирования МЧ каналов на различных клеточных моделях. Выявлен универсальный механизм, опосредующий участие МЧ каналов в кальциевой сигнализации: локальный вход кальция через механочувствительные стретч-

активируемые (stretch-activated) каналы вызывает последующую активацию кальций-зависимых каналов в плазматической мембране. Так, в трансформированных фибробластах линии 3T3B-SV40 обнаружено функциональное сопряжение между кальций-проводящими МЧ каналами и кальций-активируемыми калиевыми каналами низкой проводимости (small conductance potassium channels, SK каналы). В то же время, в мезенхимных стволовых клетках эндометрия человека (МСКЭЧ) вход кальция через МЧ каналы стимулирует активность кальций-зависимых калиевых каналов высокой проводимости (big conductance potassium channels, BK каналы). При этом, в МСКЭЧ также зарегистрированы SK каналы, активность которых, несмотря на их более высокую чувствительность к уровню внутриклеточного кальция по сравнению с BK каналами, не зависела от активации МЧ каналов при механической стимуляции. Совокупность данных свидетельствует о присутствии функциональных комплексов механочувствительных и кальций-активируемых калиевых каналов, которые могут отличаться по молекулярному составу в различных типах клеток. Функционирование таких комплексов в ходе клеточной механотрансдукции может вносить значительный вклад в механозависимые сигнальные реакции клеток млекопитающих.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-00905.*

### **ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ РЕГУЛИРУЕТ АКТИВНОСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NFAT В КЛЕТКАХ НЕЙРОННОЙ ПРИРОДЫ**

**К.В. Скобелева, М.А. Рязанцева, Л.Н. Глушанкова** *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Кальций является важнейшим внутриклеточным посредником. Изменение кальциевой сигнализации является одним из первых нарушений при многих нейродегенеративных заболеваниях, таких как Альцгеймера и Хантингтона. Нами было обнаружено, что в клеточных моделях наследственной болезни Альцгеймера, существенно изменяется активность депо-управляемых кальциевых каналов. Эти каналы плазматической мембраны активируются в ответ на опустошение внутриклеточных кальциевых депо. Депо-управляемые кальциевые каналы принимают участие в запуске долговременной потенциации и выбросе нейромедиатора. При этом роль депо-управляемого входа кальция в регуляции активности транскрипционных факторов нейронах недостаточно исследована. Среди таких кальций-зависимых транскрипционных факторов можно выделить ядерный фактор активации Т-лимфоцитов (NFAT). Неактивный NFAT локализован в цитозоле, увеличение концентрации кальция приводит к перемещению NFAT в ядро. В клетках нейроblastомы человека линии SY-SH5Y, экспрессирующих NFAT1-GFP, депо-управляемый вход кальция вызывает перемещение NFAT1-GFP в ядро. Такое перемещение не происходит в присутствии  $Gd^{3+}$ , блокирующего депо-управляемый вход кальция. Активность эндогенного NFAT1 изучалась с помощью иммуноблоттинга цитоплазматической и ядерной фракций клеток. Эксперименты были проведены на контрольных клетках и клетках с подавленной экспрессией основных участников депо-управляемого входа: каналообразующих субъединиц *Orai* и TRPC, семейства кальциевых сенсоров STIM. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что в клетках нейронной природы в регуляцию транскрипционного фактора NFAT вовлечены депо-управляемые каналы, сформированные субъединицами *Orai* 1. *Данная работа поддержана грантами РФФИ №16-34-00649, РФФИ №16-04-01125, РНФ № 14-14-00720.*

### **РОЛЬ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ**

**Л.В. Смаглий, В.С. Рыдченко, Ю.О. Ярцева, Ю.Г. Бирулина, С.В. Гусакова, И.В. Ковалев, С.Н. Орлов**

*Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия*

Пуринергическая сигнальная система, опосредованная действием внеклеточных пуриновых (АТФ) и пиримидиновых (УТФ) оснований, играет ключевую роль в регуляции сосудистого тонуса, оказывая как констрикторное, так и релаксирующее действие. Расслабление сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК) тесно связано с выходящими калиевыми токами, тогда как в процессах деполаризации и сокращения СГМК могут принимать участие хлорные каналы. В данной работе исследовали действие АТФ на сократительную активность СГМК и роль калиевой и хлорной проводимости в механизмах его действия. Объектом исследования служили изолированные сегменты грудного отдела аорты крыс линии Wistar. Исследования сократительной активности гладких мышц проводили методом механографии. Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от контрольного сокращения на действие гиперкалиевого раствора (30 мМ KCl) или фенилэфрина (ФЭ, 10 мкМ), которые принимали за 100%. При сокращениях, индуцированных гиперкалиевым раствором, АТФ в концентрациях до 100 мкМ, в независимости от целостности эндотелия, вызывал прирост механического напряжения сегментов, а в концентрациях выше 100 мкМ – их расслабление. Блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-аминопиридин (1 мМ) снижал величину АТФ-индуцированного расслабления и усиливал его констрикторное действие, тогда как блокатор АТФ-чувствительных калиевых каналов глйбенкламид (10 мкМ) достоверного влияния на действие АТФ не оказывал. На фоне ФЭ-индуцированного сокращения АТФ вызывал дозозависимое расслабление сосудистых препаратов, более выраженное в деэндотелизированных сегментах. Величина АТФ-индуцированного расслабления снижалась в присутствии неселективного блокатора калиевых каналов тетраэтиламмония (ТАЭ, 10 мМ) и глйбенкламида (10 мкМ). 4-аминопиридин (1 мМ) устранял расслабление в деэндотелизированных сегментах, но не в сегментах с интактным эндотелием. Блокатор хлорных каналов SITS (10 мкМ) несколько увеличивал расслабление на действие 1-50 мкМ АТФ, но устранял релаксирующее действие АТФ в концентрациях выше 50 мкМ. Таким образом, действие АТФ на СГМК разнонаправлено, зависит от условий предсокращения и вовлекает калиевую и хлорную проводимость мембраны.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (№16-34-00262\16).*

### **МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОТЕАЗАМИ ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ**

**Л.Р. Горбачева<sup>1,2</sup>, И.И. Бабкина<sup>1,2</sup>, И.А. Голяко<sup>1</sup>, М.В. Сидорова<sup>3</sup>, С.М. Струкова<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ; <sup>3</sup>Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, Москва, Россия*

Рецепторы, активируемые протеазами (ПАР), открытые в 90-х годах прошлого столетия относятся к специфическому классу по механизму активации. Агонисты этих рецепторов – протеазы, расщепляют одну пептидную связь во внеклеточном N-конце рецептора с образованием «привязанного» лиганда, который взаимодействуя со второй внеклеточной петлей рецептора, активируют их. ПАР рецепторы участвуют в регуляции различных клеточных функций. Нарушение метаболизма глю-



козы сопровождается различными заболеваниями и приводит к изменению ответной реакции организма на повреждающее воздействие. Цель настоящего исследования – изучение влияния гипергликемии на противовоспалительное действие агонистов PAR1 на клетки линии RBL-2H3 при их активации. Моделирование нормо- и гипергликемии осуществляли инкубацией клеток в среде, содержащей 1 или 4.5 г/л глюкозы, соответственно. Известно, что влияние тромбина на воспалительную реакцию зависит от его концентрации. В настоящем исследовании обнаружено, что действие ионофора A23187 приводит к снижению уровня пролиферации клеток, предобработка клеток как активированным протеином С (АПС) 10 нМ, так и пептидом-агонистом PAR1 (АП9) 10 мкМ приводила к уменьшению данного показателя. В условиях нормогликемии токсическое воздействие A23187 было сильнее выражено, чем при гипергликемии. Однако, высвобождение клетками, активированными A23187,  $\beta$ -гексозаминидазы было выше при гипергликемии, чем при культивировании клеток на среде с нормальным содержанием глюкозы. В условиях нормогликемии ни одна из используемых концентраций тромбина не вызвала воспалительного ответа. Увеличение уровня глюкозы в среде приводило к возрастанию секреции при инкубации с тромбином в концентрации 50 нМ. Инкубация клеток в присутствии АПС и АП9, аналогично тромбину, не изменяло уровня секреции RBL-2H3 при нормогликемии. При гипергликемии АПС и пептид снижали уровень секреции. Таким образом, нами обнаружено, что гипергликемия вызывает проявление провоспалительного эффекта тромбина и противовоспалительного эффекта АПС и его пептидного аналога. Это обуславливает возможность использования АПС и пептида в качестве перспективных противовоспалительных препаратов при заболеваниях, протекающих на фоне нарушения обмена глюкозы.

*Работа осуществляется при поддержке РФФИ, грант № 16-04-01869.*

### **ПРОКОАГУЛЯНТНАЯ СУБПОПУЛЯЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ: МЕХАНИЗМЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ, БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ**

**М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова, Д.Ю. Нечипуренко, Н.А. Подоплева, С.И. Пантелеев, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова, Д.Ю. Нечипуренко, Н.А. Подоплева, С.И. Обыденный, А.В. Беляев, А.В. Балацкий, М.Н. Балацкая, Я.Н. Котова, А.О. Якименко, А.С. Демьянова, А.А. Абаева, Е.О. Артеменко, Ф.И. Атауллаханов**

*Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия*

Тромбоциты – клетки крови, способные к активации и формированию агрегатов, препятствующих кровопотере при повреждении сосудов. При активации исходно гомогенная популяция тромбоцитов делится на две субпопуляции, радикально отличающиеся по своим свойствам: одна из них эффективно формирует агрегаты, вторая – прокоагулянтная – ускоряет реакции свертывания крови. Механизм разделения тромбоцитов на субпопуляции при активации и их (пато)физиологическая функция остаются неясны. Эксперименты проводились на цельной крови здоровых доноров и мышей. Тромбоциты выделялись центрифугированием и гель-фильтрацией, и загружались флуоресцентными красками, чувствительными к концентрации кальция в цитоплазме, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриальном потенциалу. Для исследования взаимодействия факторов свертывания с тромбоцитами использовалось флуоресцентное мечение. Сигнализация и связывание белков детектировались с помощью проточной цитометрии и конфокальной микроскопии; деградация белков цитоскелета изучалась с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Морфология прокоагулянтных тромбоцитов анализировалась с помощью трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии. Для планирования эксперимента и анализа данных были разработаны системно-биологические компьютерные модели сигнализации в тромбоцитах и мембранных реакций на их поверхности. Тромбоциты отвечают на стимуляцию тромбином серией стохастических кальциевых осцилляций, причем повышение уровня стимуляции повышает их частоту. Это ведет к входу кальция в митохондрии через кальциевый унипортер, открытию митохондриальной поры и некротическому механизму гибели в части клеток. У них формируется специфическая морфология: исходное тело клетки служит основой для связывания факторов свертывания и агрегации, а характерный шарообразный вырост обеспечивает выход прокоагулянтных тромбоцитов на границу тромба при его ретракции. Этому дополнительно способствует разрушение цитоскелета и отделение адгезивных рецепторов от цитоскелета тромбоцитов. В результате поверхность тромба укрепляется фибрином и обладает ослабленными адгезионными свойствами. *Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-01342, 16-34-00651, 16-04-00125, 16-04-01163, 16-31-60061, а также Грантами Президента РФ МК-5879.2016.4 и МД-6347.2015.4.*

### **МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ МОНОАМИНОВ НА ПРОТОН-УПРАВЛЯЕМЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ**

**Т.Б. Тихонова, О.И. Барыгин**

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

Протон-активируемые ионные каналы (ASICs) задействованы во многих физиологически значимых процессах, таких как синаптическая передача, обучение, память и др. На данный момент данные о фармакологических агентах, действующих на ASICs, носят фрагментарный характер, однако очевидно, что действие многих из них зависит от конкретного субъединичного состава ASICs. Данная работа направлена на изучение действия ряда моноаминных соединений на нативные ASICs в клетках мозга крысы и сопоставления их действия с данными, полученными на гомомерных ASICs, экспрессированными в клетках CHO. Нейроны мозга крысы выделялись из переживающих срезов методом вибродиссоциации. Токи через ASICs вызывались аппликацией на клетку внеклеточного раствора с различными значениями pH и регистрировались методом локальной фиксации потенциала в конфигурации «целая клетка». Подтверждение того, что pH-вызываемые токи действительно опосредуются ASICs, проверялось с помощью неселективного в отношении определенного субъединичного состава ингибитора ASICs амилорида. Так процент ингибирования токов в ответ на pH 6.5 амилоридом (10 мкМ) составлял  $56 \pm 9\%$  для пирамидных нейронов II слоя префронтальной коры и гигантских холинергических нейронов стриатума,  $57 \pm 7\%$  для малых интернейронов стриатума и  $50 \pm 20\%$  для интернейронов гиппокампа. Исследованные соединения: мемантин, 9-аминоакридин (9-AA) и моноаминное производное фенилциклогексила ИЭМ-1921, разнонаправленно действовали как на нативные, так и на гомомерные ASICs. Так, ИЭМ-1921 потенцировал pH-зависимые токи как в интернейронах гиппокампа, так и в двух типах нейронов стриатума. При этом ИЭМ-1921 потенцировал токи через ASIC2a, но не ASIC1a. 9-AA вызывал угнетение ответов на pH на всех исследованных клетках мозга крысы и гомомерных ASIC1a. Мемантин вызывал потенциалозависимое инги-

бирование нативных ASICs в интернейронах гиппокампа и гомомерных ASIC1a, однако потенцировал ASICs, составленные из субъединиц ASIC2a. Таким образом, выявленные особенности действия моноаминов позволяют заключить, что их действие на нативные ASICs определяется наличием в клетках как субъединиц ASIC1a, так и ASIC2a, и позволяют использовать эти соединения для характеристики субъединичного состава нативных ASICs в нейронах. *Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-01094.*

#### **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ ДЕЙСТВИЯ ГИДРОФОБНЫХ МОНОАМИНОВ НА ПРОТОН-УПРАВЛЯЕМЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ**

**Э.И. Нагаева, Н.Н. Потапова, Л.Г. Магазаник, Д.Б. Тихонов**

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

Протон-управляемые ионные каналы (ASIC) вовлечены в разнообразные физиологические и патологические процессы в центральной нервной системе. Разработка фармакологических средств направленной модуляции (ингибирования или потенцирования) этих каналов является важной задачей для решения проблем, связанных с участием ASICs в регулировании работы нервной системы, а также для создания новых агентов перспективных с точки зрения коррекции ряда патологических состояний. Недавно в ИЭФБ РАН было обнаружено, что ряд гидрофобных моноаминов может потенцировать и ингибировать ASICs в зависимости от их субъединичного состава. Целью данной работы было выявление структурных детерминант специфического действия амин-содержащих соединений. Методом patch clamp было исследовано действие 17 соединений, являющихся производными адамантана, фенилциклогексила и акридина на рекомбинантные ASIC1a и ASIC2a, экспрессируемые в клетках линии CHO. Во всех случаях наиболее активными были моноаминные соединения с протонируемыми аминогруппами. Среди исследованных соединений были обнаружены как ингибиторы так и потенциаторы ASIC1a, в то время как для ASIC2a было обнаружено только потенцирующее действие. Плоская ароматическая структура гидрофобной группировки определяла ингибирование ASIC1a, а “V”-образная структура обуславливала потенциацию ASIC2a. Для ряда соединений наблюдалась корреляция между действием на два типа каналов: уменьшение ингибирующего эффекта на ASIC1a сопровождалось ростом потенциации ASIC2a. На основании полученных данных сделан вывод о том, что действие аминов на ASIC каналы имеет по крайней мере два компонента – потенцирующий (в случае ASIC1a и ASIC2a) и ингибирующий (только для ASIC1a). *Работа поддержана грантом РФФИ 16-14-00122.*

#### **ДОМИНАНТНО-НЕГАТИВНЫЕ БЕЛКИ ORAI РЕГУЛИРУЮТ АКТИВНОСТЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ Imin**

**Д.О. Колесников, А.Ю. Скопин, Л.Н. Глушанкова, Е.В. Казначеева, А.В. Шалыгин**

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, России*

Кальций регулирует множество процессов в живых организмах. Выделяют два пути поступления кальция в цитоплазму: из депо кальция (эндоплазматического ретикулума) и из межклеточного пространства. В заполнении депо участвуют депо-управляемые каналы, находящиеся на плазматической мембране. Нарушения в работе депо-управляемых каналов приводит к развитию различных патологий. Молекулярный состав большинства депо-управляемых каналов недостаточно исследован. Наиболее изучен канал ICRAC, образованный белками ORAI1. Однако изучение биофизических свойств отдельных каналов ICRAC невозможно по причине его малой проводимости – 18–24 фСм. Модельным объектом нашей лаборатории являются эндогенные депо-управляемые каналы Imin. Они обладают схожими с ICRAC биофизическими свойствами, но их проводимость на два порядка выше, что позволяет регистрировать токи отдельных каналов. Мы предположили, что молекулярный состав каналов Imin и ICRAC схож, что дало бы возможность исследовать токи через отдельные эндогенные каналы образованные белками ORAI. Мы работали с тремя группами клеток HEK293: с контрольными – со сверхэкспрессией GFP и с двумя группами клеток со сверхэкспрессией доминантно-негативных белков ORAI1 и ORAI3. Эти белки несут аминокислотную замену по сайту связывания кальция — встраиваясь в пору эндогенного канала, они нарушают его проводимость. С клетками были произведены эксперименты методом локальной фиксации потенциала в конфигурации cell attached. Получали плотный контакт, записывали базальную активность каналов, после чего добавляли уридинтрифосфат (активатор депо-управляемых каналов) в концентрации 100 микромоляр и записывали активность депо-управляемых каналов на разных потенциалах. Каналы Imin встречались лишь в около 16% случаев в клетках со сверхэкспрессией доминантно-негативных белков, против 47% в контрольных клетках. Исходя из вышеказанного, мы полагаем, что каналы Imin регулируются белками ORAI1 и ORAI3, и, возможно, образованы гетеромером из этих белков.

*Исследование было поддержано Российским научным фондом (проект № 14-14-00720).*

#### **ВЛИЯНИЕ МОЛИКСАНА НА ТРАНСПОРТ Na<sup>+</sup> В КОЖЕ ЛЯГУШКИ**

**А.В. Мельническая, З.И. Крутецкая, С.Н. Бутов, Н.И. Крутецкая, В.Г. Антонов**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Кожа лягушки – классический модельный объект для изучения механизмов трансэпителиального транспорта ионов. Ранее нами было показано, что транспорт Na<sup>+</sup> в коже лягушки модулируется различными окисляющими агентами. Впервые обнаружено, что окисленный глутатион (GSSG) и его синтетический аналог препарат глутоксим® («ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург), приложенные со стороны апикальной поверхности кожи, подавляют транспорт Na<sup>+</sup>. В то же время, при добавлении окисляющих агентов со стороны базолатеральной поверхности кожи, GSSG и глутоксим имитируют действие инсулина и стимулируют транспорт Na<sup>+</sup>. Другой препарат – моликсан®, комплекс глутоксима и нуклеозида инозина («ФАРМА-ВАМ») имеет широкое клиническое применение. Однако механизмы клеточного и молекулярного действия этих агентов далеки от полного понимания. В связи с этим, целью данной работы было исследование влияния моликсана на транспорт Na<sup>+</sup> в коже лягушки. Для регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ) кожи лягушки *Rana temporaria* использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания ISC (ISC=IT (трансэпителиальный ток) при трансэпителиальном потенциале – VT=0), потенциал открытой цепи – VOC и трансэпителиальную проводимость gT. Транспорт Na<sup>+</sup> оценивали как амилорид-чувствительный ISC. В среднем (по результатам 10 экспериментов) после приложения 200 мкг/мл моликсана к апикальной поверхности кожи лягушки ISC сни-

жается на  $28.34 \pm 4.32\%$ , VOC уменьшается на  $30.54 \pm 8.45\%$ , gT незначительно увеличивается на  $3.34 \pm 1.05\%$ . В то же время, после приложения 1 мг/мл моликсана со стороны базолатеральной поверхности, моликсан, также как инсулин и другие исследованные дисульфидсодержащие агенты, стимулирует транспорт  $\text{Na}^+$ . В среднем (по результатам 10 экспериментов), ISC возрастает на  $48.45 \pm 9.67\%$ , VOC – на  $44.37 \pm 12.21\%$ , величина gT не изменяется. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что GSSG и его фармакологические аналоги – препараты моликсан и глутоксим, однонаправленно модулируют транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки.

#### **ВЛИЯНИЕ МЕТИЛ- $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ДЕПО-ЗАВИСИМЫЙ ВХОД $\text{Ca}^{2+}$ В МАКРОФАГИ**

**Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, А.А. Наумова, Н.И. Крутецкая, С.Н. Бутов**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

В настоящее время известно, что ключевые белки, участвующие в процессах  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналикации, локализованы в специализированных липидных микродоменах рафтах. Рафты представляют собой упорядоченные жидкие домены в мембране, обогащенные холестерином и сфинголипидами. Депо-зависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$  является универсальным механизмом регулируемого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в невозбудимые клетки, при котором вход  $\text{Ca}^{2+}$  из наружной среды регулируется степенью заполнения внутриклеточных  $\text{Ca}^{2+}$ -депо. Установлено, что депо-зависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$  представляет собой мультимолекулярный белковый комплекс, компоненты которого высоко динамичны, и взаимодействия между ними жестко регулируются. При этом сборка этого комплекса происходит в рафтах. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможное участие липидных микродоменов рафтов в регуляции депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$ , индуцированного ингибитором эндоплазматических  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз тапсигаргином, в перитонеальных макрофагах крысы. Одним из основных подходов для выявления роли рафтов в процессах внутриклеточной сигналикации является снижение уровня мембранного холестерина. Обнаружено, что частичная экстракция холестерина приводит к диссоциации большинства мембранных белков, связанных с рафтами. Наиболее эффективным и часто используемым акцептором холестерина является метил- $\beta$ -циклодекстрин (mBCD). Так, согласно данным литературы, инкубация THP-1 макрофагов с 10 мМ mBCD в течение 60 мин приводит к экстракции до 85% холестерина из рафтов. С использованием флуоресцентного  $\text{Ca}^{2+}$ -зонда Fura-2AM исследовано влияние mBCD на  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы, индуцируемые тапсигаргином в макрофагах. Показано, что преинкубация макрофагов с 10 мМ mBCD в течение 1 ч до введения 0,5 мМ тапсигаргина не влияет на фазу мобилизации  $\text{Ca}^{2+}$  из депо, но значительно (по данным 7 экспериментов на  $65.5 \pm 9.3\%$ ) подавляет последующий депо-зависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофаги. Полученные данные свидетельствуют об участии рафтов в активации депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофаги. Это согласуется с данными о том, что преинкубация с mBCD модулирует активацию депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$ , индуцированного тапсигаргином в тромбоцитах, клетках эмбриональной почки и клетках слюнной железы человека.

#### **РОЛЬ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В ОБЪЕМ-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК**

**С.В. Гусакова, Л.В. Смаглий, И.В. Ковалев, Ю.Г. Бирулина, В.С. Рыдченко, С.Н. Орлов** *Сибирский государственный медицинский университет, Томск; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Физиологический и патофизиологический статус кровеносных сосудов и висцеральных органов во многом зависит от сократительной активности входящих в их состав гладкомышечных клеток (ГМК). Сократительные реакции ГМК сопровождаются изменением их объема, который регулируется рядом ион-транспортных систем, к числу которых относятся  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$  – котранспорт (NKCC). В данной работе изучали вклад газотрансмиттеров ( $\text{CO}$ ) и ( $\text{H}_2\text{S}$ ) в объем-зависимые механизмы регуляции функции ГМК. Сократительную активность дезинтегрированных кольцевых сегментов крыс линии Wistar исследовали методом механографии. Сокращения индуцировали гиперкалиевым раствором (30 мМ KCl) и фенилэфрином (PE, 10  $\mu\text{M}$ ). Одновременную регистрацию электрической и сократительной активности гладких мышц мочеочника крысы проводили методом двойного сахарозного моста. Активность NKCC оценивали радионуклидным методом в ГМК крыс линии Wistar как буметанид-чувствительный компонент входа в клетку  $86\text{Rb}^+$ . В качестве донора  $\text{H}_2\text{S}$  использовали гидросульфид натрия (NaHS), а в качестве донора  $\text{CO}$  – tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer (CORM-2). В сегментах аорты крысы, предсокращенных 30KCl, добавление NaHS в концентрациях 5–50 мкМ приводило к дополнительному увеличению механического напряжения, а в концентрациях свыше 100 мкМ – к расслаблению препаратов. В сегментах, предсокращенных ФЭ, NaHS оказывал дозозависимое релаксирующее действие. Констрикторное действие NaHS (5–100  $\mu\text{M}$ ) устранялось на фоне предобработки препаратов ингибитором NKCC буметанидом. Эти данные подтверждены радионуклидными исследованиями: NaHS (50–100  $\mu\text{M}$ ) увеличивал активность NKCC, тогда как последующее добавление 500 мкМ NaHS снижало активность NKCC до исходного уровня. CORM-2 вызывал дозозависимое расслабление сегменты аорты, предсокращенных ФЭ и 30KCl. Расслабление сосудистых препаратов при действии NaHS и CORM-2 снижалось в присутствии блокаторов калиевых каналов. С другой стороны, NaHS оказывал дозозависимое констрикторное действие на мочеочник морской свинки, тогда как CORM-2 угнетал его электрическую и сократительную активность. При этом буметанид ослаблял действие CORM-2 и NaHS на мочеочник морской свинки. Таким образом, действие  $\text{CO}$  и  $\text{H}_2\text{S}$  в гладкомышечных клетках зависит от активности NKCC.

#### **СВЕТ В МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ РЕЦЕПТОР-УПРАВЛЯЕМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ**

**П.Д. Брежестовский** *Институт системных нейронаук, Университет Экс-Марселя, Марсель, Франция*

Фотохромные переключатели и генетически кодируемые биосенсоры произвели революцию в современных нейрофизиологических исследованиях. Эти подходы открыли беспрецедентные возможности для мониторинга и модуляции функций специфических нейронов и в буквальном смысле позволили проливать свет на выяснение механизмов функций нейронных сетей в норме и патологии. Созданы и продолжают совершенствоваться новые светочувствительные биосенсоры для неинвазивного мониторинга ионов, ферментов и ионных каналов. Особенно важное значение для нейрофизиологии имеет создание фотохромных переключателей, регулирующих быструю тормозную синаптическую передачу в нервной системе позвоночных, которая определяется в основном ГАМКергическими и глицинергическими синапсами. Медиаторы, высвобождаемые из пресинаптических окончаний активируют расположенные постсинаптически анион-избирательные рецепторы

ГАМК и глицина, нарушение активности которых приводит к таким патологиям, как эпилепсия и гиперекplexия. Каждая конкретная комбинация субъединиц этих рецепторов проявляет различные фармакологические, биофизические и функциональные свойства. Используя генетически кодируемые биосенсоры, мы ранее разработали методы для неинвазивного мониторинга активации рецептор-управляемых каналов. В последнее время совместно с химиками получены и исследованы новые типы регулируемых светом антагонистов и потенциаторов. Это направление оптофармакологии, открывает новые возможности для быстрого оптического контроля цис-петельных рецепторов и, следовательно, для эффективной модуляции нейронных сетей в нервной системе позвоночных.

#### **LIGHT IN MODULATION OF FUNCTION OF RECEPTOR-OPERATED CHANNELS**

**P. Bregestovski** *Brain Dynamics Institute, Aix-Marseille University, Marseille, France*

Contemporary neuroscience research has been revolutionized by photogenetic tools, photochromic switches and genetically encoded biosensors. These approaches provided unprecedented opportunities for monitoring and modulating the function of specific neurons and have literally shed light on the mechanisms of neuronal networks function in the brain. A number of light-sensitive biosensors for non-invasive monitoring of ions and enzymes have been developed. Particularly important for neurophysiology is development of photochromic switches regulating fast inhibitory synaptic transmission in the nervous system of vertebrates, which is determined mainly by GABAergic and glycinergic synapses. Neurotransmitters liberated from presynaptic terminals activate postsynaptically anion selective GABA and glycine receptors (GlyRs). Together with the nicotinic acetylcholine and serotonin (5-HT<sub>3</sub>R) receptors, it belongs to the superfamily of pentameric cys-loop ligand-gated channels. Each specific combination of subunits exhibits distinct pharmacological and biophysical properties. Using genetically encoded biosensors we developed methods for non-invasive monitoring the activity of GABA and glycine receptor channels activation. Recently, a new types of light regulated antagonists and potentiators were developed, which open the possibility for rapid optical control of cys-loop receptor channels and consequently, functioning of neuronal networks in the nervous system of vertebrates.

#### **PENTAMERIC LIGAND-GATED ION CHANNELS FUNCTIONING AT THE ATOMIC RESOLUTION**

**P.J. Corringer** *Pasteur Institute, Channel-receptor Unit, CNRS UMR 3571, 25 rue du Docteur Roux, Paris, France*

Pentameric channel-receptors, including nicotinic acetylcholine, glycine and GABA<sub>A</sub> receptors, play a key role in fast excitatory and inhibitory transmission in the nervous system and are the target of numerous therapeutic and addictive drugs. They carry several neurotransmitter binding sites which govern the opening of a transmembrane ion channel. Extensively expressed in animals, they were found in several bacteria, especially the homolog from the cyanobacteria *Gloeobacter violaceus* (GLIC) which functions as a proton-gated ion channel. The simplified architecture of this archaic homologue, as well as its prokaryotic origin, allowed solving its X-ray structure in two closed and one open conformation. Those static structures suggest that channel opening occurs through symmetrical quaternary twist and “blooming” motions, together with tertiary deformation, according to a global transition that couples channel opening with reorganization of the binding pockets for neurotransmitters and allosteric effectors. To investigate the dynamics of the protein, we further engineered multiple fluorescent reporters, each incorporating a bimane and a tryptophan/tyrosine, whose close contact causes fluorescence quenching. We show that proton application causes a global compaction of the extracellular subunit interface, coupled to an outward motion of the M2-M3 loop near the channel gate, and that these movements are highly conserved in lipid vesicles and detergent micelles. Real-time recordings show that most structural reorganizations are completed within 2ms, much faster than channel opening. Our work thus identifies and structurally characterizes a new pre-active intermediate state in the transition pathway towards activation. Altogether, these combined structural and functional data give insights into the allosteric mechanisms operating in these integral membrane proteins, and pave the way for the rational design of new classes of allosteric modulators.

#### **Selected references**

1. Bocquet et al, *Nature*, 457:111-4 (2009)
2. Prevost, M., et al *Nat Struct Mol Biol*. 19:642-9 (2012).
3. Sauguet et al, *Proc Natl Acad Sci USA*, 111:966-71 (2014)

#### **STRUCTURAL AND FUNCTIONAL VARIETY OF GABA-A RECEPTOR SUBTYPES**

**Margot Ernst, Marco Treven, Philip Schmiedhofer, Xenia Simeone**

*Center for Brain Research, Department for Molecular Neurosciences, Medical University of Vienna, Austria*

Atomic resolution structures of cys-loop receptors, including one of a GABA<sub>A</sub> receptor subtype, allow amazing insights into the structural features and motions of these pentameric ligand-gated ion channels. Here we present a comprehensive analysis of more than thirty cys-loop receptor structures that revealed several allosteric binding sites not previously described in GABA<sub>A</sub> receptors. Four so far undescribed putative ligand binding sites can be identified based on this structural data. The large fragment of the intracellular domain that is present in the structure of the 5-HT<sub>3</sub> receptor can be utilized to generate GABA<sub>A</sub> receptor models with a corresponding intracellular domain fragment. Results of mutational and photoaffinity ligand studies in GABA<sub>A</sub> receptors can be analyzed in the light of the model structures. This leads to an assignment of candidate ligands to proposed novel pockets. Candidate binding sites for furosemide and neurosteroids in the trans-membrane domain are presented. The structural studies can serve as hypotheses generators, and some previously controversial structural interpretations of biochemical data can be resolved in the light of the presented multi-template approach to comparative modeling. Crystal and cryo-EM microscopic structures of the closest homologues that were solved in different conformational states provided important insights into structural rearrangements of binding sites during conformational transitions. The impact of structural variation and conformational motion on the shape of the investigated binding sites can be studied in this way. Structure guided approaches to identify new binding sites along with specific ligands for these are possible, and lead to a new generation of beta-subtype selective allosteric modulators. The structures can also shed light on the molecular basis that underlies the functional diversity among receptor isoforms. We are specifically interested in the molecular mechanisms behind different modes of allosteric modulation, and how they differ among receptor subtypes.

**MODULATION OF GLUTAMATE RECEPTOR FUNCTION BY INTERACTING MEMBRANE-RESIDENT PROTEINS**

**M. Hollmann<sup>1</sup>, S. Bhattacharya<sup>4</sup>, M. Aslam<sup>5</sup>, T. Strasdeit<sup>1,2,3</sup>, J. von Engelhardt<sup>5</sup>, S.F. Traynelis<sup>4</sup>, S.C. Haering<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biochemistry I - Receptor Biochemistry, Ruhr University Bochum, Bochum, Germany & NIH/NICHD, Bethesda, MD, USA; <sup>2</sup>Graduate School of Chemistry and Biochemistry, Ruhr University Bochum, Bochum, Germany; <sup>3</sup>RUB Research School<sup>plus</sup>, Ruhr University Bochum, Bochum, Germany; <sup>4</sup>Dept of Pharmacology, Emory University School of Medicine, Atlanta, USA; <sup>5</sup>DZNE – German Center for Neurodegenerative Diseases, Heidelberg, Germany

Although ionotropic glutamate receptors (iGluRs) are able to function as tetrameric complexes on their own, many interacting and modulating auxiliary subunits have been identified over the last 15 years. Some of them influence biophysical properties of iGluRs, others modulate the trafficking of the receptors to the plasma membrane, and still other do both. The most commonly known auxiliary proteins are the transmembrane AMPA receptor regulatory proteins (TARPs), the cornichon homologs (CNIH), and the neuropilin- and tolloid-like proteins (NETOs). We used two different heterologous expression systems, *Xenopus* oocytes and HEK-293 cells, to characterize another class of proteins that modulate AMPA receptor function. We show that certain members of the claudin family, which have high structure and sequence homology with the TARP proteins, act as AMPAR modulators. Claudins are generally known as tight junction proteins that seal passageways within and in between plasma membranes. Of the 22-24 different claudin genes identified in rat, mouse, and humans, few have been functionally characterized. We show that claudin-20 and claudin-24 potentiate the current amplitude and modulate the desensitization of certain AMPA receptors. Other iGluR subtypes such as NMDARs and kainate receptors are not affected, and other claudins do not show this modulatory action. Amplitude potentiation was seen with GluA1 and GluA2 receptors, with effects being more pronounced with flip than with flop splice variants and with R than with Q editing variants.

We further show that both claudin-20 and claudin-24 are expressed in the brain, particularly in the granule cell layers of the cerebellum and the olfactory bulb, with claudin-24 in addition found at low levels in principal cells of the hippocampus. Moreover, using FRET after acceptor bleaching, we demonstrated that claudin-20 interacts directly with GluA1.

In summary, we identified an unexpected new class of AMPAR modulators that show exquisitely editing variant-specific effects, which are reminiscent of the properties of the type II-TARP g5. Supported by DFG grant HO 1118/11-2 to M.H.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СУС-ПЕТЕЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ С НЕЙРОТОКСИНАМИ И ЭНДОГЕННЫМИ МОДУЛЯТОРАМИ**

**В.И. Цетлин** *Институт биоорганической химии им М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

Среди ионных каналов, выполняющих в организме самые разнообразные роли, важное место занимают так называемые Сус-петельные рецепторы – лиганд-управляемые ионные каналы, к которым относятся никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR), ионотропный подтип серотонинового рецептора (5HT-3), глициновые рецепторы (GlyR), ионотропные рецепторы  $\gamma$ -аминоасляной кислоты (GABA-A), а также ряд бактериальных рецепторов (GLIC, ELIC), недавние рентгеноструктурные исследования которых как в свободном виде, так и в комплексе с различными лигандами и модуляторами обеспечили быстрый прогресс в этой области. Нейротоксины различных классов (низкомолекулярные органические соединения, пептиды и белки) ранее сыграли важнейшую роль в идентификации и выделении рецепторов, а в настоящее время являются тонкими инструментами в фармакологических исследованиях рецепторов и ионных каналов, позволяя определять уровни индивидуальных подтипов одного и того же рецептора (например, мышечных и различных нейрональных nAChR) в норме и при различных патологиях – мышечных нарушениях, психических и таких нейродегенеративных заболеваниях как болезни Альцгеймера и Паркинсона. В исследованиях nAChR большую помощь оказывают  $\alpha$ -конотоксины, нейротоксические пептиды из ядовитых моллюсков *Conus*, а также белковые нейротоксины из ядов змей. Анализ взаимодействий пептидных и белковых нейротоксинов с nAChR и другими Сус-петельными рецепторами позволяет получить информацию о соответствующих поверхностях связывания, необходимую для создания новых лекарств.

В докладе будут суммированы недавние результаты, полученные в Отделе молекулярных основ нейросигнализации в сотрудничестве с лабораториями ИБХ и других институтов РАН, а также с зарубежными центрами в рамках международных грантов. Эти работы включали синтез более эффективных  $\alpha$ -конотоксинов, протеомные исследования змеиных ядов и открытие новых типов трехпетельных нейротоксинов, а также анализ взаимодействия некоторых белков семейства Луб (имеющих пространственную структуру тоже трехпетельного типа и выполняющих роль эндогенных модуляторов nAChR) с различными Сус-петельными рецепторами.

**ТОКСИНЫ ПАУКОВ, ВОЗДЕЙСТВУЮЩИЕ НА ПОТЕНЦИАЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ: НЕОЖИДАННОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ**

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

Пауки производят, вероятно, самые богатые яды на Земле. Поскольку функция ядов состоит в парализации добычи и отпугивании агрессоров, неудивительно, что потенциал-чувствительные натриевые каналы зачастую выступают мишенью токсинов пауков. Тем не менее, существует большое разнообразие таких токсинов, с точки зрения как специфичности, так и механизма их действия. Например, некоторые токсины пауков воздействуют на различные натриевые каналы с близкой эффективностью, в то время как другие селективны к каналам насекомых, будучи совсем не активными в отношении млекопитающих. Такие специфичные инсектотоксины, как полагают, являются потенциально безопасными биоинсектицидами. Токсины пауков могут выступать поровыми блокаторами или воздействовать на воротные механизмы натриевых каналов. Среди модификаторов воротных механизмов мы находим токсины, облегчающие или ингибирующие активацию, а также ингибиторы инактивации каналов. Эти эффекты, как полагают, связаны с конкретными частями каналов (так называемыми рецепторными сайтами), с которыми токсины связываются и за счет чего влияют на ворота определенным образом. Удивительно, но мы также знаем примеры, когда токсины пауков воздействуют одновременно как на активацию, так и на инактивацию натриевых каналов. Совсем недавно мы обнаружили, что ингибиторы активации натриевых каналов из яда пауков показывают многообещающую активность против мутантных каналов, ассоциированных с гипокалиемическим периодическим параличом. Токсины пауков блокируют так называемые «токи через воротную пору» в этих каналах и, таким образом, предоставляют интересные возможности для терапии. Работа поддержана грантом РФФ № 14-14-01180 и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОЙ АКТИВАЦИИ ИОННОГО КАНАЛА TRPV1 МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

А.О. Чугунов, П.Е. Волынский, Н.А. Крылов, Д.Е. Нольде, Р.Г. Ефремов

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

Жарочувствительный ионный канал TRPV1 — один из наиболее изученных эукариотических белков, отвечающих за температурное чувство. При нагревании  $>43$  °C, он быстро, но обратимо открывает пору, проницаемую для ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , что приводит к деполяризации нейронов и запускает распространение потенциалов действия. Лежащие в основе этого молекулярные механизмы и конформационная перестройка порового домена канала представляют несомненный теоретический и прикладной интерес, поскольку дают возможность влиять на терморегуляцию всего организма. Несмотря на то, что структуры открытого (O) и закрытого (Z) состояния канала были недавно получены методом криоэлектронной микроскопии, тонкие детали перехода между этими состояниями остаются непонятыми. В этой работе мы используем молекулярную динамику центральной части канала TRPV1 (без N-концевых анкериновых повторов и C-концевого цитоплазматического участка) в явно заданной липидной мембране, чтобы изучить конформационные особенности O- и Z-состояний, а также переходов между ними, которые наблюдаются в рассчитанных траекториях МД благодаря длительному времени расчета (в сумме около 10 мкс), а также нескольким повторным расчетам при разных температурах (как ниже, так и выше температуры активации).

Обнаружилось, что поровый домен и близлежащие петли претерпевают существенную перестройку в зависимости от температуры, причем эффект асимметричный — его можно приписать главным образом одной субъединице канала из четырех, что слегка отличается от общепринятой модели «диафрагмы» открывания ионных каналов. Анализ структурных, динамических и гидрофобных параметров поры канала в процессе активации показал рост конформационной энтропии, что находится в соответствии с современными идеями температурной чувствительности белков.

### Литература

1. Chugunov A.O., Volynsky P.E., Krylov N.A., Nolde D.E., Efremov R.G. (2016). Temperature-sensitive gating of TRPV1 channel as probed by atomistic simulations of its trans- and juxtamembrane domains. Submitted.

## НОВЫЕ СВОЙСТВА КЛАССИЧЕСКИХ ТОКСИНОВ

Ю.Н. Уткин<sup>1,2</sup>, Е.А. Вульфийус<sup>3</sup>, Д.С. Кудрявцев<sup>1</sup>, И.В. Шелухина<sup>1</sup>, И.Е. Кашеверов<sup>1</sup>, Т.В. Андреева<sup>1</sup>, В.Г. Старков<sup>1</sup>, А.В. Осипов<sup>1</sup>, В.И. Цетлин<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия; <sup>3</sup>Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия*

Фосфолипазы А2 (ФЛА2) и трех-петельные токсины (ТПТ) представляют собой наиболее многочисленные семейства белков змеиных ядов. Они проявляют различные виды биологической активности, набор которых постоянно расширяется. В поисках новых эффекторов никотиновых холинорецепторов (нХР), мы изучали способность ФЛА2 из разных змей блокировать ответы нейронов прудовика на ацетилхолин или цитизин и ингибировать связывание  $\alpha$ -бунгаротоксина с нХР и ацетилхолин-связывающими белками (АСБ). Было установлено, что ФЛА2 ядов степной гадюки и гадюки Никольского, кобры *Naja kaouthia* и крайта *Bungarus fasciatus* из разных семейств змей неконкурентно подавляли токи в нейронах прудовика и конкурировали с  $\alpha$ -бунгаротоксином за связывание с нХР мышечного и нейронного  $\alpha 7$ -типов, а также с АСБ. Наблюдаемые эффекты не зависели от фосфолиполитической активности. Поскольку содержание ФЛА2 в ядах достаточно высоко, обнаруженная активность может способствовать пагубному действию ядов. Полученные данные свидетельствуют о том, что способность взаимодействовать с нХР может быть общим свойством ФЛА2 змеиного яда. Ионотропные рецепторы  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМКР) являются членами семейства Cys-петельных рецепторов, которое включает в себя также нХР. Они регулируют торможение нейронов и являются мишенью бензодиазепинов и общих анестетиков. Во время поиска новых лигандов ГАМКР, мы обнаружили, что ТПТ  $\alpha$ -кобратоксин ( $\alpha$ -Ctx), классический блокатор нХР, полностью блокировал ГАМК-индуцированные токи в рецепторах  $\alpha 1\beta 3\gamma 2$  типа, экспрессируемых в ооцитах *Xenopus* ( $\text{IC}_{50} = 236$  нМ) и с меньшей активностью ингибировал ГАМКР  $\alpha 1\beta 2\gamma 2 \approx \alpha 2\beta 2\gamma 2 > \alpha 5\beta 2\gamma 2 > \alpha 2\beta 3\gamma 2$  и  $\alpha 1\beta 3\delta$  типов. Рецептор  $\alpha 1\beta 3\gamma 2$  типа также ингибировался некоторыми другими ТПТ, включая  $\alpha$ -нейротоксины длинного типа  $\alpha$ -бунгаротоксин и Ls III, а также нетрадиционный токсин WTX. Электрофизиологические эксперименты выявили смешанный конкурентный и неконкурентный тип ингибирования  $\alpha$ -CTX. Моделирование и молекулярно-динамические исследования показали, что  $\alpha$ -Ctx взаимодействует с ГАМКР таким же образом, как он взаимодействует с лиганд-связывающим доменом нХР. Таким образом, даже очень хорошо изученные змеиные токсины могут демонстрировать новые неожиданные свойства.

## АКТИН-УПРАВЛЯЕМЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ В ЭЛЕКТРОНЕВОЗБУДИМЫХ КЛЕТКАХ

А.В. Сударикова, В.И. Чубинский-Надеждин, Ю.А. Негуляев, Е.А. Морачевская

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

В последние годы появляются новые данные, свидетельствующие о значимости потенциал-независимых натриевых каналов для регуляции клеточных функций и передачи сигнала. В различных клетках неэпителиального происхождения, в том числе, клетках крови найдены натрий-селективные каналы, активность которых критически зависит от состояния актинового цитоскелета. Нами показана и детально изучена функциональная связь натриевых каналов с динамикой примембранного актина в клетках лейкемии человека K562. В клетках лимфомы U937 активность каналов также регулировалась разборкой и сборкой микрофиламентов. В то же время неизвестна молекулярная природа натриевых каналов, которые на основании цитоскелет-зависимого механизма активации и инактивации могут быть названы «актин-управляемыми». Работа направлена на определение возможных молекулярных коррелятов каналов и их функциональной роли в клетках лейкемии человека K562 и лимфомы U937. Ранее нами показана экспрессия на уровне мРНК альфа-, бета, гамма-hENaC, TRPM4 в клетках K562 и U937. В патч-кламп экспериментах определены биофизические характеристики натриевых каналов: они характеризуются проводимостью 10–12 пСм (145 мМ  $\text{Na}^+$ ), непроницаемы для двухвалентных катионов ( $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ), не блокируются амилоридом. Выявлена активация каналов при внеклеточном действии трипсина, аналогичный эффект ранее показан для каналов ENaC почки. Электрофизиологические тесты, включая отсутствие кальций-зависимой активации, не дают аргументов в пользу

TRPM4 как возможного прототипа исследуемых каналов. Полученные результаты позволяют предположить, что это амilorид-нечувствительные каналы ENaC. Функциональная экспрессия альфа-субъединицы ENaC подтверждена с помощью иммуноцитохимических подходов. С использованием анионного красителя DiBAC4(3) проанализировано участие исследуемых каналов и актинового цитоскелета в регуляции мембранного потенциала в клетках лейкемии человека. Выявлен интересный эффект натрий-зависимой деполяризации при механической стимуляции мембраны протоком жидкости. Активация каналов при разборке цитоскелета, вероятно, вносит вклад в деполяризацию плазматической мембраны. *Работа выполнена при поддержке РФФИ № 15-04-02950, 15-34-20464.*

**СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ДОМЕНОВ КАТИОННЫХ КАНАЛОВ: ОТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ЛИГАНДАМИ ДО ТЕРМОДИНАМИКИ ФОЛДИНГА МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ *IN VITRO***

**З.О. Шенкарев, А.С. Парамонов, М.Ю. Мышкин, Е.Н. Люкманова, Д.С. Кульбацкий, М.А. Шулепко, Л.Н. Шингарова, А.С. Арсеньев**  
*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

Потенциалозависимые K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> каналы (Kv и Nav) играют важную роль в функционировании сердечнососудистой, нервной и мышечной систем организма, в частности, отвечая за проведение нервного импульса. Нарушение работы этих каналов приводит к развитию ряда заболеваний, например, судорожных расстройств, периодического паралича, миотонии, атаксии, аритмий, мигрени и хронической боли. Потенциалозависимые каналы имеют гомологичное модульное строение и состоят из четырех одинаковых субъединиц (Kv) или четырех псевдо-субъединиц в составе слитной полипептидной цепи (Nav), окружающих ионную пору. Каждая из (псевдо-)субъединиц включает в себя потенциалочувствительный (рецепторный) домен (ПЧД, ~150 а.о.), сформированный четырьмя трансмембранными спиралями (S1-S4), и фрагмент (S5-S6), участвующий в формировании поры. На ПЧД локализованы сайты связывания природных и синтетических соединений, влияющих на потенциалозависимую активацию, например, «вольт-сенсорных» токсинов. ПЧД рассматриваются как перспективные мишени для биомедицинских препаратов, селективно модулирующих работу отдельных каналов. Модульная организация Kv и Nav каналов позволяет предположить, что в некоторых случаях задачи их изучения могут быть упрощены и сведены к исследованию фрагментов, содержащих изолированные ПЧД. В докладе приводятся результаты структурных исследований ПЧД каналов KvAP, Kv2.1 и Nav1.4 методом <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N-ЯМР спектроскопии. Полученные результаты позволили охарактеризовать пространственную структуру доменов в различных мембраноподобных средах, а также описать характерные модели внутримолекулярной подвижности свойственной этим белкам на двух временных диапазонах (пс-нс и мкс-мс). ЯМР исследования позволили описать молекулярные механизмы взаимодействия мембраноактивных «вольт-сенсорных» токсинов пауков с ПЧД. Изучение термодинамики фолдинга ПЧД-KvAP в средах на основе мицелл детергентов позволило впервые детально охарактеризовать процесс холодной денатурации для спирального мембранного белка. Ранее «парадоксальный» процесс холодной денатурации был описан только для глобулярных (водорастворимых) белков.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (№16-14-10338 исследование ПЧД-Nav1.4) и РФФИ (№ 14-04-01162 исследование термодинамики фолдинга ПЧД-KvAP).*

**НОВЫЕ ПРИРОДНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ ЛИГАНДЫ В СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ Cys-ПЕТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И КАК БАЗА ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ**

**И.Е. Кашеверов<sup>1</sup>, Д.С. Кудрявцев<sup>1</sup>, И.В. Шелухина<sup>1</sup>, Е.Н. Спирина<sup>1</sup>, И.А. Иванов<sup>1</sup>, М.Н. Жмак<sup>1</sup>, Т.Н. Макарьева<sup>2</sup>, В.А. Стоник<sup>2</sup>, А.О. Чугунов<sup>1</sup>, Р.Г. Ефремов<sup>1</sup>, Ю.Н. Уткин<sup>1</sup>, В.И. Цетлин<sup>1</sup>**  
*<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; <sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДО РАН, Владивосток, Россия*

Семейство Cys-петельных рецепторов является сегодня одним из наиболее изученных среди мембранных ионных каналов, благодаря наличию богатого природного источника одного из представителей – никотинового ацетилхолинового рецептора (nAChR) электрических органов рыб, обнаружению более простых структурных гомологов, а также открытию большого количества лигандов. Современные исследования этих рецепторов нацелены на выяснении структурных различий между их разными представителями и подтипами и анализе влияния этих различий на фармакологические свойства. При этом часто используются два подхода – применение гомологов рецепторов и поиск или создание новых активных и селективных лигандов. Мы использовали в работе такой известный структурный гомолог nAChR как ацетилхолин-связывающий белок (AChB), а также оценили лиганд-связывающие возможности модифицированного фрагмента пептида С рецептора (high affinity peptide). Кристаллическая структура АХБ в комплексе с  $\alpha$ -конотоксином G1C (токсическим пептидом из яда *Conus geographus*, высоко селективным ингибитором  $\alpha 3\beta 2$  nAChR) позволила предложить аминокислотные остатки данного рецептора, определяющие его высокое сродство к этому лиганду. Синтез серии аналогов  $\alpha$ -конотоксина G1C и исследование их активности на  $\alpha 3\beta 2$  nAChR подтвердили эти предположения. Конструирование аналогов другого  $\alpha$ -конотоксина Pn1A, направленное на создание мощных и селективных лигандов для  $\alpha 7$  nAChR, было проведено с использованием расчетного метода PST (protein surface topography). Три аналога с [A9R]-мутацией показали высокое сродство к  $\alpha 7$  nAChR, а радиоактивная форма одного из них связывалась с  $\alpha 7$  nAChR с Kd = 1.3 нМ и может использоваться как маркер этого рецептора. Хорошие перспективы для практического применения показал блокатор мышечных nAChR – пептид аземиопсин, открытый нами недавно в яде бирманской гадюки. Как таковой, он сейчас проходит стадию доклинических испытаний в качестве миорелаксанта местного применения, а его модифицированный фрагмент уже прошел успешную апробацию как агент для уменьшения мимических морщин. Клинический потенциал могут иметь и некоторые алкалоиды из морских беспозвоночных, которые также показали способность взаимодействовать с определенными подтипами nAChR (например, выявленный нами новый агонист  $\alpha 7$  nAChR – 6-бромогипафорин).

**ДИПОЛЬНЫЕ МОДИФИКАТОРЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ ПОРООБРАЗУЮЩИХ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ**

**С.С. Ефимова, Л.В. Шагина, В.В. Малев, О.С. Остроумова**  
*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Дипольные модификаторы – это соединения, способные влиять на дипольный потенциал модельных и клеточных мембран. Этот скачок потенциала на границе раздела фаз бислой-раствор играет существенную роль в регуляции транспорта

веществ через мембрану (Rokitskaya et al., Biophys.J., 2002; Luchian and Mereuta, Langmuir, 2006; Ostroumova et al., Langmuir, 2007; Ostroumova et al., Langmuir, 2010; Lundbaek et al., PNAS, 2010; Efimova et al., Langmuir, 2014). К дипольным модификаторам относятся флавоноиды и стирилпиридиновые красители. Показано, что флавоноиды уменьшают, а стирилпиридиновые красители увеличивают дипольный потенциал липидных бислоев. Среди изученных флавоноидов и стирилпиридиновых красителей самыми эффективными диполь-модифицирующими агентами являются флоретин и RH 421, соответственно. В работе суммированы результаты исследования влияния дипольных модификаторов на мембранную активность порообразующих белков и пептидов. Обобщение полученных результатов позволило предложить модель мембранной активности дипольных модификаторов, включающую их липид-опосредованное действие на ионные каналы и непосредственное взаимодействие модификаторов с порообразующими молекулами. Установлено, что дипольный потенциал мембраны влияет на каналобразующую активность антимикробных пептидов цебропинов. Изменение плотности упаковки мембранных липидов при адсорбции флоретина и RH 421 влияет на олигомеризацию цебропинов при образовании ими ион-проводящих пор. Показано, что рост равновесного амилоид-индуцированного трансмембранного тока при добавке флоретина обусловлен электростатическим взаимодействием между положительно заряженным каналобразующим агентом и отрицательно заряженным модификатором. Выявлено, что 5- и 4'- гидроксильированные флавоноиды взаимодействуют с сенсором напряжения альфа-гемолизинной поры. В результате образования водородных связей изменяется потенциал-чувствительность альфа-гемолизинного канала. *Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 15-34-20356), ФАНО России и Стипендии Президента РФ (СП-69-2015.4).*

### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕОДНОРОДНОСТИ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКИ**

**А.В. Шалыгин, Д.О. Колесников, А.Ю. Скопин, Л.Н. Глушанкова, Е.В. Казначеева**  
*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Депо-управляемые каналы плазматической мембраны активируются при опустошении внутриклеточных кальциевых депо. Эти каналы играют важную роль в кальциевом гомеостазе клеток, а нарушения в их работе связаны с различными заболеваниями. Молекулярный состав и регуляция этих каналов остаются недостаточно изученными. Методом локальной фиксации потенциала в конфигурации, где регистрируются токи через отдельные каналы, мы продемонстрировали, что в клетках могут сосуществовать несколько типов депо-управляемых каналов. Так в клетках A431 и HEK293 нами были охарактеризованы три типа кальциевых каналов: малоселективные каналы I<sub>max</sub> с проводимостью 17 пСм, неселективные каналы I<sub>NS</sub> с проводимостью 4,5 пСм и высокоселективные каналы I<sub>min</sub> с проводимостью 1,2 пСм. Следующей задачей было определить, отличается ли молекулярный состав этих каналов. Известно два семейства белков, участвующих в формировании депо-управляемых каналов: белки ORAI и TRPC. Мы обнаружили, что каналы I<sub>max</sub> состоят из белков TRPC1 (причем белки ORAI не входят в состав поры), белки TRPC3 являются регуляторной субъединицей каналов I<sub>NS</sub>. Были получены данные, указывающие на участие белков ORAI в формировании каналов I<sub>min</sub>, белки TRPC1 и TRPC3 не влияли на каналы I<sub>min</sub>. Основными активаторами депо-управляемых каналов являются кальциевые сенсоры эндоплазматического ретикула белки семейства STIM. У млекопитающих есть два гомолога: белки STIM1 и STIM2, с разной чувствительностью к концентрации кальция в депо. Неизвестно, отличается ли регуляция различных типов депо-управляемых каналов белками STIM1 и STIM2. Нами были поставлены опыты на клетках с увеличением или уменьшением экспрессии белков STIM1 и STIM2, а также селективной активации эндогенных сенсоров. Было обнаружено, что каналы I<sub>max</sub> (TRPC1) активируются белками STIM1 и STIM2, каналы I<sub>NS</sub> (TRPC3) только белком STIM1, каналы I<sub>min</sub> регулируются белком STIM2. Таким образом, в клетке существуют депо-управляемые кальциевые каналы с различным молекулярным составом, электрофизиологическими характеристиками и разными внутриклеточными регуляторами. Можно предположить, что это позволяет клеткам формировать множество кальциевых ответов, которые запускают большой спектр клеточных процессов. *Работа поддержана грантами РФФИ 14-14-00720, РФФИ 16-04-01792.*

### **ГЛУТАМАТ-ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ Т-КЛЕТОК С ЭНДОТЕЛИОЦИТАМИ**

**Д.В. Хасанова, У.Ш. Кузьмина, Л.Ф. Зайнуллина, Ю.В. Вахитова**  
*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия*

Одним из основных механизмов, контролирующих воспаление и иммунный ответ, является взаимодействие клеток иммунной системы с эндотелием сосудов. Данный процесс зависит от эндо- и экзогенных факторов, определяющих пространственно-временную экспрессию молекул адгезии на лимфоцитах и эндотелии. Среди эндогенных факторов интерес вызывают нейромедиаторы, в частности глутамат (Glu). К настоящему времени показана экспрессия рецепторов глутамата на поверхности Т-лимфоцитов и установлена их роль в регуляции ряда функций данных клеток. Цель исследования: изучение роли Glu в механизмах адгезии Т-лимфоцитов человека к эндотелиоцитам *in vitro*. Показано, что Glu (1 мМ) приводит к увеличению адгезии нестимулированных Т-лимфоцитов к эндотелию (TNF $\alpha$ ; 4 ч) в 1.5 раза. При этом антагонист рецепторов глутамата NMDA-подтипа – МК801 (100 мкМ) на фоне Glu приводит к снижению адгезии Т-клеток на 8%. В условиях модели индуцированного воспаления эндотелия (TNF $\alpha$ ) и антигенной стимуляции Т-клеток (aCD3-aCD28; 4 ч) не обнаружено изменений адгезии как при действии Glu, так и МК801. При изучении особенностей экспрессии интегрина VLA-4 в Т-клетках было показано, что антигенная стимуляция (4 ч) лимфоцитов на фоне Glu приводит к снижению уровня внутриклеточного VLA-4 на 16% в CD69<sup>+</sup>-клетках; 24- и 48-часовая стимуляция Т-клеток приводит к увеличению внутриклеточного содержания VLA-4 на 25% и 46%, соответственно. Эффект МК801 сопровождается постепенным снижением уровня VLA-4 в CD69<sup>+</sup>-Т-клетках на 10%, 23% и 30% для 4-, 24- и 48-часовой культуры соответственно. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, о вовлеченности глутамата в регуляцию взаимодействия Т-клеток с эндотелиоцитами. Дальнейшие исследования смогут способствовать формированию новых подходов к терапии воспалительных и аутоиммунных заболеваний. *Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-01441 А.*



### РОЛЬ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ

В.С. Сухов, Ю.И. Плотникова, В.В. Гаспирович, Е.Н. Морозова, В.А. Воденев

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

При локальном действии неблагоприятных факторов у растений может происходить генерация и распространение электрических сигналов (ЭС), представленных потенциалом действия, переменным потенциалом и системным потенциалом. Развитие всех ЭС связано с изменением активности ионных каналов и (или) ионных транспортных АТФаз плазматической мембраны. По-видимому, конечным результатом генерации и распространения ЭС является системное повышение устойчивости растения к действию неблагоприятных факторов, что требует развития ряда физиологических ответов, включая изменение дыхательных процессов. В настоящее время существует ряд работ, показывающих способность ЭС вызывать кратковременную (~минут) активацию дыхания у растений. Так усиление дыхания наблюдается после распространения потенциала действия, причем подавление передачи ЭС предотвращает развитие ответа, что подтверждает ключевую роль электрического сигнала в его формировании. В наших работах показано, что активация дыхания может наблюдаться и при распространении другого ЭС – переменного потенциала, причем параметры такой активации хорошо коррелируют с параметрами сигнала. Механизмы влияния ЭС на дыхательную активность являются дискуссионными. С одной стороны, весьма вероятным механизмом может быть вход ионов кальция, который сопровождает развитие потенциала действия и переменного потенциала и может существенно влиять на дыхательные процессы. С другой стороны, ряд наших экспериментов (исследование изменений внутри- и внеклеточных рН при развитии переменного потенциала, анализ ответов дыхания при действии ингибитора протонной АТФазы плазматической мембраны) свидетельствуют в пользу ключевой роли входа протонов в индукцию дыхательного ответа. Возрастание содержания АТФ является вероятным результатом активации дыхания. Действительно, наши эксперименты показали, что переменный потенциал вызывает увеличение содержания АТФ в листе в темноте и динамика такого увеличения соответствует динамике активации дыхания. Таким образом, электрические сигналы могут, по-видимому, участвовать в регуляции дыхания растений. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 14-04-01899 А и 16-04-01694 А).*

### SWISS-CHEESE *DROSOPHILA MELANOGASTER* РЕГУЛИРУЕТ ФОРМИРОВАНИЕ СЕТИ МИКРОТРУБОЧЕК И ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ ПО АКСОНУ

С.В. Саранцева<sup>1</sup>, Е. В. Рябова<sup>1</sup>, Е.И. Труш<sup>2</sup>, Н.П. Матийцев<sup>2</sup>, П.А. Мелентьев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; <sup>2</sup>Львовский национальный университет им. И. Франко, Львов, Украина

Наследственные спастические параплегии (НСП, Hereditary spastic paraplegias (HSPs)) образуют гетерогенную по своим проявлениям группу заболеваний нервной системы, в основе которых лежит прогрессирующий легкий паралич нижних конечностей с повышенным тонусом мышц, вследствие дегенерации пирамидных трактов боковых столбов спинного мозга. Аутосомно-рецессивная форма НСП, SPG39, обусловлена мутациями в гене нейротоксичной эстеразы (NTE), участвующем также в развитии нейропатий связанных с отравлениями фосфорорганическими соединениями (OPIDN). Точные функции NTE и его патогенетическая роль в OPIDN и НСП неизвестны. NTE является консервативным белком от дрожжей до человека, наибольший консерватизм наблюдается для его каталитического домена, определяющего предполагаемую эстеразную активность этого белка. Для понимания роли NTE в развитии нейропатологии при НСП мы исследовали клеточные функции белка *sws Drosophila melanogaster*, гомолога NTE человека. Для этого мы использовали нейромышечные соединения (НМС) личинок *Drosophila melanogaster*, которые являются удобной модельной системой для изучения ранних нейродегенеративных процессов. Мы показали, что *sws* локализуется в нейронах и в наибольшей степени в глиальных клетках личинки. Мутации в *sws*, вызывали изменение морфологии нейромышечных соединений личинок, нарушение распределения в синаптических бутонах синаптических белков. Анализ числа и распределения функциональных митохондрий показал, что у мутантов по гену *sws* уменьшено число митохондрий в аксонах и нейромышечных терминалах. Мы также показали нарушение сети микротрубочек в мышцах, аксонах и НМС *sws* личинок. Полученные нами результаты дают возможность предполагать, что *sws* играет важную роль в формировании и функционировании нейромышечных контактов личинок *Drosophila melanogaster*. Полученные результаты также расширяют наши представления о роли NTE в развитии дегенерации аксонов и помогут понять роль последнего в развитии патологии при спастической параплегии. *Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 15-04-09041.*

### ПРИРОДНЫЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ РАБОТУ КИСЛОТООЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ИОННОГО КАНАЛА 3-ГО ТИПА

Д.И. Осмаков, С.Г. Кошелев, М.А. Дубинный, Я.А. Андреев, Е.В. Гришин, С.А. Козлов

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

Кислотоочувствительные ионные каналы или ASICs (acid-sensing ion channels) – тримерные мембранные белки, относящиеся к семейству дегенерин/эпителиальных Na<sup>+</sup>-каналов. Один из представителей данного типа каналов, ASIC3 рецептор, широко представлен в нейронах периферической нервной системы и играет важную роль в процессе восприятия болевых стимулов при различных физиологических и патологических процессах. Использование природных низкомолекулярных лигандов является одним из эффективных методов изучения функционирования данных каналов не только в фундаментальном плане, но и в практическом, т.к. позволяет разрабатывать новые препараты направленного действия. Лекарственные растения с давних времен известны как богатый источник разнообразных биологически активных соединений – лигандов тех или иных рецепторов или ферментов. Из растений видов *Thymus armeniacus* и *Laurus nobilis* нами были выделены низкомолекулярные модуляторы работы каналов ASIC3 типа. В первом случае – это впервые открытое нами соединение севанол, подавляющее работу ASIC3 в микромолярных концентрациях и обладающее противоболевым и противовоспалительным эффектом в тестах на мышах. Структурно-функциональный анализ, проведенный на севаноле и его структурных аналогах, полученных химическим синтезом, продемонстрировал влияние тех или иных групп молекулы на активность по отношению к рецептору. В случае с *L. nobilis* – это потенциатор, в микромолярных концентрациях более чем в три раза усиливающий работу только человеческих ASIC3, не оказывая эффекта на ASIC3 грызунов, несмотря на высокую степень идентичности.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА LYNX1 И SLURP-1 С ВОДОРАСТВОРИМЫМ ДОМЕНОМ НИКОТИНОВОГО АЦЕТИЛХОЛИНОВОГО РЕЦЕПТОРА**

**Е.Н. Люкманова, М.А. Шулепко, Д.С. Кульбацкий, З.О. Шенкарев, Д.А. Долгих**

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

Никотиновый ацетилхолиновый рецептор (nAChR) является лигандозависимым ионным каналом, который широко представлен как в центральной и периферической нервной системе, так и во многих других тканях человека, включая клетки эпителия и иммунной системы. С дисфункциями этого рецептора связано возникновение и развитие ряда заболеваний нервной, мышечной, иммунной и эндокринной систем человека. Наиболее изученными лигандами nAChR являются α4β2-нейротоксины ядов змей. За последнее десятилетие было открыто два типа эндогенных нейропептидов, взаимодействующих с nAChR, Lynx и SLURP. Эти нейропептиды, также как и нейротоксины змей принадлежат семейству Lu-6/uPAR и имеют схожую «трехпетельную» пространственную организацию. Регуляторный пептид Lynx1 впервые был обнаружен в центральной нервной системе мышей. В отличие от секретируемых α-нейротоксинов, Lynx1 закреплен в клеточной мембране, окружающей рецептор, с помощью С-концевого фосфатидилинозитольного (GPI) якоря. В настоящее время Lynx1 рассматривается как один из ключевых факторов, регулирующих нейропластичность. Нейропептид SLURP-1 является секретируемым и не имеет последовательности для прикрепления GPI-якоря. Вероятно, SLURP-1 действует как паракринный/аутокринный регулятор, контролирующий рост, миграцию, дифференцировку и запрограммированную гибель клеток эпителия, а также развитие воспалений и опухолей. В работе представлены данные по изучению взаимодействия рекомбинантных аналогов белков человека Lynx1 и SLURP-1 с водорастворимым доменом nAChR альфа7-типа. Домен nAChR был получен в клетках *Pichia pastoris*, обладает повышенной стабильностью в растворе и демонстрирует лигандсвязывающие характеристики, близкие к свойствам нативного рецептора. Взаимодействие Lynx1, SLURP-1 и их мутантных вариантов с доменом nAChR было охарактеризовано методами плазмонного поверхностного резонанса. Используя изотопно-меченные аналоги Lynx1 и SLURP-1, методами ЯМР-спектроскопии исследовано взаимодействие нейромоделюляторов с доменом nAChR, что позволило выявить аминокислотные остатки нейромоделюляторов, ответственные за взаимодействие с рецептором. *Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №14-04-01376) и РНФ (проект №14-14-00255, получение мутантных вариантов Lynx1 и SLURP-1, а также исследование их взаимодействия с доменом nAChR).*

**ХОЛИНЕРГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЯДА СЕРОЙ ЖАБЫ BUFO BUFO**

**Е.В. Крюкова, Д.С. Лебедев, И.А. Иванов, Ю.Н. Уткин**

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

Высушенный яд жаб рода *Bufo* широко применяется в традиционной китайской медицине и из него выделено большое количество биологически-активных соединений. К ним относятся, в частности, буфодиенолиды – мощные сердечные гликозиды, имеющие в своей структуре лактонное кольцо и биогенные амины – серотонин (5-гидрокситриптамин) и его N-метильные производные. Последние взаимодействуют с серотониновым рецептором и известны как галлюциногены. Имеются данные о действии серотонина на никотиновый ацетилхолиновый рецептор (nAChR) мышечного типа и гетеромерные нейрональные nAChR различного субъединичного состава (α4β2, α3β2, α2β4, α3β4). В отношении нейронального гомомерного α7 nAChR серотонин является неконкурентным антагонистом. Целью настоящей работы явилось исследование холинергических свойств низкомолекулярных компонентов секрета паротидных желез серой жабы.

Яд серой жабы *Bufo bufo* был подвергнут трёхкратной спиртовой экстракции, после чего остаток растворен в аммоний-ацетатном буфере. Из последовательной хроматографической очистки выделены два низкомолекулярных компонента, связывающихся с nAChR. Методом масс-спектрометрии данные компоненты идентифицированы как производные 5-гидрокситриптамина: 5-гидрокси-N,N-диметилтриптамин (буфотенин) и 5-гидрокси-N,N,N-триметилтриптамин (5-HTQ). С помощью конкурентного радиолигандного анализа с [<sup>125</sup>I]α-бунгаротоксином получены константы взаимодействия соединений с α7 nAChR нейронального типа на клетках GH4C1 (IC50 476 нМ и 6,9 мкМ, для буфотенина и 5-HTQ, соответственно). Средство к nAChR мышечного типа *Torpedo californica* оказалось заметно ниже: 50% ингибирование связывания [<sup>125</sup>I]α-бунгаротоксина было достигнуто при концентрациях 105 и 270 мкМ, соответственно.

Таким образом, при значительном структурном сходстве выделенных соединений, показана существенная зависимость сродства к нейрональным α7 nAChR от степени метилирования аминогруппы 5-гидрокситриптамина.

**РОЛЬ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА STIM В АКТИВАЦИИ ДЕПО-ЗАВИСИМЫХ КАНАЛОВ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ НЕК293**

**А.Ю. Скопин, А.В. Шалыгин, Д.О. Колесников, Л.Н. Глушанкова, Е.В. Казначеева**

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Депо-зависимый вход кальция – один из важнейших элементов кальциевой сигнализации клетки. Он обеспечивается кальциевыми каналами плазматической мембраны (ПМ) в ответ на опустошение внутриклеточных кальциевых депо. По предыдущим работам нашей лаборатории известно о существовании нескольких типов депо-зависимых кальциевых каналов, которые были охарактеризованы электрофизиологически. Механизмы регуляции этих каналов остаются недостаточно изученными. Белки STIM1 и STIM2 – сенсоры концентрации кальция в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), активирующие кальциевые каналы плазматической мембраны. Белки STIM активируются при различных концентрациях кальция в ЭР, STIM2 чувствителен к незначительным изменениям концентрации, а STIM1 активируется при опустошении кальциевого депо. Исходя из этих свойств, мы можем предположить о различной физиологической роли данных белков. Вероятно, STIM1 отвечает за перезаполнение депо после кальциевого выброса, а STIM2 ответственен за поддержание стабильной концентрации кальция в депо ЭР. Взаимодействие белков STIM с депо-зависимыми каналами ПМ может быть реализовано в нескольких вариантах, например, оба сенсора могут активировать все типы каналов, или каждый сенсор активирует только определенный тип канала. Возможны и более сложные схемы взаимодействия. В нашей работе мы исследовали активацию депо-зависимых каналов ПМ белками STIM1 и STIM2, используя метод Патч-кламп для регистрации токов сквозь одиночные каналы. Для изменения соотношения количества сенсоров STIM 1 и 2 в клетке мы пользовались различными вариантами оверэкспрессии и подавления экспрессии этих белков. *Работа поддержана грантом РФФИ (16-04-01792).*

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ У РАСТЕНИЙ, УЧИТЫВАЮЩАЯ ИОННЫЕ ТРАНСПОРТНЫЕ СИСТЕМЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ И ТОНОПЛАСТА**

**Е.М. Новикова, В.С. Сухов** *Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Потенциал действия (ПД) – дистанционный электрический сигнал, возникающий в ответ на внешнее раздражение и переводящий растение в более устойчивое состояние. Детальное изучение ионного механизма ПД необходимо для понимания путей формирования повышенной устойчивости. Математическое моделирование – один из методов изучения этих процессов. Однако текущие модели ПД не учитывают возможность участия клеточных органелл в регуляции ионного гомеостаза. Целью настоящей работы является разработка математической модели генерации ПД высших растений, которая учитывает участие вакуоли в этом процессе. В модели учитывали вакуоль, цитоплазму и апопласт. Описание плазмалеммы включало  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  каналы,  $\text{H}^+$ - и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы,  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -антипортер и  $2\text{H}^+/\text{Cl}^-$ -симпортер, тонопласта –  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  каналы,  $\text{H}^+$ - и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы,  $\text{H}^+/\text{K}^+$ ,  $2\text{H}^+/\text{Cl}^-$ ,  $3\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антипортеры. Учитывали регуляцию ионного транспорта с помощью  $\text{Ca}^{2+}$  и IP3. Модель включала буферные системы апопласта, цитоплазмы и вакуоли. Использованное в модели уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца модифицировали с учетом трехбарьерной модели канала. Поток ионов через АТФазы описывали моделью с двумя состояниями фермента, через симпортеры и антипортеры – с одним состоянием. В модели учитывали синтез IP3 при возбуждении клетки. На основе литературных данных были найдены параметры модели. Уравнения модели решали численно. Анализировали возникновение ПД в ответ на постепенное охлаждение. Верификация модели показала ее хорошее соответствие экспериментальным данным. Показано, что увеличение площади и объема вакуоли может снижать возбудимость клетки, повышая температурный порог и снижая амплитуду ПД и  $\text{Ca}^{2+}$ -спайка. По-видимому, эффект связан с  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазой вакуоли. Анализ роли IP3-активируемых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов вакуоли в генерации ПД показал возможность их участия в формировании электрического ответа. В целом, анализ модели показывает существенную роль вакуоли в возбудимости растительной клетки. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект №14-26-00098).*

**ПРОТОННАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА КАК ВЕРОЯТНЫЙ ИНДУКТОР ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**О.Н. Шерстнева, В.А. Воденев, Ю.И. Плотникова, Е.М. Новикова, В.С. Сухов**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Вызванные повреждающими факторами электрические сигналы, в частности, переменный потенциал (ВП), способны индуцировать многочисленные функциональные ответы у высших растений, включая изменения фотосинтетических параметров. Предполагается, что влияние ВП на фотосинтез происходит при участии протонной сигнальной системы. Анализ этой гипотезы является целью настоящей работы. Ожог листа вызывал распространение ВП, которое сопровождалось снижением уровня ассимиляции  $\text{CO}_2$  и эффективности переноса электронов по цепи, а также ростом нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II. Предобработка растения ингибитором  $\text{H}^+$ -АТФазы (ортованадат натрия) вызывала снижение амплитуды ВП и существенно подавляла ответ фотосинтеза. Активация  $\text{H}^+$ -АТФазы (обработка фузикокином) не вызвала существенных изменений параметров ВП, но увеличивала амплитуду изменений ассимиляции  $\text{CO}_2$  и нефотохимического тушения. Ингибирование  $\text{H}^+$ -АТФазы при добавлении ортованадата натрия в суспензию протопластов вызывало фотосинтетический ответ, подобный индуцированному ВП. Далее показано, что развитие ВП сопровождалось обратимым защелачиванием апопласта и закислением цитоплазмы. При этом изменения внеклеточного pH существенно коррелировали с ответом ассимиляции  $\text{CO}_2$ , а изменения внутриклеточного pH – с ответом нефотохимического тушения. Такие результаты позволяют предположить существование у проростков гороха двух компонент вызванного ВП фотосинтетического ответа. Это предположение подтверждается теоретическим анализом на основе ранее разработанной модели ВП. Влияние закисления цитоплазмы на фотосинтез было также исследовано на модельной системе изолированных хлоропластов. Показано, что снижение pH среды инкубации индуцировало фотосинтетические ответы, аналогичные вызванным ВП у интактных растений. Полученные результаты показывают, что влияние ВП на фотосинтез связано с изменениями внутри- и внеклеточного pH. При этом инактивация темновой стадии фотосинтеза, по-видимому, обусловлена ростом внеклеточного pH, а рост нефотохимического тушения вызван снижением внутриклеточного pH. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект №14-26-00098).*

**МЕХАНИЗМ СВЯЗИ МАРКЕРОВ СОСТОЯНИЯ МУКОЗО-АССОЦИИРОВАННОЙ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ С ПИТЬЕВЫМИ РЕЖИМАМИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ**

**Г.М. Баишева, К.Н. Мельник** *Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, Самара, Россия*

Мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань полости рта является первым барьером на пути встречи с патогенами. Уровень активности амилазы, количество цитокинов и минералов в слюне – биомаркеры иммунной защиты. Появляется все больше данных о том, что верно выбранное питьевое поведение повышает уровень здоровья. 85 здоровых молодых людей (ср. возраст 18 лет) с сентября по декабрь 2014 г были отобраны из 194 желающих в проспективное, рандомизированное, открытое, сравнительное, контролируемое в параллельных группах исследование и сформировали три репрезентативные группы: • опытная (30 чел, употребляли воды 30–35 мл на 1 кг массы тела, дочищенной электромагнитным прибором); • плацебо-группа (30 чел с вышеописанным режимом, но с плацебо-прибором); • контрольная (25 чел, придерживающиеся привычного питьевого режима). Материалом для исследования служила ротовая жидкость. Определение цитокинов осуществлялось методом ELISA. Уровень активности амилазы и количество кальция определяли калориметрическим методом. Парные сравнения групп проводили с помощью критерия Манна–Уитни–Вилкоксона и непараметрического дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса.

Содержание ИЛ-1 $\beta$  у всех участников находилось на стабильном уровне около 120 пг/мл. Уровень ИЛ-4 в опытной группе возрастал от 0,6 пг/мл до 1,2 пг/мл, ( $p > 0,05$ ). Аналогичная тенденция прослеживалась и относительно  $\gamma$ -ИНФ (от 0,1 до 1,7 пг/мл) и ФНО- $\alpha$  (от 4,5 до 4,9 пг/мл), ИЛ-6 (от 0,6 до 1,5 пг/мл) ( $p > 0,05$ ). Сходная динамика наблюдалась и двух других группах. Уровень активности амилазы ( $p > 0,05$ ) в ротовой жидкости испытуемых опытной группы снизился к концу исследования (с  $478,59 \pm 130,11$  до  $312,43 \pm 48,15$  МЕ/л), в то время как в плацебо и контр. группах повысился (до

743,59±235,64 МЕ/л). Достоверны изменения между опытной и контр. группами в соотношении: Ca/P (0,41±0,04 и 0,29±0,04 соот., при  $p=0,024$ ); ИЛ-1/ИЛ-6 (802,33±413,69 и 94,66±37,79 соответственно,  $p=0,026$ ). Употребление воды, очищенной с помощью физического метода, ассоциировано со специфическим иммунным ответом.

Понимание механизмов этой связи даст возможность обосновать необходимость употребления здоровыми людьми чистой воды в количестве 30–35 мл на кг массы тела в сутки.

### **ВЫЗВАННОЕ БЛОКАТОРОМ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ СНИЖЕНИЕ СКОРОСТИ РОСТА И ТРАНСПОРТА ВОДЫ У РАСТЕНИЙ**

**Н.В. Будаговская** *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Кальций-зависимые сигнальные системы играют значительную роль в регуляции функциональной активности растений. В проведении сигналов участвуют кальциевые каналы. Снижение проводимости кальциевых каналов вызывает дисбаланс в системах сигнализации, что может приводить к нарушению функциональной активности растений. Исследовалось влияние блокатора кальциевых каналов верапамила, внесенного в корневую зону, на процессы роста и транспорта воды у растений кукурузы, риса, гречихи и гороха. Показано, что верапамил вызывает снижение скорости роста растений, уменьшение водонагнетающей активности корней и скорости транспорта воды в стеблях и листьях. Динамика скорости роста растений в присутствии верапамила соответствовала динамике транспорта воды в них. Отмечено кратковременное усиление и последующее снижение скорости роста растений и скорости транспорта воды после добавления верапамила. Нарушения в процессах транспорта воды и роста растений были выражены сильнее при увеличении времени действия верапамила или его концентрации. Растения варианта с верапамилем отставали в росте от контрольных, имели листья меньшего размера, менее интенсивно испаряли воду, у них был снижен тургор листьев и стеблей, Развитие корневой системы и надземной части растений варианта с верапамилем задерживалось по сравнению с растениями из контрольного варианта. При высоких концентрациях верапамила отмечалось прекращение роста надземной части и корней, падение водонагнетающей активности корней, пожелтение и подсыхание кончиков листьев, образование некрозов на них, ослизнение корней. Верапамил вызывал дефицит кальция в тканях растений. Таким образом, вызванные блокатором кальциевых каналов нарушения ростовой активности растений в значительной степени связаны с нарушениями транспорта воды и дефицитом кальция.

### **ROLE OF STRESS IN EPIGENETIC REGULATION OF NEURONAL GENES**

**N.N. Nalivaeva<sup>1,2</sup>, A.J. Turner<sup>2</sup>** *<sup>1</sup>M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, Saint-Petersburg, Russia; <sup>2</sup>School of Biomedical Sciences, Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, Leeds, UK*

Understanding the mechanisms regulating gene expression in the course of development and adaptation of the organism to the permanently changing environment, especially in the case of stress and various pathological conditions, is fundamentally important. Special attention in recent years has been paid to epigenetic regulation of neuronal genes involving chromatin modifications via DNA methylation and histone acetylation. In these processes an important role belongs to the histone deacetylases (HDAC) which control gene silencing. Inhibition of HDAC activity as shown in various research paradigms provides neuroprotection and improvement of neuronal functions under various stress conditions including hypoxia, ischemia and oxidative stress. Stress conditions modulate expression of a variety of genes including the amyloid precursor protein (APP). APP and its intracellular domain (AICD), in turn, are involved in regulation of a number of neuronal genes, some of which participate in amyloid peptide (A $\beta$ ) metabolism and clearance that are the key events in pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). The list of APP-regulated genes includes the major amyloid-degrading enzyme neprilysin (NEP), a transport protein transthyretin (TTR), aquaporin and others. We have found that APP overexpression affects the levels of HDAC gene products which might explain its role in gene regulation. Our studies strongly indicate that AICD regulation of NEP and TTR is HDAC-dependent and treatment of cells or animals with HDAC inhibitors such as valproic acid results in up-regulation of NEP and TTR mRNA and protein levels and increased NEP activity leading to a reduction in total cellular levels of A $\beta$ -peptide. Hypoxia and oxidative stress result in changes in the levels of HDACs expression and as such of NEP and other genes expression and activity. Regulation of other proteins by APP, *e. g.* acetylcholinesterase, does not involve AICD but requires full length APP molecules. Further studies of the APP interactome are important for better understanding of its role in cellular response to stress and for designing the drugs protecting the brain against neurodegeneration, in particular AD. *Supported in parts by RFBR (16-04-00694), state budget (01201351571) and Alzheimer's Research UK.*

### **ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИССЛЕДОВАНИЮ МЕХАНИЗМОВ ДЕПРЕССИИ**

**Н.Н. Дыгало, Д.А. Ланшаков, У.С. Дрозд, В.В. Булыгина, Т.С. Калинина**

*ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Ранее мы выявили ассоциацию психоэмоциональной устойчивости к стрессу с увеличением экспрессии нейропротекторного гена Bcl-xL в поле CA1 гиппокампа, основными клетками которого являются глутаматергические нейроны, что позволяет предполагать вклад этих нейронов в индивидуальные различия по стрессоустойчивости. Для проверки данного предположения использовали оптогенетический подход. Аденовирусный вектор, содержащий фоточувствительный канал (ChR2h134) под контролем специфичного для глутаматергических нейронов промотора (САМКIIa), или похожий контрольный вектор, но не кодирующий такой канал, стереотаксически вводили в СА1 неонатальных или взрослых крыс. Через 3 недели животных использовали в экспериментах. Нейроны гиппокампа ювенильных крыс стимулировали светом (480 нм) и регистрировали их разрядную активность с помощью оптоэлектрода. Через 30 мин после стимуляции определяли с-Fos- и Bcl-xL-иммунореактивность светочувствительных нейронов. Поведение взрослых крыс с имплантированным в область СА1 гиппокампа оптоволоконном, не ограничивающим движение, анализировали в тесте подвешивания за хвост. В тесте животное получало 5 сеансов (по 1 мин) оптической стимуляции (световых периодов), разделенных интервалами в 1 мин без стимуляции (темные периоды). Проявление депрессивно-подобного состояния оценивали по продолжительности неподвижности в эти периоды. Фотостимуляция повышала электрическую активность нейронов гиппокампа, экспрессирующих ChR2h134, и индуцировала экспрессию с-Fos и Bcl-xL в этих нейронах. В течение "темных периодов" теста, продолжительность неподвижности у крыс с ChR2h134 не отличалась от контрольных животных. Освещение СА1 синим светом (480 нм) не влияло на

поведение контрольных животных, но увеличило продолжительность неподвижного состояния животных, экспрессирующих светочувствительный канал. Во время «светлых периодов» теста, продолжительность неподвижности была значительно больше у особей, экспрессирующих ChR2h134, по сравнению с нечувствительными к свету животными. В целом, активация CA1 пирамидных нейронов гиппокампа способствует проявлению депрессивно-подобного поведенческого фенотипа, что позволяет рассматривать эти нейроны в качестве мишени для коррекции психопатологического состояния, индуцированного стрессом. *Работа поддержана грантом РФФ 14-15-00115.*

### **НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ: РОЛЬ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ**

**Г.Т. Шишкина, Т.С. Калинина, В.В. Булыгина, Н.Н. Дыгало** *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Развитие индуцируемой хроническим стрессом депрессии связывают с нарушением адаптации к повторяющимся стрессорным воздействиям, однако механизмы психоэмоциональной устойчивости и/или чувствительности к стрессу, остаются неясными. В стрессорных условиях принудительного плавания, взрослые самцы крыс уже при повторном плавании демонстрируют характерное пассивное поведение, широко используемое в качестве оценочного показателя депрессивно-подобного состояния в исследованиях механизмов депрессии и преклиническом тестировании антидепрессантов на животных. В классических условиях двукратного воздействия, помимо острых поведенческих ответов, в отделах мозга обнаруживаются изменения множества параметров, включающих глюкокортикоидные рецепторы (ГР), мозговой нейротрофический фактор (BDNF), белки апоптоза, фермент синтеза серотонина, серотониновый транспортер, а также рецепторы серотонина. Более длительное воздействие, примененное в течение 14 дней, усугубляло проявление поведенческой беспомощности, а также, судя по снижению потребления сахарозы, вызывало у них еще один симптом депрессии – ангедонию. Сопоставление изменений, вызываемых непродолжительными и более длительными воздействиями, указывает на возможную координирующую роль ГР в определении поведенческого ответа на стресс. Так, увеличение уровня глюкокортикоидов в результате первого принудительного плавания вовлекается в развитие поведенческой беспомощности при повторном плавании. Блокада глюкокортикоидного сигнала метирапоном предотвращала появление симптомов этой беспомощности, в то время как восстановление сигнала нивелировало эффект препарата. Вместе с тем, увеличение экспрессии ГР в префронтальной коре в результате острого стрессорного или глюкокортикоидного воздействия ассоциировалось с повышением психоэмоциональной устойчивости к повторному воздействию. Обнаруженное же ослабление ответа экспрессии рецепторов в ходе повторяющихся в течение 14 дней воздействий может вовлекаться в развитие психопатологии через ассоциированное с рецепторами изменение экспрессии генов-мишеней глюкокортикоидов, например, часто сопровождающее депрессию снижение экспрессии BDNF в некоторых отделах мозга. *Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-07855.*

### **МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТочНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО РАССТРОЙСТВА, ВЫЗВАННОГО НЕОНАТАЛЬНЫМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ СТРЕССОМ**

**Н.В. Гуляева, М.Ю. Степаничев, Н.А. Лазарева, С.В. Фрейман, Ю.В. Моисеева, М.В. Онуфриев**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Неблагоприятные условия раннего развития являются важным фактором патогенеза психоэмоциональных расстройств, в т. ч. депрессии. Мы провели исследование молекулярно-клеточных механизмов депрессивных расстройств, индуцированных ранним провоспалительным стрессом у крыс. Интероцептивный стресс, вызванный введением новорожденным крыскам бактериального липополисахарида, проявлял свои эффекты по мере взросления животных, вызывая развитие депрессивно-подобного состояния, сопровождающегося провоспалительными изменениями в структурах мозга (в т. ч. нарушениями экспрессии различных цитокинов на уровне мРНК и белка) и в целом организме. Провоспалительный стресс в неонатальном периоде вызывал у взрослых животных изменения глии (в первую очередь, микроглии) в гиппокампе и нейрогенеза в субгранулярной нейрогенной зоне. Нарушения системы трофических факторов были наиболее значимы в неокортексе (снижение экспрессии экзон IV-специфичной мРНК BDNF) и сопровождалось изменением долговременной синаптической пластичности (длительной потенциации). На фоне других дефектов функции ЦНС, развивающихся в результате провоспалительного неонатального стресса, показано устойчивое нарушение стресс-реактивности, которое может быть важным звеном патогенеза развития психических расстройств у взрослых. Описанная модель по многим показателям трансляционно валидна и может быть использована для исследования механизмов патогенеза тревожно-депрессивных расстройств, вызванных травмами в детстве, а также для поиска маркеров и предикторов развития расстройств, прогноза и эффективности терапии. *Поддержано грантом РФФ № 14-25-00136.*

### **ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И СТРЕСС-РЕАКТИВНОСТЬ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ У КРЫС: СРАВНЕНИЕ ДВУХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПАРАДИГМ**

**В.А. Аниол, М.Ю. Степаничев, А.О. Тишкина, С.В. Фрейман, М.В. Онуфриев, М.Р. Новикова, И.П. Левшина, Н.В. Гуляева**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Хронический стресс может приводить к различным патологиям мозга, в том числе депрессии и пост-травматическим расстройствам. Для того, чтобы исследовать механизмы, лежащие в основе таких заболеваний, используют различные модели стрессорных воздействий на животных. Целью нашего исследования было сравнение двух парадигм хронического стресса: хронического непредсказуемого стресса (ХНС) и экспериментального невроза, в основе которого лежит хронический эмоционально-болевого стресса (ХЭБС). Эффект стрессорных воздействий сравнивали по их способности индуцировать депрессивно-подобное поведение у животных и по изменению уровня кортикостерона (КС) в крови и в мозге. Самцов крыс линии Вистар предварительно тестировали в открытом поле или тесте Порсолта с тем, чтобы разделить их на две равноценные группы. Процедура ХНС состояла в предъявлении набора стрессорирующих факторов с их сменой дважды в сутки. Стрессоры включали: депривацию еды и/или питья, мокрую подстилку, наклон клетки, скучивание или изоляцию, изменение светового режима. Стрессоры предъявляли в псевдослучайном порядке в течение 56 дней. ХЭБС включал частичную гипокинезию, сопровождавшуюся белым шумом на протяжении 4-6 часов в день, раз в день животным предъявляли вспышки стробо-

скопа, подкреплявшиеся электрокожным раздражением с 50% вероятностью. Процедуру повторяли ежедневно в течение 15 дней. ХНС приводил к увеличению локомоторной активности крыс в тесте открытое поле, в то время как ХЭБС не влиял на локомоторную активность, но приводил к увеличению числа дефекаций. Поведение отчаяния в тесте Порсолта не изменялось после обоих вариантов стрессорного воздействия. Ангедония наблюдалась как вследствие ХЭБС, так и после ХНС. Уровень КС уменьшался в крови и увеличивался в гиппокампе и неокортексе у животных, подвергнутых ХЭБС, но не ХНС. Таким образом, эмоционально негативные и депрессивно-подобные проявления поведения крыс после ХЭБС были связаны со снижением уровня КС с крови и с повышением его уровня в структурах мозга. Ангедония, наблюдавшаяся после ХНС, сопровождалась увеличением тревожности животных, но этот эффект не был связан с изменением уровня КС ни в крови, ни в мозге этих крыс. Возможно, этот эффект объясняется недостаточной длительностью предъявления стрессоров или их неоптимальной вариабельностью. *Поддержано грантом РФ № 14-25-00136.*

### **ДИНАМИКА РЕАКЦИЙ РАЗВИВАЮЩЕГОСЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ГИПОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ**

**Н.Э. Ордян, Л.И. Хожай, В.К. Акулова, В.А. Отеллин** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Перинатальная гипоксия является одной из ведущих причин младенческой смертности и инвалидности. Эта медицинская и социальная проблема определяет актуальность проведения фундаментальных и клинических исследований, направленных на исследование патогенеза и мишеней гипоксических воздействий, на поиск и разработку новых нейропротективных средств. В связи с этим целью настоящего исследования заключалась в 1) оценке влияния гипоксии в перинатальный период на соматическое, моторное и неврологическое развитие новорожденных; 2) изучении влияния гипоксии на динамику структурно-функциональных характеристик неокортекса и гиппокампа; 3) изучении возможности фармакологической коррекции негативных последствий гипоксии в раннем постнатальном периоде. Для этого использован салифен, который представляет собой композицию фенибута с салициловой кислотой и оказывает на модели плацентарной гипоксии нейропротективное, антигипоксическое, антиоксидантное и антистрессорное действие. Показано, что однократная нормобарическая гипоксия (8% кислорода) у новорожденных крысят на 2–3 сут после рождения (модель недоношенной беременности человека) приводит к нарушению процессов становления структуры головного мозга и поведенческих реакций в последующем онтогенезе. У этих животных выявлены существенные нарушения сенсорно-двигательного развития, проявляющиеся в задержке развития рефлекторной реакции переворачивания на плоскости, избегания обрыва и мышечной слабости. Морфологический анализ функциональных зон неокортекса и гиппокампа выявил гибель нервных клеток, преобладающих в II–III ассоциативных полях неокортекса и СА3 и СА4 полях гиппокампа. Подкожные инъекции салифена в дозе 15 мг/кг в течение 14 дней через сутки после воздействия гипоксии в целом приводили к нормализации изученных поведенческих реакций и развития неокортекса и гиппокампа. Сделано заключение о перспективности дальнейшего изучения салифена для коррекции постгипоксических нарушений у новорожденных. *Работа выполнена при поддержке гранта РФ № 16-15-10272.*

### **ЗНАЧИМОСТЬ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ СОЗНАНИЯ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ ДЛЯ НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИИ**

**Е.В. Шарова<sup>1</sup>, Г.Н. Болдырева<sup>1</sup>, Л.А. Жаворонкова<sup>1</sup>, М.В. Челябинна<sup>1</sup>, О.С. Зайцев<sup>2</sup>, Е.В. Коробкова<sup>3</sup>, М.М. Копачка<sup>2</sup>, М.А. Куликов<sup>1</sup>, Э.Л. Погосбекян<sup>2</sup>** *<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; <sup>2</sup>НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко<sup>3</sup> МЗ РФ; <sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ), сопровождаемая нарушениями сознания и двигательной активности, является одной из основных причин летальности и инвалидизации населения. В связи с отсутствием признанных стандартов лечения, к числу актуальных задач нейрофизиологического исследования при ТЧМТ относятся: 1) изучение нейрофизиологических механизмов формирования и регресса затяжных патологических синдромов и состояний, включая бессознательные; 2) участие в разработке новых, физиологически обоснованных реабилитационных подходов. В данном контексте анализируется опыт динамических (до 16 лет) нейрофизиологических исследований около 200 пациентов с ТЧМТ, сопровождавшейся угнетением сознания и вариативными двигательными нарушениями – с разной успешностью клинического восстановления. Особый интерес представлял анализ структурно-функциональной обусловленности длительных посткоматозных бессознательных состояний (ПКБС), а также двигательного дефекта в форме гемипареза. Основной методический подход – энцефалографический с использованием математического анализа (спектрально-когерентного, топографического картирования, локализации эквивалентных дипольных источников) в фоне и при функциональных нагрузках. В последние годы он был дополнен данными ЗТ фМРТ – прежде всего в исследованиях функциональной нейроанатомии двигательной активности. Клинико-ЭЭГ сопоставления выполняли на основе многомерной статистики.

Нейрофизиологический анализ ПКБС показал, что формирование вегетативного состояния и разных видов мутизма определяется активностью стволовых и подкорково-базальных структур на фоне тормозного состояния коры. Успешность восстановления психической деятельности коррелирует с ЭЭГ оценкой функциональных возможностей лобных отделов полушарий, что обосновывает перспективность направленных стимулирующих лечебных воздействий. Проведенные комплексные психофизиологические и клинико-ЭЭГ исследования эффектов ритмической транскраниальной магнитной стимуляции у здоровых людей и больных с ТЧМТ указывают на целесообразность использования низкочастотной подпороговой рТМС сагиттальных отделов премоторной коры в лечебном комплексе при затяжных ПКБС. Выявление клинико-энцефалографических синдромов дофаминергической и холинергической недостаточности, формирующихся в динамике ПКБС, способствует наиболее полной диагностике состояния, а также подбору адресной эффективной фармакологической терапии.

Данные фМРТ исследования пассивного движения руки у пациентов с ТЧМТ свидетельствуют о вариативности механизмов компенсации двигательной активности на основе возможного включения разных «функциональных дублеров» обеспечения этой функции и способствуют разработке алгоритмов индивидуальной нейрореабилитации.

*Поддержано Грантами РФФИ (№15-36-01038, №15-06-10836) и РФФИ № 16-29-08255 (офи-м).*

**ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АЛКОГОЛЯ НА СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ШИЗОФРЕНИЕЙ**

**А.Ю. Егоров, Е.О. Кучер, Н.А. Черникова, М.В. Дорофейкова** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Употребление алкоголя больными шизофренией связано с увеличением частоты и продолжительности госпитализаций, увеличением резистентности к лечению, ухудшением социального статуса. Экспериментальное моделирование шизофрении и алкоголизма на животных позволяет понять механизмы формирования коморбидной патологии. Целью данного исследования было изучение влияния длительного введения этанола на зоосоциальные отношения крыс с экспериментальной шизофренией. Работа выполнена на 30 половозрелых самцах линии Wistar. До начала эксперимента животные находились в изоляции, после чего определялись их социальные ранги в группе. Предпочтение алкоголя определялось в тесте «двухстаканная проба». Экспериментальная шизофрения моделировалась с помощью введения крысам (n=15) Леводопы-Карбидопы в дозе 300/30 мг/кг в течение 5 дней каждого месяца на протяжении четырех месяцев эксперимента, контрольные животные (n=15) получали воду. Все животные были подвергнуты полупринудительному прерывистому спаиванию 15% раствором этанола в течение всего эксперимента. Поведенческие параметры оценивались в тестах «открытое поле» и «отчаяния». Оказалось, что крысы с экспериментальной шизофренией, которые получали алкоголь, не отличались по количеству взаимодействий от крыс, получавших только алкоголь. У крыс с экспериментальной шизофренией отмечался существенно более высокий уровень социального взаимодействия, по сравнению с контрольной группой. Повышение уровня взаимодействий можно скорее трактовать как повышенное беспокойство, напряженность, тревогу. Длительное введение этанола приводит к снижению этих показателей. Это согласуется с результатами клинических исследований, свидетельствующих о том, что пациенты нередко употребляют алкоголь именно для снятия тревоги и напряженности. В тесте «двухстаканная проба», животные обеих групп достаточно быстро стали отдавать предпочтение алкоголю. Разница между экспериментальной и контрольной группами отмечалась лишь в первые недели эксперимента. По-видимому, данный факт можно объяснить длительной социальной изоляцией (2 недели), которая была необходима для определения рангов. Ранее нами было показано, что ранняя социальная изоляция увеличивает предпочтение этанола у крыс. В тесте отчаяния до начала спаивания крысы с экспериментальной шизофренией больше времени находились полностью обездвиженными, по сравнению с контролем. После окончания спаивания различий между группами не наблюдалось, что можно трактовать как сглаживание алкоголем изначально разного эмоционального фона животных в двух группах.

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НЕЙРОМАРКЕРЫ В ЗДОРОВОМ И БОЛЬНОМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА**

**Ю.Д. Кропотов, М.В. Пронина, В.А. Пономарев, Ю.И. Поляков**

*Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Согласно современным представлениям, поведение формируется за счет реализации одной из множества существующих программ действий, при этом в каждый момент времени происходит выбор программы, которая является оптимальной в конкретной ситуации. В головном мозге за это отвечает система управления действиями, включающая в себя корковые и подкорковые структуры и обеспечивающая формирование, хранение, инициацию, выполнение, контроль и коррекцию программ действий. Основной целью исследований, проводимых в нашей лаборатории, является изучение механизмов работы системы управления действиями в норме и при психических расстройствах, которые сопряжены с нарушениями контроля поведения. В качестве модели ситуации принятия решения в зависимости от внешних условий используется двустимульный тест в парадигме Go/NoGo, который заключается в предъявлении пар изображений, после некоторых из которых нужно нажать на кнопку (Go условие), а после других – воздерживаться от нажатия (NoGo условие). Вызванные потенциалы, зарегистрированные во время выполнения теста, преобразуются с помощью нового математического метода, позволяющего разложить вызванные потенциалы на компоненты, представляющие собой активность от различных источников в головном мозге, связанную с отдельными процессами. Недавнее исследование, проведенное с несколькими модификациями Go/NoGo теста, в которых варьировались стимулы и задания, позволило выявить функциональное значение компонент вызванных потенциалов, отражающих этапы обработки зрительной информации, принятия решения и контроля действий. Применение данной методики для изучения работы системы управления действиями у пациентов с психическими расстройствами, такими как шизофрения, синдром нарушения внимания, депрессивное расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство и шизотипическое расстройство личности, дало возможность выявить специфические паттерны изменения процессов обработки зрительной информации и контроля действий. Это позволяет рассматривать компоненты вызванных потенциалов не только в качестве эффективного инструмента для изучения физиологических основ психических расстройств, но и в качестве потенциального диагностического критерия данных заболеваний.

*Работа поддержана грантами РГНФ №14-06-00937а и РНФ №16-15-10213.*

**ПРИНЯТИЕ РЕШЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВИЗУАЛЬНОЙ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ**

**И.И. Шошина<sup>1</sup>, С.А. Конкина<sup>1</sup>, Ю.А. Шелепин<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск; <sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Принятие решения в условиях визуальной неопределенности представляет интерес, поскольку зрительное восприятие является ведущей образующей внутренней картины внешнего мира, которую строит мозг. Объективность этой картины определяет поведение. Преодоление визуальной неопределенности связано с идентификацией, интерпретацией внешних стимулов и принятием решения в неоднозначных ситуациях. В рамках проблемы восприятия и распознавания образов выделяют два подхода: определение глобальных статистических свойств изображений и выделение локальных информативных признаков высшего порядка. Эти подходы описывают два различных механизма распознавания объектов – механизм глобального описания статистических характеристик целостного изображения и механизм локального описания на основе локальных признаков изображения (Красильников, Шелепин, 1997). Проблема состоит в изучении функциональных характеристик этих механизмов и особенностей их взаимодействия в ходе обработки информации и принятия решения. Одним из наиболее эффективных подходов к изучению любых механизмов является их исследование в крайних условиях функционирования (Шо-

шина, Шелепин, 2012; Шошина, 2015). Цель настоящего исследования – изучение роли механизмов глобального и локального анализа в задаче принятия решения в условиях неопределенности при шизофрении.

В исследовании приняли участие: здоровые испытуемые – 24 чел. (возраст 23–42 года) и больные параноидной формой шизофрении – 54 чел. (возраст 19–64 года). С помощью компьютерной версии Голлин-теста (Gollin, 1960) фиксировали пороги опознания 75 фигур в условиях последовательного формирования контура из отдельных фрагментов. Установлено, что пациентам, страдающим шизофренией, требуется большее количество фрагментов контура для опознания объекта, чем здоровым испытуемым. Лицам с первым эпизодом шизофрении потребовалось меньше количество фрагментов контура для опознания объекта, чем хронически больным, также как и пациентам с приступообразным типом течения заболевания, по сравнению с пациентами с непрерывным типом течения заболевания. Таким образом, получены свидетельства нарушения работы механизмов глобального и локального анализа на высших уровнях обработки информации, степень выраженности которых зависит от клинической картины и типа течения заболевания. *Работа поддержана РФФ, грант № 14-15-00918.*

#### **REINFORCEMENT LEARNING MECHANISMS OF SOCIAL INFLUENCE**

**Vasily Klucharev, Anna Shestakova** *Higher School of Economics, Moscow, Russia*

Defined as a tendency to align one's attitudes, beliefs and behaviors to match group norms, social conformity is a well-documented phenomenon in psychology. Yet, neuroscience research has only recently focused on the neurobiological mechanisms underlying conformity to group norms. A number of functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies demonstrated that being exposed to the group opinion conflicting with one's own opinion triggered activity in the medial prefrontal cortex (MPFC) and ventral striatum. Interestingly, the MPFC has been also implicated in the generation of a so-called 'reward-prediction error' signal when the outcome of an action differs from the expected one. This signal presumably guides future action selection by updating predictions of action values. These findings suggest that social conformity may be based on general action-monitoring and reinforcement-learning mechanisms.

#### **ДВИЖЕНИЯ ГЛАЗ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЯЗЫКОВЫХ ФУНКЦИЙ**

**А.В. Латапов** *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

В современной когнитивной науке метод регистрации движений глаз (ДГ) нашел широкое применение в исследованиях языковых процессов при чтении. Параметры ДГ (число фиксаций, их длительность, частота возвратных саккад) используют для исследования когнитивных процессов во время чтения. Одной из моделей изучения языковой деятельности при чтении является разрешение структурной (синтаксической) неоднозначности, при котором испытуемый выбирает одну из двух конкурирующих интерпретаций предложения. На материале ряда языков показано, что параметры ДГ характерным образом меняются в зависимости от структуры предложений. Так, при чтении синтаксически неоднозначных предложений происходит увеличение числа фиксаций, их длительности, а также частоты возвратных саккад (регрессий) для повторного чтения фрагментов, содержащих неоднозначность, по сравнению с чтением однозначных предложений. Кроме того, параметры ДГ при чтении зависят от вида синтаксической неоднозначности – локальной, или временной, при которой смысловые противоречия разрешаются при прочтении предложения целиком, и глобальной, когда предложение имеет две конкурирующие интерпретации. Мы впервые на материале русского языка исследовали параметры ДГ при чтении предложений с локальной и глобальной синтаксической неоднозначностью. Как и в других языках, структурная неоднозначность (локальная и глобальная) в предложениях приводила к увеличению числа фиксаций, их длительности, частоты регрессий и, как следствие, общего времени чтения по сравнению с чтением однозначных предложений. Замедление чтения свидетельствует о когнитивных трудностях при интерпретации смысла неоднозначных предложений. При чтении предложений с глобальной неоднозначностью замедление чтения оказалось менее выраженным, чем при чтении предложений с локальной неоднозначностью. Подобные результаты получены и на материале других языков. Предположительно, интерпретация предложений с глобальной неоднозначностью вызывает меньше трудностей, чем интерпретация предложений с локальной неоднозначностью. Наши результаты открывают перспективу сравнительного количественного исследования на основе параметров ДГ базовых принципов структурного анализа при чтении в славянских и других языках.

*Выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 15-04-05745.*

#### **NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF COGNITIVE PROCESSES AT SACCADIC PREPARATION. STIMULATION OF LEADING AND UNLEADING EYE**

**V.V. Moiseeva<sup>1,2</sup>, M.V. Slavutskaya<sup>1</sup>, N.A. Fonsova<sup>1,2</sup>, V.V. Shulgovskiy<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University; <sup>2</sup>Higher School of Economics, Moscow, Russia*

For successful goal-directed behaviour, it's crucial to attend relevant stimuli in the visual field while ignoring distractor elements. The oculomotor system is a good model for the study of this competition between different elements. The goal of this research was to analyse spatial-temporal parameters of saccades and presaccadic EEG-potentials at the simultaneous presentation of the target and distracting stimuli to the leading and unleading eye. The complex of the positive and negative potentials was revealed in the saccade latent period. Latency of all components was shorter upon presentation of stimuli to the left, unleading eye, that may indicate the earlier saccade preparation. At the same time LP saccades were longer in this conditions ( $p < 0.05$ ). The results show that early potentials N1 and P1 were higher in amplitude and dominated in the contralateral parietal-occipital areas. It can be reflection of visual sensory processing. The amplitude of the later negative potential N2 at the stimulation of the right eye increased in the case when target stimulus was at the same location than at the previous realisation. It's possible that N2 component is connected with processes of preliminary extracting of motor program from memory together with attention processes. N2 amplitude was higher when the distance between target and distracting stimuli was 15 degrees in comparison with the minimal distance 5 degrees. It's corresponded with LP data. The findings show an active role of attention and decision-making processes in saccade programing.

*The study has been funded by the Russian Academic Excellence Project '5-100'.*



**КОГНИТИВНЫЕ СЕТИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В СОСТОЯНИИ ПОКОЯ И ПРИ ВНЕШНЕЙ СТИМУЛЯЦИИ**

**О.В. Мартынова<sup>1,2</sup>, В.В. Балаев<sup>1</sup>, А.О. Сушинская-Тетерева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; <sup>2</sup>Центр нейроэкономики и когнитивных исследований, Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия

В течение длительного времени неинвазивные исследования когнитивных процессов у человека основывались преимущественно на анализе временных параметров и локализации нейронной активности при ответной реакции мозга на разного рода сигналы или при выполнении определенных заданий. В последнее время в исследованиях мозга всё больший акцент ставится на изучение работы нейронных сетей на макроскопическом уровне. Так, появилось большое количество данных о сетях состояния покоя (ССП), а именно, постоянно регистрируемой при помощи фМРТ активности мозга в состоянии спокойного бодрствования, которая претерпевает изменения при появлении внешнего воздействия. Изменения происходят неравнозначно во всех сетях. Большинство СПП регистрируются и в покое, и при выполнении заданий, тогда как базовая сеть покоя или сеть покоя по умолчанию (Default Mode Network) наиболее активна именно в состоянии покоя. СПП имеют стабильную пространственную и воспроизводимую во времени структуру у здоровых испытуемых, но могут существенно отличаться от нормы при клинической патологии. Одним из важных параметров данной активности мозга является функциональная связанность (ФС) отдельных элементов внутри сети или между СПП. По изменению ФС можно судить о степени вовлечения той или иной сети в когнитивные процессы при активной деятельности. Также, накапливается все больше фактов в пользу достоверной связи активности мозга в состоянии покоя с сознанием и высшими когнитивными функциями. Доказательствами взаимосвязи СПП с содержанием сознания служат многочисленные данные о корреляции между динамической вариативностью нейронных сетей и психологических показателей когнитивных функций. На большом количестве испытуемых была продемонстрирована стабильность корреляций активности СПП и их ФС с данными субъективного самоотчёта о мыслительной деятельности в состоянии покоя, включая их содержание. В докладе представлены данные исследований взаимосвязи поведенческих показателей и ФС областей мозга, активных в состоянии спокойного бодрствования. Рассмотрены данные о повторяемости параметров СПП с течением времени у здоровых испытуемых, а также данные об изменении ФС сетей в зависимости от индивидуального опыта.

**MEG CORRELATES OF INTERNALIZATION OF SOCIAL INFLUENCE**

**A. Gorin<sup>1</sup>, I. Zubarev<sup>3</sup>, A. Shestakova<sup>1</sup>, A. Ossadtchi<sup>1,2</sup>, V. Klucharev<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centre for Cognition and Decision Making, National Research University Higher School of Economics, Russia; <sup>2</sup>Laboratory of Control of Complex Systems, Institute of problems of mechanical engineering, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; <sup>3</sup>Department of Neuroscience and Biomedical Engineering, Aalto University, Espoo, Finland

Social psychology has robustly demonstrated the strong social influence of group opinions on those of individuals. Previously, it was difficult to distinguish a true change of opinion evoked by social influence from mere public compliance. A recent fMRI study (Zaki et al., 2011) suggested that social conformity indeed changes subjective values as indicated by long-lasting changes of the activity in the orbitofrontal cortex and striatum (Zaki et al., 2011). In the present study, we used a paradigm in which participants' initial judgments about the trustworthiness of faces were open to the social influence of group opinion (Campbell-Meiklejohn et al., 2012). Participants rated the trustworthiness of faces, and, after each rating, they were informed of the "average group rating" assigned to the face by a large group of people. The MEG signal was recorded with a 306-channel Elekta Neuromag system (n=15) 30 min after the exposure to the group (normative) opinion.

We compared evoked responses to faces that were previously rated similarly both by a subject and a group (no-conflict trials) with evoked responses to faces that were rated differently (conflict trials). In the sensor space, we found a significant difference at the centroparietal sites: a cluster-corrected permutation test both for magnetometers ( $p=0.028$ ) and gradiometers ( $p = 0.002$ ). Source analysis demonstrated the significant difference between conflict and no-conflict trials bilaterally in the posterior medial cortex: left precuneus:  $p=0.03$ ; right precuneus:  $p = 0.01$ . Our MEG results suggest that activity of the precuneus encodes long-lasting effects of social influence. *This study was funded by the Russian Academic Excellence Project '5-100'.*

**STATE-DEPENDENT IMPACT OF TRANSCRANIAL ALTERNATING CURRENT STIMULATION OF THE MOTOR MIRROR SYSTEM**

**Matteo Feurra, Maria Nazarova, Evgeny Blagoveshchensky, Anna Lebedeva, Daria Pozdeeva, Maria Yurevich, Vadim Nikulin**

School of Psychology, Centre for Cognition and Decision Making, National Research University Higher School of Economics, Moscow, Russia

Recent evidence showed that Transcranial Alternating Current Stimulation (tACS) entrains the endogenous cortical oscillatory activity with a frequency and state-dependent specificity. In a previous study we showed state-dependent effects of tACS delivered on the primary motor cortex (M1) during a motor imagery task. The theta and alpha-tACS increase of corticospinal excitability, respectively indicated a reinforcement of working memory processes required to mentally process and "execute" the cognitive task and a synchronization of alpha oscillatory attentional patterns commonly associated with visual imagery. Here we adopted the same experimental setup to test state-dependent effects of tACS during action-observation, a cognitive task which produces the activation of the mirror motor system that simulates what would happen if the observer would execute himself a not goal-directed pinch-to grip action. Motor-evoked potentials (MEPs) were obtained by transcranial magnetic stimulation (TMS) of M1 by using an online-navigated TMS-tACS setup. Preliminary data showed that beta-tACS confirmed to increase M1 corticospinal excitability of subjects at rest. During action observation, the increase of corticospinal excitability was maximal with alpha-tACS, likely reflecting hypothesis that the mu rhythm in alpha range may specifically index downstream modulation of primary sensorimotor areas by mirror neuron activity and appear to reflect the translation of perception into action. Interestingly the absence of theta-tACS enhancement might reflect a lack of working memory engagement which is crucial for visual motor imagery. Our findings help to disentangle similarities and differences between motor imagery and action observation in terms of frequencies specificity and confirmed that tACS could be used to induce state-dependent enhancement effects.

**NEURAL MECHANISMS OF CHOICE-INDUCED PREFERENCE CHANGE: EEG STUDY**

**Marco Colosio<sup>1</sup>, Anna Shestakova<sup>1</sup>, Vadim Nikulin<sup>1,2</sup>, Nikita Novikov<sup>1</sup>, Vasily Klucharev<sup>1</sup>** <sup>1</sup>Centre for Cognition and Decision Making, Department of Psychology, National Research University Higher School of Economics, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Neurophysics Group, Department of Neurology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Hindenburgdamm 30, Berlin, Germany

According to cognitive dissonance (CD) theory (Festinger, 1957), when a person has to select between two items that are equally attractive, the mere act of choosing one item induces a preference change. Recent neuroimaging studies suggested a critical role of the medial prefrontal cortex (mPFC) in postdecisional spreading of alternatives (see Izuma 2013, for a review). Here, we used electroencephalography (EEG) to further investigate the role of the mPFC in CD. During an EEG session 45 right-handed hungry subjects performed a modified version of the free-choice paradigm (Izuma et al., 2010), in which subjects initially rated their preference for food items. Next, subjects made choices between pairs of foods which varied systematically so that choices were sometimes made between either two equally preferred foods (*Self-Difficult trials*) or between a highly preferred food and an undesirable food (*Self-Easy trial*). Next, subjects rated the original set of food items again to detect post-decisional spreading of preferences. Subjects also participated in two control conditions (*Computer trials*, *Post-ex choices*). Besides, participants underwent the Eriksen Flanker task.

Our behavioral result clearly showed the post-decisional spreading of alternatives. Importantly, event-related potentials (ERPs) and source localization analysis showed a stronger negative fronto-central ERP in *Self-Difficult trials*, similar to classic error-related negativity (ERN) component recorded during the Eriksen Flanker task. Additionally, time-frequency analysis demonstrated a stronger enhancement of occipital theta activity and stronger alpha suppression during *Self-Difficult trials* than during *Self-Easy trials*.

ERN has been previously associated with incorrect responses and general performance monitoring mechanism (Young et al. 2004). Our results showed a similarity between CD-related ERP and ERN. Source analysis demonstrated that both CD-related ERP and ERN are generated within the mPFC. Altogether, our results strongly suggest that CD is reflected in the activity of the mPFC as a part of the general performance-monitoring circuitry.

**ДЛИННО-ВРЕМЕННЫЕ КОРРЕЛЯЦИИ КАК БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР**

**Е. Благовещенский, М. Назарова, З. Ишкан, Т. Федделе, В. Никулин**

*Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия*

Длинно-временные корреляции (ДВК) это относительно новый метод анализа электрофизиологической активности нервной системы, позволяющий оценить фундаментальные свойства нервных сетей, такие как динамический диапазон, память и т.д.. Анализ ДВК можно применять на разных уровнях организации нервной системы: как на клеточном, так и на уровне ЭЭГ человека. В данной работе представлены данные анализа ЭЭГ человека на предмет ДВК в различных задачах. Было показано, что ДВК может использоваться как биомаркер изменений в активности мозга после воздействия транскраниальной магнитной стимуляцией, а также как предиктор поведенческих и электрофизиологических реакций в сложных когнитивных задачах (парадигма когнитивного диссонанса).

**BRAIN-GUT AND GUT-BRAIN AXIS**

**K. Gyires** *Semmelweis University, Budapest, Hungary*

The central nervous system (CNS) influences the gastrointestinal (GI) tract through the so called brain-gut axis and involved in regulation of gastrointestinal physiology and pathophysiology. On the other hand, the gut-brain axis through the information from the gut to the brain may modify brain function. Several convincing data suggest that mental diseases as well as stress may play a role in the development of both gastric and intestinal mucosal lesions and inflammation, such as inflammatory bowel diseases (IBD). Anxiety, panic disorder, panic attacks or social phobia are risk factors for developing subsequent peptic ulcer. Similarly, numbers of clinical and experimental data suggest the role of stress in the development of gastric mucosal injury, however the mechanism of stress-induced gastric damage is not fully clarified; both mucosal injurious and protective mechanisms are activated in response to stress. Central administration of several neuropeptides may influence experimental gastric ulcer formation. Furthermore, it has been well established that depression may coexist with IBD, and IBD is often exacerbated in the presence of psychiatric disturbances. Stress or other negative psychological factors were also shown to influence the course of IBD and experimental stress also contributes to both the initiation and reactivation of GI inflammation in animal models of colitis. Finally, human and animal studies suggest that inflammatory processes in the gastrointestinal system, particularly in the gut may induce central changes that result in altered brain functions, and comorbidity of psychological/psychiatric disorders and IBD influences the course of the each other when they coexist. The lecture aims to give a short overview on the mechanism potentially involved in brain-gut and gut-brain axis.

**ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНАЯ СИСТЕМА – КЛЮЧЕВОЙ ГОРМОНАЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ ОСИ «МОЗГ-ЖЕЛУДОК»**

**Л.П. Филаретова** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Головной мозг и желудочно-кишечный тракт взаимодействуют двунаправленно через так называемую сейчас ось «головной мозг–желудочно-кишечный тракт» («Brain–Gut Axis»). Первой блестящей демонстрацией существования такой оси явилось открытие И.П. Павловым «мозговой фазы» пищеварения: «мозговой фазы» желудочной и панкреатической секреции. Реализация взаимодействия между мозгом и желудком-кишечником обеспечивается через нервные (эфферентные и афферентные компоненты нервной системы) и гормональные пути, а также иммунную систему. В последнее десятилетие стало очевидным важное влияние микробиоты на взаимодействие между кишечником и головным мозгом.

Гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система (ГТАКС) – гормональный компонент оси «мозг-желудочно-кишечный тракт». Значимость этого компонента для функционирования оси и организма ярко проявляется при стрессе. Активация ГТАКС – ключевой компонент стрессорного ответа. Кортикотропин-рилизинг фактор (КРФ) – главный медиатор стресса и стимулятор ГТАКС. Влияние ГТАКС на организм осуществляется глюкокортикоидными гормонами, которые продуцируются в коре надпочечников, конечном звене ГТАКС. Стрессорная активация ГТАКС и продуцирующиеся при этом глюкокортикоидные гормоны долгое время рассматривались как факторы, приводящие к язвообразованию в желудке. Результаты, полученные в нашей лаборатории, поддерживают противоположную точку зрения. Согласно этим результатам

острая стрессорная активация ГГАС – гастропротективный компонент стрессорной реакции, а глюкокортикоиды, продуцирующиеся в ответ на стресс, – важные гастропротективные гормоны. Глюкокортикоидные гормоны, продуцирующиеся во время стресса, вносят важный вклад в поддержание целостности слизистой оболочки желудка: в условиях дефицита их продукции неуглеорогенные в норме стимулы превращаются в углеорогенные, устраняется гастропротективное влияние прекодиционирующих стрессорных воздействий и ослабляется гастропротективное действие КРФ. Ингибирование функциональной активности ГГАС приводит к усугублению язвенной патологии в желудке и угнетению процессов заживления. Таким образом, ГГАС является ключевым гастропротективным гормональным компонентом оси «мозг – желудок» при стрессе. *Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) № 14-15-00790.*

### **НОЦИЦЕПТИВНАЯ ТРАНСМИССИЯ В СИСТЕМЕ «КИШКА–ГОЛОВНОЙ МОЗГ»: СУПРАСПИНАЛЬНЫЕ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ**

**О.А. Любашина<sup>1,2</sup>, И.И. Бусыгина<sup>1</sup>, И.Б. Сиваченко<sup>1</sup>, С.С. Пантелеев<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; <sup>2</sup>Институт фармакологии им. А.В. Валдьмана Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Основным медиатором, обеспечивающих передачу болевых сигналов от органов желудочно-кишечного тракта к структурам головного мозга, является серотонин. Его действие реализуется через разные классы периферических и центральных 5-НТ-рецепторов и, в зависимости от вида активируемого рецептора, свойств и локализации клетки-мишени, может быть про- или антиноцицептивным. Установлено, что болевая сигнализация в системе «кишка-головной мозг» в значительной степени опосредуется рецепторами 5-НТ1А-, 5-НТ3- и 5-НТ4-подтипов. Однако сведения о конкретном вкладе последних в висцеральную ноцицепцию противоречивы и касаются преимущественно их роли на периферическом и спинальном уровнях. Соответствующие супраспинальные механизмы остаются малоисследованными. Поэтому на бодрствующих беспородных собаках и анестезированных уретаном крысах линии Вистар мы изучали эффекты 5-НТ1А-агониста буспирона, 5-НТ3-антагониста гранисетрона, а также 5-НТ4-миметиков пруклоприда и ВМУ8 на соответственно рефлекторные компоненты поведенческой реакции животного на болевую стимуляцию кишки и ассоциированную с последней активность бульбарных нейронов. У бодрствующих собак ноцицептивное (давлением 60–80 мм. рт. ст.) растяжение колоректальной области толстой кишки (КРР) резиновым баллоном вызывало сокращения мышц живота (висцеромоторный рефлекс) и тахикардию (висцеро-висцеральный рефлекс). Инъекции буспирона (0.035–0.14 мг/кг, в/м), гранисетрона (0.025–0.1 мг/кг, в/в) и пруклоприда (0.05–0.1 мг/кг, в/м) приводили к дозозависимому угнетению рефлекторных реакций на КРР. В экспериментах на крысах внутривенные введения буспирона (1–4 мг/кг), гранисетрона (1–2 мг/кг), ВМУ8 (1–2 мг/кг, в/в) и локальная аппликация гранисетрона на дно IV желудка (1.25–2.5 нмоль) оказывали тормозное действие на вызванную КРР активность нейронов ретикулярной области продолговатого мозга. Антиноцицептивные эффекты буспирона и ВМУ8 уменьшались на фоне блокады центральных 5-НТ1А- и 5-НТ4-рецепторов их селективными антагонистами (WAY100635 и GR113808, *icv*). Полученные данные свидетельствуют, что 5-НТ3-рецепторы опосредуют усиливающее, а 5-НТ1А- и 5-НТ4-рецепторы – тормозное действие серотонина на супраспинальную передачу болевого сигнала от толстой кишки. Оба эффекта реализуются с участием бульбарных нейрональных механизмов.

### **КОРТИКАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦЕРЕБРОИНТЕСТИНАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**

**В.Г. Александров** *Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

В настоящее время проблема cerebroинтестинального взаимодействия («brain-gut interaction» – англ.) привлекает всё более пристальное внимание исследователей в области нейрофизиологии и гастроэнтерологии. Установлено, что функциональные расстройства гастроинтестинального тракта во многих случаях являются следствием изменения активности так называемой cerebroинтестинальной оси («brain-gut axis» – англ.). Cerebro-интестинальная ось связывает области висцеральной (автономной) коры с энтеральной нервной системой. В пределах центральной нервной системы cerebro интестинальная ось представляет собой скорее сложно устроенную сеть, образованную нейронами, расположенными в структурах переднего, промежуточного и продолговатого мозга. Эта сеть обеспечивает проведение висцеросенсорной афферентации исходящей из кишечника на разные уровни cerebroинтестинальной оси, включая кортикальный уровень, а также реализацию висцеромоторных команд, формирующихся при участии висцеральной коры. В представленном докладе на основе собственных и литературных данных будут рассмотрены структурные и функциональные аспекты организации cerebroинтестинальной оси, главным образом её кортикального отдела. Будут представлены материалы, характеризующие функциональные особенности различных областей висцеральной коры, организацию их взаимодействия между собой и с областями коры, вовлеченными в когнитивные процессы. Особое внимание предполагается уделить механизмам, модулирующим активность структур cerebroинтестинальной оси и, в особенности, её кортикального отдела. Кроме того, предполагается рассмотреть возможные способы воздействия на cerebroинтестинальную ось с целью коррекции функциональных расстройств гастроинтестинального тракта, а также перспективы дальнейших экспериментальных исследований в этой области.

### **ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНОГО ПРЕКОДИЦИОНИРОВАНИЯ НА СОМАТИЧЕСКУЮ БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ В УСЛОВИЯХ ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**

**Н.И. Ярушкина** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Одним из компонентов оси «мозг–желудочно-кишечный тракт (ЖКТ)» является гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система (ГГАС). Гормоны ГГАС, продуцирующиеся при стрессе, оказывают защитное влияние на слизистую оболочку ЖКТ и вовлекаются в регуляцию соматической болевой чувствительности. Развитие патологического процесса в ЖКТ вызывает изменение соматической болевой чувствительности, проявляющееся как в её усилении (гипералгезии), так и ослаблении (гипоалгезии). Цель исследования состояла в изучении влияния стрессорного прекодиционирования на соматическую болевую чувствительность в условиях поражения ЖКТ, вызванного введением индометацина (ИМ) (35 мг/кг, подкожно). В качестве стрессорного прекодиционирования использовали 30 мин иммобилизацию при холоде (10°C). Соматическую болевую чувствительность тестировали по латентному периоду реакции отведения хвостом в ответ на

его раздражение (tail flick test). Латентный период измеряли как в условиях формирования эрозий в желудке (через 2, 4 ч после введения ИМ), так и в условиях формирования повреждений в тонком кишечнике (через 24, 48 и 72 ч после введения ИМ). Образование эрозий в желудке и повреждений в тонком кишечнике приводило к увеличению латентного периода болевой реакции (соматической гипоалгезии). Имобилизация при холоде в течение 30 мин, сопровождающаяся увеличением продукции кортикостерона в крови, сама по себе не влияла на слизистую оболочку ЖКТ, но уменьшала повреждающее действие ИМ как на желудок, так и на кишечник и приводила к исчезновению гипоалгезии, наблюдающейся в первые 2–4 после введения ИМ. Поражение тонкого кишечника сопровождалось признаками хронического стресса: продолжительным увеличением содержания кортикостерона в плазме крови, гипертрофией надпочечников, инволюцией тимуса и потерей массы тела, а также падением артериального давления и увеличением частоты сердечных сокращений. Таким образом, стрессорное прекондиционирование, индуцирующее активацию ГГАС, может приводить к нормализации соматической болевой чувствительности, измененной в условиях поражения ЖКТ, на ранних стадиях развития патологического процесса.

*Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-01196.*

### **МИКРОБНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ И ОСЬ ГОЛОВНОЙ МОЗГ – ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ**

**В.Н. Даниленко**

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Микробиота кишечника человека трактуется в настоящее время как новый эндокринный орган, играющий ключевую роль в становлении и поддержании иммунитета, поддержании общего гомеостаза человека, в том числе в формировании его нервно-психических и поведенческих особенностей (Flint H.J. et al., 2012; Foster et al., 2013; Clarke G. et al., 2014; Sampson T.R., Mazmanian S.K. 2016). Композиция микробной составляющей ЖКТ является важнейшим показателем состояния постулируемого органа. Выдвигается идея, что микробиота кишечника человека – «второй мозг», ответственный за ряд поведенческих функций и способности к обучению (Clarke G. et al., 2014). Бактерии ЖКТ способны продуцировать нейротрансмиттеры: гамма-аминомасляную кислоту (ГАБА), серотонин, дофамин, норадреналин и, возможно, нейропептиды (Lyte M., 2010, 2013, 2014). В свою очередь, бактерии ЖКТ воспринимают сигналы нейротрансмиттеров, нейропептидов и отвечают на эти сигналы, в том числе через иммунную систему, периферическую нервную систему и непосредственно через блуждающий нерв, передавая эту информацию в мозг. Таким образом, система кишечник–мозг (gut–brain axis) является двусторонней коммуникационной системой, обеспечивающей сложное функционирование ЦНС и ЖКТ. Представляет огромный интерес выявление в микробиоте ЖКТ генов и их композиций контролирующих синтез продуктов способных модулировать прямо или опосредовано нейроактивность головного мозга. В нашей лаборатории сформирован каталог из более 60 таких генов и осуществлен анализ их распределения в метагеном ЖКТ здоровых людей (детей и взрослых) (Захаревич Н.В. и др. 2016, Климина К.М. и др. 2016). Проанализировано наличие генов ответственных за нейромодулирующую активность в геномах бифидобактерий и лактобацилл секвенированных в лаборатории и из международных баз данных. Созданы препараты психобиотиков на основе лактобактерий и бифидобактерий продуцирующих ГАМК и другие нейромодуляторы (Юнес Р.А. и др. 2015). Установлена способность адреналина, норадреналина и серотонина стимулировать рост и повышать адгезивную способность у некоторых штаммов лактобацилл и бифидобактерий. Осуществлен транскрипционный анализ экспрессии тагетных генов у этих штаммов после воздействия указанных нейротрансмиттеров (Полуэктова Е.У. и др. 2016). В экспериментах *in vitro* и *in vivo* (на грызунах) исследуется нейромодулирующая активность созданных штаммов пробиотиков.

### **ВЛИЯНИЕ ДИАБЕТА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА КРИС К ИНДОМЕТАЦИНУ: РОЛЬ ГОРМОНОВ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

**Т.Т. Подвигина, Т.Р. Багаева, Г.И. Гасимова, Л.П. Филаретова**

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

Согласно полученным нами ранее результатам гормоны гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы кортикотропин-рилизинг фактор (КРФ) и кортикостерон оказывают гастропротективное влияние при действии ulcerогенных стимулов. В модели стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс обнаружено увеличение чувствительности слизистой оболочки желудка к ulcerогенным воздействиям. В настоящей работе изучали влияние КРФ и кортикостерона на образование эрозий в желудке, вызванных индометацином (ИМ), у крыс в модели диабета. Стрептозотоцин вводили в дозе 70 мг/кг (в/б.) за 2 недели до введения ИМ (35 мг/кг, п/к). Для выяснения роли кортикостерона в изменениях, индуцированных стрептозотоцином, использовали адреналэктомию. Для изучения роли КРФ за 15 мин до ИМ вводили сам КРФ (2,5 мг/кг, в/б) или антагонисты его рецепторов. Через 4 ч после введения ИМ крыс декапитировали. Развитие диабета определяли по повышенному уровню глюкозы в крови и потреблению воды. При диабете наблюдались признаки хронического стресса: увеличение уровня кортикостерона в крови и массы надпочечников, снижение массы тела, тимусов и селезенки по сравнению с контрольными крысами. Развитие диабета сопровождалось повышением чувствительности слизистой оболочки желудка к ulcerогенному действию ИМ, что проявлялось в увеличении площади повреждения. Как и у контрольных крыс, в условиях развития диабета введение КРФ оказывало гастропротективное действие, а введение неселективных (астрессина) и селективных антагонистов КРФ рецепторов (NBI и астрессином2-Б) усугубляло ulcerогенное действие ИМ. Адреналэктомию сама по себе приводила к увеличению площади эрозий, вызванных ИМ, но не влияла на площадь эрозий у крыс с диабетом. Тем не менее, у крыс с диабетом адреналэктомию приводила к снижению уровня глюкозы в крови, увеличению массы тимуса и селезенки по сравнению с показателями у ложнопериоперированных крыс с диабетом. Таким образом, КРФ (как экзогенный, так и эндогенный) способен оказывать гастропротективное действие при диабете. Повышенный уровень кортикостерона в крови крыс с диабетом способствует продолжительному поддержанию высокого уровня глюкозы в крови и развитию каталитического эффекта.

*Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) № 14-15-00790 и Программой Президиума РАН.*

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЯЗВООБРАЗОВАНИЕ В ЖЕЛУДКЕ, ИНДУЦИРОВАННОЕ СТРЕССОМ ИЛИ ИНДОМЕТАЦИНОМ**

**О.П. Комкова, О.Ю. Морозова, Т.Т. Подвигина** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния хронического стресса на эрозивные повреждения слизистой оболочки желудка, индуцированные стрессом или индометацином. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Спрей-Доули. Два вида стрессоров были использованы: 1) стрессор одной модальности – 1 ч иммобилизация в пеналах (жесткая и умеренная) и 2) чередующиеся, непредсказуемые, стрессоры разной модальности. В обоих случаях стрессорные воздействия ежедневно предъявляли в течение 14 дней. Контрольных крыс не подвергали стрессу. На 15-й день после начала хронического стрессирования для индуцирования эрозий в желудке вводили индометацин в дозе 35 мг/кг (п/к) или применяли иммобилизацию при температуре 6°C и 10°C. Крысы предварительно голодали 24 ч. Через 4 ч после введения индометацина или через 3 ч после начала иммобилизации крыс декапитировали, оценивали площадь эрозий в желудке, уровень кортикостерона и глюкозы в крови, массу тимуса, надпочечников и селезенки. Согласно полученным данным, ежедневно предъявляемый жесткий хронический стресс в течение 1 ч приводил к уменьшению площади эрозий, индуцированных индометацином. При этом, ежедневное стрессирование в течение 1 ч умеренной иммобилизацией не влияло на образование эрозий в слизистой оболочке желудка после введения индометацина. Следует отметить, что удлинение ежедневного стрессирования умеренной иммобилизацией до 4 ч также не влияло на образование эрозий, индуцированных индометацином. Чередующийся хронический стресс приводил к уменьшению площади эрозий, индуцированных индометацином или иммобилизацией при температуре 10°C. Однако, чередующийся хронический стресс вызывал усугубление образования эрозий, индуцированных более жестким стрессором – иммобилизацией при температуре 6°C. Таким образом, хронический стресс может приводить как к ослаблению, так и к усугублению последующих ulcerогенных воздействий. Кроме того, он может не оказывать влияния на ulcerогенное действие предъявляемых стимулов. Эффект зависит как от самого хронического стресса, так и от ulcerогенного воздействия. Следует отметить, что в эксперименте сложнее найти модель, в которой наблюдается усугубляющее действие хронического стресса на образования эрозий в желудке. *Работа поддержана грантом РНФ 14-15-00790.*

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИХ И НОЦИЦЕПТИВНЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

**А.Д. Ноздрачев, Л.В. Филиппова**

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

Вопрос о взаимоотношении иммунной и нервной систем при бактериальной инвазии в последнее время вызывает большой интерес и широко обсуждается. Существующие гипотезы о регуляции воспаления в большинстве своем не принимают во внимание активацию нервных сенсорных структур кишки, хотя сейчас уже убедительно показано, что нейроны и сенсорные волокна экспрессируют Toll-подобные рецепторы (TLR), которые ранее связывали только с иммунными клетками. Наличие паттерн-распознающих рецепторов в нейронах энтеральной части метасимпатической нервной системы позволяет считать, что эти клетки способны прямо распознавать патогенные микроорганизмы. Известно, что активация TLR4 под влиянием бактериального ЛПС может запускать каскад внутриклеточных сигнальных путей, приводя к высвобождению различных нейропептидов, провоцирующих развитие болевой реакции. Однако молекулярные механизмы бактериально индуцированной боли остаются во многом неясными. С целью поиска доказательств возможного взаимодействия между рецептором врожденного иммунитета TLR4 и ноцицептивным ванилоидным рецептором TRPV1 мы провели ряд экспериментов, в которых с помощью иммуногистохимии и конфокальной микроскопии изучили экспрессию и коэкспрессию этих рецепторов в энтеральных нейронах в норме и при воспалении различной природы. В результате исследования удалось выявить коэкспрессию рецепторов TLR4 и TRPV1 на CGRP-положительных энтеральных нейронах и показать достоверное увеличение числа этих клеток на фоне эндотоксемии, вызванной ЛПС *E.coli* и во время острого колита, индуцированного колоректальным введением тринитробензенсульфоната (TNBS). Кроме того установлено, что капсаицин, являющийся лигандом ноцицептивного рецептора TRPV1, повышает экспрессию рецептора врожденного иммунитета TLR4 в энтеральных нейронах. Результаты дают основания полагать, что наблюдаемая при воспалении кишки усиленная экспрессия TLR4 посредством внутриклеточной сигнализации активирует TRPV1, что в свою очередь приводит к освобождению нейропептида CGRP, который в зависимости от концентрации может вызывать про- или противовоспалительные эффекты.

*Работа поддержана РФФИ, грант 15-04-04177.*

**ПЕЙЕРОВЫ БЛЯШКИ – ТКАНЕВОЙ БАРЬЕР МЕЖДУ ПАТОГЕНАМИ И ВНУТРЕННЕЙ СРЕДОЙ ОРГАНИЗМА**

**А.Г. Марков** *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

Тканевой барьер, сформированный эпителиальным слоем слизистой оболочки кишечного тракта, подвергается постоянной антигенной нагрузке. Расположенная в стенке кишки лимфоидная система, ассоциированная со слизистой, обеспечивает развитие иммунной реакции в ответ на проникновение патогенных агентов и обеспечивает иммунологическую толерантность по отношению к компонентам пищи и комменсальным бактериям. Рабочей гипотезой является предположение о том, что снижение парацеллюлярной проницаемости эпителия Пейеровых бляшек способствует захвату и транспорту патогенов через специализированные М-клетки. Трансэпителиальное сопротивление Пейеровых бляшек достоверно больше трансэпителиального сопротивления участков стенки кишки с ворсинками, составляя  $94 \pm 5$  и  $63 \pm 4$  Ом·см<sup>2</sup>, соответственно. Сопротивление эпителия Пейеровых бляшек, равное  $30 \pm 5$ , достоверно превышает сопротивление эпителия ворсинок, имеющего значение  $13 \pm 1,3$  Ом·см<sup>2</sup>. Парацеллюлярная проницаемость эпителия Пейеровых бляшек для молекул декстрана различной молекулярной массы достоверно меньше проницаемости эпителия ворсинок слизистой оболочки кишки. Значение проницаемости для декстрана 4 кДа было снижено в семь раз, а для декстрана 20 кДа – в десять раз. Вестерн-блот показал в эпителии Пейеровых бляшек клаудин-1, -2, -3, -4, -5, -7, -8 и окклюдин. Уровень клаудина-1, -5, и -8, снижающих проницаемость эпителия, был достоверно больше в эпителии Пейеровых бляшек по сравнению с эпителием ворсинок. Уровень клаудина-2 и -7, увеличивающих проницаемость эпителия, оставался без изменений в обоих исследованных участках кишки. Иммуногистохимически была установлена локализация клаудинов и окклюдина в мембране эпителия Пейеровых бляшек и эпителия вор-

синок тощей кишки. Были получены сигналы от клаудина-1, -2, -3, -4, -5, -7, -8 и окклюдина. Для клаудинов показана локализация в латеральной части апикальной мембраны эпителия Пейеровых бляшек и ворсинчатого эпителия тощей кишки, то есть в области, в которой располагаются плотные контакты. Эпителий Пейеровых бляшек обладает выраженными барьерными свойствами, что свидетельствует об ограничении парацеллюлярного транспорта в этой структуре.

#### **НО-ЕРГИЧЕСКАЯ СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА В СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ**

**П.М. Маслюков, К.Ю. Моисеев, Е.В. Каткова** *Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

NO является одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нервной, иммунной и эндокринной системе. В отличие от симпатических узлов, подавляющее большинство симпатических преганглионарных нейронов млекопитающих содержит NO-синтазу (NOS), которая при этом солокализована с ферментом синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазой (ХАТ). Целью исследования явилось выявление симпатических нейронов, иммунореактивных к NOS и ХАТ у крыс разного возраста при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечення антителами. Исследованию подвергались симпатические узлы и Th2 сегмент спинного мозга крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Результаты показали, что во всех возрастных группах NOS-позитивные нейроны отсутствуют в симпатических узлах. В спинном мозге в боковых рогах NOS выявлялась в 1) nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars principalis (nucl.ILp), 2) nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars funicularis (nucl.ILf); 3) nucleus intercalatus spinalis (nucl.IC); 4) nucleus intercalatus spinalis pars paraependymalis (nucl.ICpe); 5) nucleus intermediomedialis (nucl.IMm) с момента рождения у всех животных. Тем не менее, у новорожденных животных все нейроны в основном ядре nucl.ILp являлись NOS-позитивными, небольшая часть нейронов при этом являлась ХАТ-негативными. В течение первого месяца жизни доля NOS-иммунопозитивных нейронов существенно уменьшается, а ХАТ-положительных, наоборот, увеличивается. У одномесячных крысят 30–35% преганглионарных симпатических спинномозговых нейронов являются NOS-иммунонегативными. Эта доля остается в последствии почти неизменной, незначительно уменьшаясь у старых животных до 20–25%. Таким образом в раннем постнатальном онтогенезе наблюдается возрастное изменение NO-ергической симпатической передачи, проявляющееся в снижении числа симпатических преганглионарных нейронов, экспрессирующих NOS. *Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00538.*

#### **ОСОБЕННОСТИ КАЛЬБИДИН- И КАЛЬРЕТИНИН-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ МЕТАСИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ**

**А.И. Емануйлов, П.М. Маслюков** *Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

К внутриклеточным кальций-связывающим белкам, наиболее распространенным в нервной системе, селективно экспрессирующимся в определенных популяциях нейронов, относятся кальбиндин (КБ) массой 28 кДа и кальретинин (КР). При этом особенности возрастного развития кальций-регулирующих систем, в том числе КБ и КР в нейронах автономной нервной системы остаются малоизученными, хотя отдельные работы свидетельствуют о выраженных возрастных изменениях экспрессии этих пептидов. Локализация, процентное содержание и морфометрические характеристики КБ и КР иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах межмышечного и подслизистого сплетения двенадцатиперстной кишки крыс в постнатальном онтогенезе определялись при помощи иммуногистохимических методов. Результаты показали, что КБ и КР-иммунореактивные нейроны выявлялись у всех исследованных крыс от новорожденных до старых. Доля КР-иммунореактивных нейронов заметно увеличивалась в первые 10 суток жизни, и далее достоверно не изменялась, в том числе и у старых животных. Процент КБ-содержащих нейронов возрастал в первые 20 суток жизни, незначительно снижался к концу первого месяца и далее достоверно не менялся. Средний размер КБ- и КР-иммунореактивных клеток являлся достоверно больше средней площади сечения иммунонегативных нейронов во всех возрастных группах. Таким образом, в раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение доли КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах кишки, что противоположно возрастным изменениям содержания кальций-связывающих белков в чувствительных спинномозговых и симпатических узлах. Окончательное созревание нейронов интрамуральных узлов, содержащих различные типы кальций-связывающих белков, завершается к концу первого месяца жизни. Возрастной инволюции КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов межмышечного сплетения двенадцатиперстной кишки у старых крыс не отмечается.

#### **ЛОКАЛИЗАЦИЯ И КОЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ TLR4 И TRPV1 В ЭНТЕРАЛЬНЫХ НЕЙРОНАХ**

**Л.В. Филиппова, А.Е. Волкова** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Активация паттерн-распознающего рецептора TLR4 под влиянием бактериального липополисахарида может запускать каскад внутриклеточных сигнальных путей, что приводит к высвобождению различных нейропептидов и развитию болевой реакции. Однако, несмотря на отдельные экспериментальные данные, указывающие на возможность функционального взаимодействия между рецептором врожденного иммунитета TLR4 и болевым ванилоидным рецептором TRPV1, молекулярные механизмы бактериально индуцированной боли остаются по-прежнему во многом неясными. Цель настоящей работы состояла в исследовании экспрессии и коэкспрессии рецепторов TLR4 и TRPV1 в нейронах энтеральной части метасимпатической нервной системы крысы. В экспериментах с использованием иммуногистохимического метода с двойной меткой и лазерного конфокального сканирующего микроскопа установлено, что TLR4- и TRPV1-позитивные нейроны присутствуют в подслизистом и межмышечном сплетениях двенадцатиперстной, тощей и ободочной кишки крысы. Число клеток, экспрессирующих ванилоидный рецептор, в зависимости от участка кишки, значительно превышает соответствующее число TLR4-позитивных нейронов. Обнаружено, что ванилоидные рецепторы экспрессируются преимущественно нейронами межмышечного сплетения, тогда как паттерн-распознающие – клетками подслизистого сплетения. Выявлено достоверное увеличение экспрессии обоих рецепторов в условиях индуцированной липополисахаридом *E. coli* эндотоксемии. Использование тройного иммуноокрашивания позволило продемонстрировать коэкспрессию рецепторов TLR4 и TRPV1 на уровне одиночного нейрона. Результаты исследования подтверждают предположение о возможности функционального взаимодействия

между рецепторами TLR4 и TRPV1. Они также свидетельствуют о том, что одним из возможных механизмов висцеральной боли при бактериальном инфицировании кишки может быть стимуляция ноцицепторов посредством прямой активации рецептора врожденного иммунитета TLR4, экспрессируемого на сенсорных нейронах энтеральной части метасимпатической нервной системы. *Работа поддержана РФФИ, грант 15-04-04177.*

### **ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЛЕГКИХ**

**О.Н. Платонова, Л.В. Филиппова** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Большинство исследований, посвященных изучению роли иммунологических механизмов в патогенезе таких заболеваний, как обструктивная болезнь легких и бронхиальная астма, сосредоточены главным образом на роли адаптивной иммунной системы. Вместе с тем в последние годы становится все более очевидным, что врожденная иммунная система играет не менее важную роль в развитии патологических состояний легких. Появляются работы, где рассматривается участие Толл-подобных рецепторов (TLR) в развитии обструктивной болезни легких и астмы. Однако вклад TLR-опосредованных механизмов тучных клеток в ранние протективные процессы и последующие эффекторные функции во время инфекции легких в значительной степени неизвестен. В связи с этим представляло интерес исследовать изменения экспрессии рецепторов врожденного иммунитета, и в частности, TLR4 при патологических условиях в легких. Эксперименты проведены на крысах линии Спрэг-Дули. Экспрессию TLR4 выявляли иммуногистохимически с использованием первичных поликлональных кроличьих антител к TLR4 крысы (Abscam). Детекцию тучных клеток проводили с помощью гидролазы убиквитина – первичные антитела UCHL-1 (Sigma-Aldrich), продуцированные в мыши. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали вторичные антитела с флуоресцентной меткой Alexa Fluor 488 козы против IgG кролика (Invitrogen) и вторичные антитела Alexa Fluor 568 осла против IgG мыши (Invitrogen). Фотографии с полученных срезов снимали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 710 фирмы Carl Zeiss (Центр коллективного пользования "Конфокальная микроскопия" ИФ РАН). Установлено, что TLR4 экспрессируется тучными клетками в подслизистом слое мукозы обоих легких крысы. При этом не было обнаружено различия в числе TLR4-позитивных тучных клеток в правом и левом легком. В условиях индуцированной с помощью ЛПС *E. coli* эндотоксемии наблюдалось достоверное увеличение экспрессии TLR4 в клетках обоих легких. Полученные данные указывают на возможность участия тучных клеток в развитии иммунного ответа при бактериальном инфицировании легких. *Работа поддержана РФФИ, грант 16-34-00276.*

### **ЗНАЧЕНИЕ $\alpha$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ В РАЗИВАЮЩЕМСЯ СЕРДЦЕ**

**Т.Л. Зефирова, Н.И. Зиятдинова** *Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Симпатический отдел автономной нервной системы оказывает широкий спектр разнообразных влияний на сердечно-сосудистую систему, регулируя хронотропию, инотропию, дромотропию. Адренорецепторы (АР) взаимодействуют с катехоламинами, определяя эффекты действия симпатической нервной системы. На сегодняшний день известно о наличии девяти подтипов адренергических рецепторов в сердце млекопитающих и человека:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1D}$ ,  $\alpha_{2A}$  (у крысы  $\alpha_{2D}$ ),  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  и  $\beta_3$ . Однако, до сих пор вопрос о наличии и функциональном значении различных  $\alpha$ -АР в сердце человека и животных является предметом исследования. Дальнейшие исследования подтипов  $\alpha$ -адренорецепторов помогут уточнить их роль в регуляции функций организма и позволят выработать правильную стратегию применения лекарственных препаратов блокирующих, либо активирующих разные  $\alpha$ -адренорецепторы. В настоящее время обсуждается клиническое значение феномена ранней инволюции симпатического отдела вегетативной нервной системы в кардиоваскулярной патологии. В связи с чем, актуальными являются исследования по изучению сердечных функций у животных с несформированной симпатической иннервацией сердца. Целью данного исследования было изучение влияния роли различных подтипов  $\alpha$ -адренорецепторов в регуляции сердечных функций развивающихся крыс.

В экспериментах *in vivo* выявлены выраженные сердечно-сосудистые эффекты на стимуляцию и блокаду подтипов  $\alpha$ -АР у взрослых крыс, показано наличие хронотропных эффектов на блокаду подтипов  $\alpha_2$ -АР у новорожденных крысят. В экспериментах *in vitro* показано, что блокада подтипов  $\alpha_2$ -адренорецепторов вызывает выраженный инотропный эффект и носит разнонаправленный характер. В экспериментах *ex vivo* на изолированном сердце (по Лангендорфу) показано наличие выраженных хронотропных и инотропных эффектов агонистов  $\alpha_1$ -адренорецепторов непосредственно на сердце крыс разного возраста. Проведенные исследования выявили наличие существенных возрастных особенностей влияния фармакологической блокады и стимуляции разных подтипов  $\alpha$ -адренорецепторов на сердце крыс. *Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-05384).*

### **НЕЙРОПЕПТИД $\Upsilon$ -ЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЦА КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

**А.А. Зверев, Т.А. Аникина, А.В. Крылова, Ф.Г. Ситдинов, Т.Л. Зефирова**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Нейропептид  $\Upsilon$  (NPY) присутствует совместно с норадреналином во многих нейронах и действует, как котрансмиттер, модулируя эффекты основного медиатора, оказывая пре- и постсинаптические эффекты. В сердце крыс присутствует metabotropic NPY1, NPY2, NPY3, NPY4 и NPY5- рецепторы. Несмотря на обилие морфологических работ, доказывающих наличие различных типов NPY-рецепторов в сердце, функциональная роль многих из них остается неясной. На установке "PowerLab" регистрировали изометрическое сокращение полосок миокарда предсердий и желудочков крыс 7 и 100-суточного возраста на действие селективных агонистов и блокаторов NPY11-рецепторов. У 100- и 7-суточных животных агонист NPY1-рецепторов Leu(31)Pro(34)NPY вызывает дозозависимое сокращение миокарда предсердий и желудочков крыс в диапазоне концентрации  $10^{-10}$ – $10^{-5}$  М. Максимальное увеличение силы сокращения миокарда у 100-суточных крыс наблюдается в концентрации  $10^{-7}$  М. У 7-суточных животных максимальное увеличение силы сокращения миокарда желудочков и предсердий наблюдается в концентрации агониста  $10^{-6}$  М. Концентрация агониста, вызывающая положительный инотропный эффект от 100- к 7-суточному возрасту повышается, что указывает на более высокую чувствительность NPY1-рецепторов у взрослых животных. Блокатор NPY1-рецепторов BIBP 3226 в концентрации  $10^{-5}$  М вызывает уменьшение сократимости миокарда у 100-суточных крыс к 10–12 минуте после добавления. Максимальный отрицательный инотропный

эффект в желудочках составляет 9,8%, в предсердиях 10,2%. Для определения подтипа NPY1-рецепторов на фоне селективного блокатора V1BR 3226 исследовали влияние наиболее эффективных концентраций агониста. У 100-суточных крыс эффект совместного действия блокатора и агониста NPY1-рецепторов не достигает отрицательных значений силы сокращения миокарда, полученных при аппликации одного блокатора. У 7-суточных крысят блокатор вызывает увеличение сократительной активности миокарда и к 35 минуте составляет в желудочках 19,8%, в предсердиях 8,1%. На фоне блокатора положительный эффект агониста NPY1-рецепторов полностью устраняется. Таким образом, реализация положительного инотропного эффекта Leu(31)Pro(34)NPY, осуществляется при участии NPY1 типа рецепторов.

### **РОЛЬ СЕРОТОНИНА В МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ МИОКАРДА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС В МОДЕЛЯХ ЛЕГОЧНОЙ И СИСТЕМНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

**Р.Р. Нигматуллина, М.Д. Чибирева, Д.Ф. Билалова, О.И. Кузьмина, В.Л. Матвеева, Г.Н. Афлятумова, Р.С. Недорезова, И.С. Рагинов, Д.И. Садыкова** *Казанский государственный медицинский университет, Казанская государственная медицинская академия, Казанская академия ветеринарной медицины*

Хорошо известно, что серотонин регулирует функции сердечно-сосудистой системы в процессе эмбриогенеза и в постнатальном периоде. Его действие реализуется через рецепторы, особенно подтип 5-HT2B, и мембранный переносчик SERT. Нами изучена роль мембранного переносчика SERT и 5-HT2B рецепторов в ремоделировании миокарда и сосудов у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR в возрасте 6-8 недель, а также у одновозрастных крыс в монокроталиновой модели легочной артериальной гипертензии. Методика: иммуногистохимическое окрашивание препаратов на выявление экспрессии 5-HT2B рецепторов и SERT, окрашивание препаратов по Ван Гизону для выявления развития фиброзно-эластических структур. В качестве контрольной группы использовались одновозрастные крысы линии Вистар-Киото. Результаты: у крыс линии SHR и крыс в модели легочной гипертензии уже на 6 неделе постнатального онтогенеза выявлены гипертрофия кардиомиоцитов, соответственно в левом и правом желудочках и значительное разрастание фиброзной ткани, позитивная иммуногистохимическая реакция на 5-HT2B рецепторы и SERT. С 7 недели у крыс линии Вистар-Киото количество иммунопозитивных к 5-HT2B рецептору и SERT кардиомиоцитов снижается, а у крыс линии SHR увеличивается. Вывод: Серотонин через 5-HT2B рецепторы и SERT вовлечен в процесс компенсаторных изменений на повышающееся давление в большом и малом кругах кровообращения у неполовозрелых крыс линии SHR и крыс в монокроталиновой модели легочной гипертензии с формированием морфофункциональных пороков развития сердца.

### **КОНВЕКТИВНЫЙ ПЕРЕНОС ТЕПЛА В ОРГАНИЗМЕ**

**Ю.И. Лучаков** *Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

В работе использована вновь построенная оригинальная модель теплопереноса кровью как в отдельных сосудах, так и в сосудистом русле. Исследования показали, что теплообмен между кровью и тканью в норме в основном осуществляется в артериальных сосудах радиусом от 50 до 300 мкм, а в венозных от 100 до 500 мкм. Более крупные сосуды (радиусом больше чем из выше приведенного диапазона) выполняют в основном функцию теплопереноса, а в более мелких сосудах температура крови сравнивается с температурой ткани и поэтому нет обмена теплом между кровью и окружающей тканью. При увеличении скорости кровотока происходят изменения в процессе теплообмена между тканью и кровью, протекающей по различным сосудам. Теплообменниками становятся не только сосуды из выше приведенного диапазона, но и более мелкие. Причем, чем больше скорость кровотока, тем более мелкие сосуды вовлекаются в теплообмен. Изменение скорости кровотока в сторону уменьшения приводит к обратному эффекту. Из теплообмена исключаются и более крупные сосуд, входящие в выше приведенный диапазон. Такие явления происходят как в артериальных, так и в венозных руслах. Как показывают наши исследования в оболочке тела на границе ядра и оболочки и в коже залегают артериальные и венозные сосуды размеры которых уменьшаются при приближении к поверхности кожи. Такое строение сосудистого русла на периферии тела позволяет организму изменять теплоперенос в этой области, изменяя только скорость кровотока. Это в свою очередь приводит к особому явлению, которое позволяет организму поддерживать тепловой гомеостаз в пределах термонейтральной зоны. При увеличении температуры среды скорость кровотока на периферии организма увеличивается, что приводит к увеличению конвективного теплопереноса в этой области тела и, как показывают наши экспериментальные и теоретические исследования, происходит расширение размеров ядра организма за счет тканей оболочки. Наоборот, при снижении температуры среды скорость кровотока на периферии организма, что приводит к сужению ядра, но температура тканей ядра останется неизменной. Такие колебания размеров ядра и оболочки, как показывают наши исследования, позволяют сохранять тепловой гомеостазис в пределах термонейтральной зоны.

### **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СУЩЕСТВОВАНИЯ ГИДРОБИОНТОВ В УСЛОВИЯХ АНОКСИИ**

**А.А. Солдатов, Т.И. Андреев, И.В. Головина, И.А. Парфенова, И.В. Сысоева, А.А. Сысоев** *Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского, Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия*

Рассматриваются метаболические пути, которые используют морские организмы, временно или постоянно обитающие в условиях аноксии. Показано, что кислородные потребности у таких видов в условиях нормоксии (7-8 мг O<sub>2</sub> л<sup>-1</sup>) существенно снижены. В тканях преобладают анаэробные процессы, о чем свидетельствует низкое содержание глюкозы, увеличенный уровень лактата и повышенные активности лактат- и малатдегидрогеназ (ЛДГ и МДГ). Это определяет низкий энергетический статус тканей: сниженный уровень АТФ и невысокие значения заряда Аткинсона (ЗА) и фосфорильного потенциала (ФП). Дыхательная цепь митохондрий у них организована по нескомпенсированному типу с явным преобладанием цитохромов терминальной группы (aa3). При этом суммарный уровень цитохромов в тканях снижен. У организмов, жизненный цикл которых полностью реализуется в условиях аноксии (лорифицеры), митохондрии в клетках замещаются на гидрогеносомы (Danovaro et al., 2010). В условиях аноксии отмечено усиление процессов белкового катаболизма, приводящее к снижению содержания белка, росту уровня свободных аминокислот (в особенности аспартата) и мочевины. Гидролизу подвергаются преимущественно низкомолекулярные пептиды. Одновременно аноксия сопровождается ростом значений индекса МДГ/ЛДГ, что связано со снижением активности ЛДГ. Это происходит на фоне усилением сукцинаттиокиназной и фумарат-



редуктазной реакцией, контролируемых аланин- и аспартаминотрансферазами. Последнее исключает накопление токсичного лактата в тканях и позволяет получать дополнительный ресурс макроэргов. При этом метаболические процессы в печени (гепатопанкреасе) ориентированы на продукцию аминокислот. Аноксия вызывает снижение пула адениловых нуклеотидов и энергетического потенциала тканей. Уровни АТФ, АДФ, а также значения ЗА и ФП уменьшаются. Величина снижения не превышает 40–45%. Изменения носят сбалансированный характер и являются функционально достаточными для поддержания суббазальных скоростей метаболизма. *Работа поддержана РФФИ – грант 16-04-00135а.*

### **МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН В ОРГАНИЗМЕ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ**

**В.И. Максимов, И.Н. Староверова, С.Ю. Зайцев**

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия*

Жизнедеятельность пушных зверей и их продуктивность во многом зависит от минерального обмена, протекающего в их организме, контроль за которым можно осуществлять по сравнительной оценке минеральных элементов в корме, органах и тканях, таких как кровь и волосяной покровы (первичный и вторичный), используя для этого коэффициент биологического поглощения (КБП – частное от отношения элемента в крови (волосе) к концентрации его в кормовом рационе).

Цель работы заключалась в определении возрастных особенностей минерального обмена в волосяном покрове и состава крови у стандартных норок, серебристых песцов и серебристо-черных лисиц.

Объектами исследований служили самцы стандартных норок, серебристых песцов и серебристо-черных лисиц, принадлежавшие племязаводу «Салтыковский» Московской области. Кровь и биосубстраты волос были взяты у здоровых норок, песцов и лисиц в разные возрасты постнатального онтогенеза: у 30-ти сут.; у 90-сут.; у 7-ми и 12-ти мес. Макро- и микроэлементы: Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, I, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sr, Sn, V, Zn в крови, в волосе и в кормовом рационе для каждого возраста зверей определяли на приборах Optima-2000 DM и ELAN-9000 (Perkin-Elmer, USA).

Установлено, что для большинства макро- и микроэлементов максимальные КБП для крови у норок, песцов и лисиц наблюдаются в фазы наиболее интенсивного роста и развития всех их органов и тканей вплоть до 90-сут. возраста, и когда формируется первичный и вторичный волосяные покровы, после чего бурное развитие пушных зверей сменяется периодом замедленного роста, характеризующимся минимальными значениями КБП макро- и микроэлементов, которым соответствуют фазы полового созревания и зрелого тела, когда у зверей уже полностью сформированы все органы и ткани, стабилизированы все обменные процессы в организме, когда уже сформирован и созрел зимний волосяной покров, а также в фазу зрелого тела, в начале весенней линьки. Установленные корреляционные связи показали, что минеральные составы общепринятых хозяйских рационов и минеральные составы волосяных покровов у пушных зверей взаимосвязаны друг с другом. Следовательно, минеральный состав волосяного покрова, можно использовать как тест на сбалансированность по минеральным элементам рационов для каждого возраста пушных зверей.

### **ВОЗМОЖНОСТЬ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ УЧАСТКОВ ПАРАНЕКРОЗА И НЕКРОБИОЗА КИШЕЧНИКА ПРИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ИХ СВЕЧЕНИЯ В ВЫСОКОЧАСТОТНОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ**

**Е.Г. Колесников, В.А. Тараканов** *Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия*

Цель работы: выяснение возможности дифференциальной диагностики паранекроза и некробиоза участков кишки по параметрам их свечения в высокочастотном электрическом поле. Материалы и методы. У 10-ти детей в возрасте 3–7 лет, страдающих некротическим энтероколитом II–III степени (по Bell), были взяты биоптаты из удаленных отделов кишки. Газоразрядную визуализацию участков биоптата осуществляли в течение 15 секунд сканером КЭЛСИ, созданным многопрофильным предприятием «ЭЛСИС» (г. Санкт-Петербург). Свечение сканировалось, увеличивалось встроенным в сканер микроскопом, регистрировалось фото-телекамерой (до 1000 кадров/сек; разрешающая способность 2048×1536) и анализировалось на ПК. Программа воспроизводила изображение на экране монитора в виде снимков и видеоролика, строила гистограммы яркостей свечения и гистограммы длин волн. Обсуждение. В процессе развития некроза выделяют три стадии: паранекроз – состояние обратимых изменений; некробиоз – перестройка клетки с необратимыми изменениями; собственно гибель клетки и процессы аутолиза. В участках паранекроза и некробиоза, в высокочастотном электрическом поле, наряду с краевым наблюдалось и внутреннее свечение. На поздних стадиях некроза оно исчезало. При некробиозе площадь внутреннего очага свечения на 79,4% была больше чем при паранекрозе; общая яркость свечения превышала таковую на 19,5%; наибольшая яркость свечения была интенсивнее аналогичной на 16,4%. Диапазон длины волн свечения участка некробиоза превосходил таковой на 4,9%; медиана диапазона длины волн свечения участка некробиоза на 14,0% превышала медиану диапазона длины волн свечения участка паранекроза. Паранекротические изменения участка стенки кишки и начальная стадия некроза протекают с высвобождением энергии. Это высвобождение энергии, по-видимому, усиливается высокочастотным полем, что и проявляется очагами свечения в этих участках. Можно допустить, что при парабактериальных изменениях в стенке кишки выделение энергии меньше, чем при некробиозе. На основании разной интенсивности свечения создается возможность определения границы паранекроза и гибели участка кишки. Последний подлежит удалению.

### **ИНГИБИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ И КАЛЬЦИЙ-НЕПРОНИЦАЕМЫХ АМРА РЕЦЕПТОРОВ ПЕРАМПАНЕЛОМ**

**О.И. Барыгин, М.С. Комарова, М.В. Николаев, М.Ю. Дронь, Д.Б. Тихонов**

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

Перампанел – это противоспазмолитический препарат, недавно одобренный для лечения парциальных судорожных припадков. Показано, что он является неконкурентным аллостерическим антагонистом ионотропных глутаматных рецепторов АМРА типа. Вместе с тем, опубликованные данные об активности перампанела сильно варьируют в разных исследованиях. Это может быть следствием неоднородности в средстве различных подтипов АМРА рецепторов к перампанелу или следствием разницы в экспериментальных протоколах. В данной работе мы исследовали действие перампанела на кальций-проницаемые и кальций-непроницаемые АМРА рецепторы изолированных нейронов мозга крыс линии Вистар с помощью

метода локальной фиксации потенциала. Мы показали, что активность и кинетика действия перампанела на кальций-проницаемые AMPA рецепторы гигантских интернейронов стриатума и кальций-непроницаемые AMPA рецепторы пирамидных нейронов зоны CA1 гиппокампа достоверно не отличаются (ИК50 около 60 нМ). Кроме того, перампанел одинаково ингибировал токи, вызванные аппликацией каината и глутамата. С другой стороны, активность перампанела достоверно снижалась в присутствии аллостерического потенциатора AMPA рецепторов циклотиазида (ИК50 увеличилась до  $1,2 \pm 0,2$  мкМ). Мы также показали, что перампанел конкурирует за сайт связывания с классическим аллостерическим антагонистом AMPA рецепторов GYKI-52466. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-01080 А. ОИБ благодарит за финансовую поддержку в виде стипендии Президента РФ СП-208.2016.4.

### **АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 2-БЕНЗАМИДА-2(2-ОКСОДОЛИН-3-ИЛИДЕН) УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ZNM В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

**Ю.С. Букатгару<sup>1</sup>, И.И. Заморский<sup>1</sup>, С.В. Колесник<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы; <sup>2</sup>Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Ранее в проведенных нами скрининговых исследованиях среди производных 2-бензамида-2(2-оксодолин-3-илиден) уксусной кислоты было выделено соединение № 15 под условным обозначением ZNM, которое проявило антигипоксикантное действие, не уступающее по эффективности действию антигипоксиканта мексидола. Целью работы стало выявление антиоксидантных эффектов производного ZNM по интенсивности белковой перекисидации в коре головного мозга крыс в условиях хронической гипобарической гипоксии (ХГГ). Исследования проведены на 28 белых лабораторных беспородных половозрелых крысах-самцах средней массой 180–200 г. ХГГ моделировали в модифицированной проточной барокамере путем имитации подъема крыс на высоту 4000 м над уровнем моря со скоростью подъема 24 км/ч. На этой высоте животных выдерживали в течение 2 часов ежедневно на протяжении 4 недель. Вещества (ZNM и препарат сравнения мексидол) вводили внутривенно ежедневно с конца второй недели за 35 мин до моделирования ХГГ. ZNM вводили в дозе 15 мг/кг в виде водной суспензии, стабилизированной полисорбат 80, а мексидол — в дозе 100 мг/кг. Животным интактной группы вводили эквивалентное количество растворителя. Интенсивность белковой перекисидации оценивали гистохимически по интенсивности красного и синего окрашивания (коэффициент R/B) продуктов перекисидации в нейронах гистологических срезов головного мозга крыс. Гистохимический анализ степени белковой перекисидации показал, что в цитоплазме нейронов коры головного мозга у животных, подвергшихся ХГГ, коэффициент R/B равняется  $1,38 \pm 0,071$ , что в 1,4 раза выше, чем у контрольных животных ( $p=0,008$ ). После введения как мексидола, так и вещества ZNM степень белковой перекисидации достоверно уменьшалась по сравнению с данными при ХГГ в 1,2 раза ( $p<0,05$ ) и существенно не отличалась от показателей контроля. Таким образом, исследованное вещество ZNM с антигипоксикантной активностью проявляет антиоксидантное действие при хронической гипоксии, сравнимое с действием антигипоксиканта мексидола.

### **ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛКАЛОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ**

**Е.О. Терентьева, С.А. Сасмаков, Н.Е. Цеомашко, Ж.М. Абдурахманов, О.Н. Аширов, Ш.С. Азимова**  
Институт химии растительных веществ АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Проведены исследования цитотоксической, антимикробной и противогрибковой активностей тропановых, индольных и изохинолиновых алкалоидов, а также их производных на перевиваемых культурах раковых клеток (HeLa – аденокарцинома шейки матки, HBL-100 – аденокарцинома молочной железы и HEP-2 – аденокарцинома гортани), на культурах нормальных клеток (фибробластов и гепатоцитов), на штаммах микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* RKMUz-5, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27879, *Escherichia coli* RKMUz-221, штамм *Escherichia coli* NEB-5a резистентный к ампициллину (содержащий рекомбинантную плазмиду – ген устойчивости к ампициллину) и штамм грибов *Candida albicans* RKMUz – 247) *in vitro*. Выявлены низкотоксичные для нормальных клеток ингибиторы роста клеток карциномы гортани – N-бензил конвольвин (для HEP-2  $IC_{50}=12,3$  мМ/л, для нормальных клеток  $IC_{50}=32,8$  мМ/л) и йодметилат фенилгидразона норфлуорокурарина (для HeLa  $IC_{50}=10,6$  мМ/л, для нормальных клеток  $IC_{50}=42,5$  мМ/л). Среди производных изохинолиновых алкалоидов активными соединениями, подавляющими рост раковых клеток с низкой токсичностью для нормальных клеток, оказались 1,8-Бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) октан, 1,4-Бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) бутан, 1,7-Бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) гептан. Результаты скрининга на антимикробную активность показали, что среди изученных соединений выраженную антибактериальную активность проявляют 1,11-Бис-(6,7-диметокси-) и 1,11-Бис-(6,7-метилendioкси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундеканы в отношении всех изученных штаммов, включая резистентный к ампициллину штамм *Escherichia coli*. 1,11-Бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан также проявил высокую противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* с большей зоной ингибирования, чем у противогрибковых препаратов сравнения.

### **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**С.О. Осикбаева, А.В.Панов, З.С. Орынбаева, С.Т. Тулеуханов**  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

На протяжении многих десятилетий фокус на генетическое предопределение раковых изменений, а также узкое интерпретирование концепции Варбурга о доминировании гликолитического метаболизма раковых клеток, нивелировало важность митохондриального метаболизма в раковых трансформациях. Гликолитическая активность раковой клетки не всегда означает функциональную несостоятельность митохондрий. Несмотря на важную роль митохондрий в развитии апоптоза, процесса, избегание которого является ключевой характеристикой раковой клетки, функциональные особенности этих органелл изучены относительно мало. Сравнительное исследование нормальных и раковых клеток предстательной железы показало, что они имеют различия в метаболизме цитрата и митохондриального L-лактата. Кроме того, в отличие от большинства злокачественных тканей клетки опухоли простаты имеют низкую гликолитическую активность и транспорт глюкозы, а также преимущественно метаболизируют жирные кислоты. В данной работе изучались митохондрии, выделенные из нормальных эпителиальных клеток простаты (PrEC), а также метастатических клеточных линий LNCaP, PC-3, DU145. Выявлено, что

раковые клетки содержат в 2–4 раза больше митохондриальных белков, ровно как и общее содержание митохондрий в них больше чем в нормальных клетках. Респираторная активность раковых митохондрий в 5–20 раз выше, чем таковая митохондрий нормальных клеток в зависимости от субстрата и метаболического состояния органелл. Был выявлен ряд особенностей, которые обеспечивают раковым митохондриям устойчивость к развитию апоптоза, а именно низкое сродство комплекса I к НАДН, на 20–30 мВ более высокий мембранный потенциал и большая кальциевая емкость. В совокупности эти параметры позволяют сдерживать открытие пермеабиллизованной поры митохондрий и предотвращать развитие апоптоза. Более того, низкое сродство НАДН-дегидрогеназы к субстрату можно рассматривать как адаптивное свойство раковых клеток к накоплению и выделению лактата. Результирующее закисление внеклеточной среды позволяет активировать переносчик дикарбоксильных кислот на плазматической мембране раковых клеток для поддержания повышенного окислительного фосфорилирования. Полученные данные свидетельствуют о митохондриях как потенциальных мишенях антираковых терапий.

#### **ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ**

**Ю.А. Бойко, А.А. Шандра** *Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

В патогенезе воспаления, особую важность имеют оксидантные процессы, участвующие в механизмах клеточного и субклеточного повреждений. В связи с вышесказанным, представляет интерес исследование влияния природных антиоксидантов на патологические процессы в ходе экспериментального воспаления. Антиоксидантные вещества получали из свежих плодов *Capsicum annuum* L. сорта украинский горький. Изготовленная на основе выделенных антиоксидантных веществ, мягкая лекарственная форма имела следующий состав: 0,2% каротиноидов (выделенный антиоксидантный компонент), 99,8% мягкая основа. Антиоксидантную активность оценивали по противовоспалительному эффекту. Исследование проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 200–220 г. Экспериментальное воспаление вызывали путем введения адьюванта Фрейнда под плантарный апоневроз правой конечности. Оценивали морфологические изменения в области воспаления, а также проводили подсчет общего количества лейкоцитов в камере Гаряева. Лечебное воздействие осуществлялось один раз в сутки, путем нанесения мази на область воспаления. Чрезкожное введение антиоксидантных веществ, основу которых составляла смесь из красных и желтых каротиноидных фракций *Capsicum annuum* L., позволила уменьшить объем отека в зоне воспаления на 70% на 2–4 сутки после введения флогогена у животных опытной группы по сравнению с контрольной. Общее количество лейкоцитов, в первые 2–4 суток развития воспалительного процесса, было приблизительно равным у животных опытной и контрольных групп и колебалось в пределах 25–30 г/л. На 15 день после индуцирования воспаления, отечные проявления у крыс опытной группы, практически отсутствовали, а абсолютные размеры конечности в области воспаления были близки к таковым до введения флогогена, общее количество лейкоцитов уменьшилось до 18 г/л. В контрольной группе воспалительный отек сохранялся более чем 20 дней после введения флогогена, количество лейкоцитов крови составляло 27 г/л на 20 день воспаления. Противовоспалительный механизм действия каротиноидов может быть объяснен влиянием на уровень образования провоспалительных простагландинов, в том числе простагландина E2. Уменьшения количества простагландинов, а также свободных радикалов и активных форм кислорода ведет к уменьшению всех видов проявления воспалительного процесса.

#### **ЕСТЕСТВЕННЫЕ КИЛЛЕРЫ И МИКРОФЛОРА ЧЕЛОВЕКА**

**И.П. Балмасова, Е.С. Малова, Н.В. Глухоедова, Р.И. Сепиашвили** *Российский университет дружбы народов, Москва, Россия*

Естественные киллеры – клетки врожденного иммунитета, выполняющие в организме очень важные регуляторные и эффекторные функции. Эти клетки участвуют в механизмах естественной защиты организма при вирусных инфекциях, опухолевых заболеваниях, они способны к запуску адаптивного иммунного ответа, регенеративных и фиброзных процессов в органах. Не менее важны и функции этих клеток в физиологических реакциях организма, поскольку они осуществляют контроль за клеточной цитодифференцировкой, элиминируют из организма клетки в состоянии мутации и т.д. Присутствие естественных киллеров в слизистых оболочках позволяет предполагать их важнейшие барьерные функции и возможную функциональную взаимосвязь с микрофлорой, формирующейся в процессе жизнедеятельности на поверхности слизистых оболочек, однако эта функция естественных киллеров до настоящего времени полностью не раскрыта. В последние годы стали накапливаться сведения о способности этих клеток формировать в слизистых оболочках особый фенотип долгоживущих клеток – естественных киллеров памяти. Один из факторов, индуцирующих этот процесс, – цитомегаловирусы слизистых оболочек ротовой полости. В соответствии с этим заслуживает внимания гипотеза, выдвигаемая авторами этого доклада, о роли естественных киллеров памяти в подавлении процессов реактивации цитомегаловируса путем подавления возможности суперинфицирования им. В последние годы появились сведения о вспомогательной роли отдельных цитокинов в индукции естественных киллеров памяти, среди которых называются ИЛ-15 и ИЛ-12. Нашими исследованиями удалось показать, что этот список может быть расширен за счет ИЛ-10, секреция которого в слизистых оболочках тесно связана с процессом взаимодействия биопленки нормальной микрофлоры с эпителием слизистой оболочки. Более того, была установлена взаимосвязь между продукцией этого интерлейкина и способностью естественных киллеров к внутриклеточному содержанию серотонина. В связи с этим возникают перспективы расширить наши представления о функциональной роли естественных киллеров памяти в их взаимоотношениях с микрофлорой тела человека.

#### **РОЛЬ ТИМУСА В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ТИМУС-ЗАВИСИМЫЙ (ТЗ) И ТИМУС-НЕЗАВИСИМЫЙ (ТНЗ) АНТИГЕНЫ (АГ)**

**А.В. Полевщиков, Е.Л. Прозоровская, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова**

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия*

Разделение АГ на ТЗ и ТНЗ проведено ещё в конце 1950-х гг. Считается, что ответ на ТЗАГ сопровождается Т-В-клеточной кооперацией, в то время как на ТНЗАГ протекает за счет прямой активации В-лимфоцитов и не требует участия Т-клеток. Целью работы была оценка уровней экспрессии костимулирующей молекулы CD28 и его функционального антагониста CTLA-4 (CD152) на субпопуляциях тимоцитов в ответ на иммунизацию эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС), ЛПС и введение полиоксидония (ПО). Исследование проведено на мышах линии СВА массой 18–20 г и возрастом 8–10 нед.

Животных иммунизировали внутрибрюшинно 0,1 мл ЭТС, либо 10 мкг ЛПС *Salmonella typhimurium* в объеме 0,1 мл, либо 25 мкг ПО в объеме 0,1 мл. Часть животных за 48 ч до иммунизации ЭТС получали внутрибрюшинно 1 мл раствора высокополимерного декстрана (60–80 кД) в объеме 1 мл. Контрольная группа получала 0,1 мл забуференного фосфатами 0,14 М раствора NaCl. Тимусы получали на точках 48, 72 и 96 ч после иммунизации и после гомогенизации оценивали экспрессию CD28, поверхностного и внутриклеточного CD152 на разных субпопуляциях тимоцитов методом проточной цитометрии. Разделение тимоцитов на субпопуляции проводили с использованием панели моноклональных антител (CD4, CD8, CD25, CD28, CD44, CD45, CD152). Установлено, что в ответ на иммунизацию ЭТС (ТЗАГ) на сроках 48–96 ч достоверно повышалась экспрессия CD28 на всех тимоцитах, кроме DN3 и DP. Предварительное введение декстрана ускорило прирост CD28 на 24 ч и повышало его амплитуду. Напротив, в ответ на введение ЛПС уровень экспрессии CD28 падал, но повышался уровень экспрессии CD152, особенно в цитоплазме (прирост примерно в 300 раз), особенно для всех SP. В ответ на введение ПО выраженных отличий от контроля не наблюдалось, отмечена лишь слабая тенденция изменений, сходных с ответом на ТНЗ ЛПС. Таким образом, результаты указывают, что ответ на любые антигены все равно связан с тимусом, формирование иммунного ответа по ТЗ или ТНЗ пути всё равно связано с изменением физиологической активности тимоцитов и косвенно свидетельствует о проникновении антигенов в тимус по ходу иммунного ответа. *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 1326), гранта РФФИ №15-04-05093 и гранта ДВФУ №14-08-06-25\_и.*

### **ИММУННАЯ СИСТЕМА И АДАПТАЦИЯ ОРГАНИЗМА К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ**

**Б.Г. Юшков, В.А. Черешнев** *Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

В запуске адаптивных процессов центральное место занимают фагоцитирующие клетки, выполняющие роль своеобразных рецепторов. В зависимости от набора активационных сигналов, исходящих от рецепторов фагоцитов после взаимодействия с патогеном и эндогенными молекулами, преобладает тот или иной стереотип поведения клеток. Одни рецепторы, так называемые фагоцитарные, опосредуют захват микроорганизмов. Другие – сигнальные (TLRs), не опосредуют процесса фагоцитоза, но запускают синтез цитокинов. Получив информацию о повреждении, макрофаг, выделяя цитокины, транслирует ее на другие клетки – иммунокомпетентную клетку по механизму антигенной презентации, морфогенетический лимфоцит, тучную клетку, эндотелиоцит через VEGF, фибробласт через TNF. Лимфоциты при восстановительных процессах во многих органах приобретают цитогенетическую активность и при пересадке неоперированному животному стимулируют клеточное деление преимущественно в его гомологичных органах. Это показано при регенерации печени, почек, тонкой кишки, кровеносной ткани, легких, слюнных желез, гипертрофии миокарда. В условиях действия на организм экстремальных факторов отмечается тотальная дегрануляция мастоцитов. При этом, количество тучных клеток в одних тканях (тимус, костный мозг) уменьшается, а в других (печень, кишечник, желудок, надпочечники) возрастает. Поскольку мастоциты, как известно плохо и крайне редко в тканях делятся митозом, то процессы увеличения количества тучных клеток на единицу площади после стресс-фактора можно объяснить их активной миграцией. При этом наблюдается определенный баланс между процессами миграции и дегрануляции тучных клеток, который в разных тканях представлен по-разному, в соответствии с морфофункциональной спецификой изучаемого органа. Перераспределение подвижных клеток между тканями при стрессе можно рассматривать в качестве важного компонента адаптационного синдрома. Тучные клетки секретируют сами и вызывают освобождение bFGF (основной фактор роста фибробластов), обладающего ангиогенными свойствами, из других клеток. Проллиферативный ответ эндотелиоцитов связывают и с гепарином. Этот белок, синтезируемый тучными клетками, обладает тучной активностью для эндотелиальных клеток, и блокируется антагонистами гепарина (протамином или гепариназой).

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ИЗУЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЭКСТРАКТАМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

**А.П. Кривой, Л.П. Андриеш** *Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемциану, Кишинев, Молдова*

В настоящее время одним из направлений фармакокинетики является разработка получения лекарственных средств путем экстракции биологически активных веществ из региональных растений. Для реализации цели были использованы лабораторные белые крысы весом 250–300 г, одного пола и возраста. В опытах использовались две группы животных – контрольная и экспериментальная. Моделирование эксперимента проводилось путем внутривенного введения различных доз экстракта лекарственного растения в течение 45 дней, а животным из контрольной группы вводили физиологический раствор в той же дозировке. Мониторинг физиологических параметров (масса тела, поведение, количество потребляемой пищи, уровень глюкозы, белковых фракций и др. показателей) осуществляли в течение наблюдаемого периода. Об иммунофизиологической активности биологически активного компонента экстракта судили по специфическим показателям в крови и моче. Таким образом, предложенная экспериментальная модель изучения чувствительности к экстрактам лекарственных растений может быть использована в условиях эксперимента при изучении различных биологически активных веществ.

### **ПЛАСТИЧНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ**

**И.В. Нестерова** *Российский университет дружбы народов Минобрнауки РФ, Москва, Россия*

В настоящее время приоткрыта завеса над ранее неизвестными свойствами нейтрофильных гранулоцитов (НГ). НГ не являются терминально дифференцированными клетками, выполняющими только фагоцитарные функции, направленные на элиминацию патогенов. Они являются активными участниками адаптивного иммунного ответа: в ответ на микробную агрессию, или «сигналы опасности», НГ синтезируют и секретируют про- и противовоспалительные цитокины, хемокины, реактивные формы кислорода и др. Посредством этого НГ рекрутируют антиген презентующие клетки (АПК), включая моноциты, макрофаги и дендритные клетки (ДК), позитивно модулируют или супрессируют функции Т и В лимфоцитов. Под влиянием некоторых цитокинов сами НГ активируются и трансформируются в АПК – экспрессируют на своей мембране молекулы ГКГС II класса, костимулирующие молекулы и другие поверхностные маркеры и способны презентовать АГ Т лимфоцитам. НГ обладают возможностями регулировать, активировать и/или супрессировать, реакции воспаления. Приоб-

ретаю новые черты, НГ из тканей способны возвращаться в сосудистое русло, транслоцироваться в лимфоузлы. НГ при определенных обстоятельствах образуют нейтрофильные экстрацеллюлярные сети/ловушки (NET). НГ способны по-разному трансформировать свой фенотип при остром и хроническом воспалении, при опухолевых и аутоиммунных процессах. Так, под влиянием ИФН $\gamma$ ; НГ приобретают противоопухолевые, а под влиянием ТРФ $\alpha$ ; – проопухолевые свойства. НГ способны трансформироваться в “НГ-ДК-гибриды”, обладающие дуальными свойствами, присущими как НГ, так и ДК. В физиологических условиях НГ – ОМОН иммунной системы (ИС),- осуществляют свою работу быстро и внешне незаметно. При патологических состояниях дефектное функционирование НГ поливариантно. Дефицит НГ – нейтропения, нарушение фагоцитарной функции имеют место при нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваниях, в т.ч. при сепсисе. Гиперактивация НГ, неуправляемое формирование NET, гибель через некроз приводят к повреждению тканей при аутоиммунных процессах (СКВ, васкулиты, болезнь Крона, ревматоидный артрит), сепсисе. Таким образом, НГ – гетерогенная популяция клеток ИС, обладающая пластичностью и приобретающая, под влиянием различных воздействий, новые фенотипические черты и функциональные свойства, как в норме, так и при патологии.

#### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА НА КРАТКОВРЕМЕННОЕ ОХЛАЖДЕНИЕ ПРИ УЛЬТРАНИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ (-70°C)**

**М.М. Салтыкова, С.А. Пономарев, М.П. Рыкова, Е.Н. Антропова, С.А. Калинин, А.В. Муранова, О.А. Журавлева, А.А. Маркин, Д.С. Кузичкин, В.Н. Титов, О.И. Орлов** *Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

Оценивали воздействие однократного кратковременного (3 мин) охлаждения в криосауне (-70°C) на температуру тела, частоту сердечных сокращений (ЧСС), показатели системного иммунитета и биохимические параметры крови. В исследовании приняли участие 6 здоровых мужчин. Изучаемые показатели регистрировали перед холодовой экспозицией в криосауне, через 2 мин после выхода из неё, а также через 1 и 3 ч после выхода. У всех обследованных охлаждение приводило к снижению ЧСС в среднем на 9 ударов, внутренней (тимпанической) и кожной температуры на 1°C и 7°C, соответственно. В плазме крови увеличивались концентрации норадреналина на 50%, свободных жирных кислот (на 180%), холестерина липопротеинов высокой плотности (на 20%), глюкозы (на 10%) и  $\beta$ -гидроксибутирата (на 10%). Кроме того, регистрировалось увеличение количества лейкоцитов на 20%. При этом содержание Т-лимфоцитов повышалось в среднем на 32% и естественных киллеров на 41%. В течение часа после холодовой экспозиции тимпаническая температура и ЧСС восстановились только у 2 испытуемых, а температура кожи у всех испытуемых оставалась сниженной. Концентрация катехоламинов падала ниже фонового уровня. Концентрации свободных жирных кислот и холестерина липопротеинов высокой плотности возвращались на исходный уровень к 3 часу после холодовой экспозиции, а концентрации глюкозы и  $\beta$ гидроксибутирата оставались повышенными. У 5 из 6 испытуемых через 1 и 3 часа после холодовой экспозиции отмечалось повышение (по сравнению с фоном) количества лейкоцитов в среднем на 18%. У всех обследуемых регистрировалось увеличение количества В-лимфоцитов и снижение количества естественных киллеров. Таким образом, разность температуры кожи и окружающего воздуха около 100°C обеспечивает в криосауне высокую скорость падения кожной температуры (более 0.03°C/сек) и формирование терморегуляторного ответа с участием динамической активности холодовых рецепторов, что обеспечивает активацию метаболических и иммунологических реакций при относительно небольшом падении кожной и внутренней температуры.

#### **ГОРМОН ТИМУСА ТИМУЛИН ИЗМЕНЯЕТ БАЛАНС МОНОАМИНОВ В МОЗГЕ ТИМЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС ПОСЛЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА**

**А.В. Новоселецкая, Н.М. Киселева\*, А.Н. Иноземцев** *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; \*Российский национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия*

Феномены стресса и адаптации к нему являются одной из актуальных проблем нейроиммунофизиологии. Не смотря на то, что в последнее время стали появляться исследования, указывающие на стресс-протекторные свойства пептидов тимуса, при этом неисследованным остается вопрос участия гормона вилочковой железы в современных схемах работы стресс-системы. Работа посвящена исследованию изменений уровня моноаминов (норадреналина (НА), серотонина (5-НТ), дофамина (ДА)) после эмоционального стресса в мозге тимэктомированных крыс, получавших гормон тимуса тимулин. Работа выполнена на 90 крысах Wistar массой 180-200 г с соблюдением основных биоэтических правил. Проведено 3 серии экспериментов на интактных, ложно оперированных и тимэктомированных животных. В течение месяца животным вводили физиологический раствор 0,5 мл или 0,15 мг/кг тимулина. Через месяц у крыс вырабатывали условный рефлекс активного избегания в камере, состоящей из двух отсеков. При обучении крысы избегали удара тока (0,4-0,9 мА), сочетавшегося со звуком (700 Гц), переходя из одного отсека в другой. Затем экстренно изменяли условия опыта: перебежание крысы в другой отсек переставало приводить к выключению раздражителей (сбой выработанного навыка, приводящий к эмоциональному стрессу). Тимулин после сбоя достоверно увеличивал уровень 5-НТ в гипоталамусе и стриатуме (во всех 3 сериях, но в большей степени у тимэктомированных). Поскольку гормон тимуса не вызывал указанных изменений у интактных, ложно оперированных и тимэктомированных крыс, то наблюдаемые изменения можно объяснить сбоем реакции избегания. Увеличение 5-НТ под воздействием тимулина можно рассматривать как вариант адаптации к стресс-воздействию. Помимо увеличения 5-НТ, под влиянием тимулина отмечали повышение содержания НА в гипоталамусе и фронтальной коре, а ДА – в гипоталамусе (во всех 3 сериях, но в большей степени у тимэктомированных). Следует отметить, что тимулин оказал стресс-протекторные свойства, полностью предотвратив сбой реакции избегания. Таким образом, имевшее место увеличение содержания 5-НТ и НА в гипоталамусе объясняет положительный эффект на сбой реакции избегания.

#### **ДИНАМИКА СТРЕСС ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ КРЫС**

**М.В. Бликян, М.И. Морозова, Н.С. Зайцева** *Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия*

Изучен цитокиновый статус, который отражает систему межклеточных взаимоотношений и межклеточной регуляции, в частности клеток, участвующих в обеспечении врожденного (неспецифического) и приобретенного (специфического) иммунитета. Экспериментальные исследования выполнены на 266 половозрелых нелинейных белых крысах-самцах и посвящены изучению гуморальных факторов врожденного иммунитета и регуляторов межклеточных взаимоотношений в норме и при

острой соматической боли. Острую соматическую боль (ОСБ) 3–4 степени интенсивности моделировали путем электрокожного раздражения рецепторной зоны корня хвоста крыс с помощью электростимулятора ЭСУ-2 со следующими параметрами: частота тока – 1000 Гц; амплитуда тока – 30 В; длительность импульса – 500 мс. Концентрацию интерлейкинов (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ ) в сыворотке крови экспериментальных крыс определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы Bender MedSystems (Europe). Измерение оптической плотности опытных проб при 450 нм и обсчет результатов проводили на фотометре MULTISKAN MS LABSYSTEMS (Финляндия). Задержка импульса – 1 мс, время стимуляции – 2 мин. Контрольная группа животных содержание ИЛ-1 $\alpha$  (n=10) в периферической крови составляет 417,0 $\pm$ 65,3 пг/мл, а ИЛ-1 $\beta$  (n=10) – 24,6 $\pm$ 4,1 пг/мл, ИЛ-1 $\alpha$  (n=10) через 2 мин – 633,3 $\pm$ 102,2 пг/мл (p<0,001). Через 30 минут содержание ИЛ-1 $\alpha$  (n=10) составило 512,6 $\pm$ 58,6 пг/мл, через 60 мин (n=10) – 539,1 $\pm$ 102,4 пг/мл. Полученные значения в обоих случаях не имели статистически значимого различия по сравнению с контрольной серией (p>0,05). Через 2 ч ИЛ-1 $\alpha$  (n=10) составляет 660,6 $\pm$ 108,3 пг/мл, а часом позже 859,3 $\pm$ 126,3 пг/мл. И в том и в другом случае различие по сравнению с контрольной группой статистически значимо (p<0,05). Близкая к описанной и реакция со стороны ИЛ-1 $\beta$ . Через 2 мин ИЛ-1 $\beta$  (n=10) было втрое выше, чем в контрольной группе, и составило 74,0 $\pm$ 24,5 пг/мл (p<0,01). Через 30 мин ИЛ-1 $\beta$  (n=10) 77,2 $\pm$  27,2 пг/мл (p<0,01). Через 60 мин ИЛ-1 $\beta$  (n=10) в сравнении с контрольной группой, оно равняется 85,0 $\pm$ 32,5 пг/мл (p<0,01). Через 2 ч в периферической крови животных содержание ИЛ-1 $\beta$  (n=10) составило 40,2 $\pm$ 5,9 пг/мл, а через 3 часа (n=10) – 53,0 $\pm$ 12,3 пг/мл. Это различие статистически значимо (p<0,05). Противобололевой, как и болевой эффект ИЛ-1 и ИЛ-1РА, зависят от их дозы, динамика, отслеженная в проведенной работе, может трактоваться как реакция на боль, при этом направленная на ее купирование. Действие ИЛ-1 может быть направлено на активацию механизмов иммунной защиты, в т. ч. и врожденного иммунитета.

### **НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННАЯ РЕАКЦИЯ НА РАЗВИТИЕ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

**М.Н. Михайлова, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко, О.Ю. Кострова, А.А. Котёлкина**  
*Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия*

Известно, что длительный стресс приводит к нарушениям в нейроэндокринной и иммунной системах, одним из последствий которых является снижение противоопухолевой резистентности. Целью исследования явилась оценка морфофункциональных изменений нейроэндокринных структур надпочечников, тимуса и селезенки при экспериментальном канцерогенезе молочной железы у крыс на фоне хронического стресса. Работа выполнена на 60 белых нелинейных половозрелых крысах-самках. Рак молочной железы индуцировали путем инъекций N-метил-N-нитрозомочевин (МНМ). Часть крыс после его введения подвергали иммобилизационному стрессу. Выведение из эксперимента проводили через 2 месяца после окончания введения канцерогена. Срезы органов изучали с помощью люминесцентно-гистохимических и иммуногистохимических методов. Установлено, что на фоне развития рака молочной железы в отсутствие стресса в изучаемых органах более значимо возрастает число нейроэндокринных клеток, экспрессирующих синаптофизин и нейронспецифическую энолазу. В мозговом веществе надпочечников при канцерогенезе на фоне стрессового воздействия уровень серотонина (С) и катехоламинов (К) в 2 раза выше. В пучковой и сетчатой зоне коры надпочечников стресс, напротив, вызывает значительное падение содержания этих аминов, тогда как при онкогенезе в отсутствие стресса их уровень повышается. Кроме того, стресс приводит к возрастанию уровня гистамина (Г) в сетчатой зоне. В тимусе на фоне канцерогенеза отмечается рост уровня С и Г в корковом веществе и люминесцирующих гранулярных клетках (ЛГК) кортико-медуллярной и субкапсулярной зон, часть которых относится к нейроэндокринным клеткам АПУД-серии. Воздействие стресса приводит к более значительному повышению уровня С в ЛГК обеих зон, уровня Г – в ЛГК субкапсулярной зоны. В ЛГК лимфоидных узелков белой пульпы селезенки крыс, подвергшихся стрессу после введения МНМ, наблюдается более выраженный подъем уровня С и К. Изменения уровня аминов в красной пульпе селезенки носит реципрокный характер: на фоне стресса отмечается снижение Г и повышение С, К, а без стресса – наоборот. Интегральный показатель (С+Г)/К во всех клетках значительно выше у крыс при введении МНМ с последующим стрессовым воздействием, что свидетельствует о большем подавлении функциональной активности клеток этой группы крыс.

### **РОЛЬ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ – А (ГИПО)-ГАММАГЛОБУЛИНЕМИЕЙ**

**Л.П. Сизякина, И.И. Андреева** *Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия*

Одной из актуальных проблем фундаментальной и клинической иммунологии являются первичные иммунодефициты (ПИД) – генетически обусловленная неполноценность иммунной системы. Половина всех ПИД приходится на иммунодефициты с дефектами антителообразования, основным клиническим проявлением которых являются рекуррентные бактериальные инфекции. Однако количество эпизодов обострений хронических инфекций различна даже в условиях отсутствия регулярной заместительной терапии. В этой связи представляет интерес анализ частоты и длительности течения инфекционных процессов в зависимости от показателей врожденного иммунитета. Все обследованные пациенты (25 человек) с X-сцепленной агаммаглобулинемией (X-АГГ) и общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН) были разделены на 2 группы. В первую (15 человек) вошли больные, у которых количественные и функциональные показатели клеточных факторов врожденного иммунитета были ниже контрольных параметров, во второй группе (10 человек) данные показатели иммунного статуса находились в пределах референсных значений. В качестве контроля обследованы 10 практически здоровых доноров крови. Экспрессию поверхностных и внутриклеточных параметров мононуклеарных периферической крови определяли на проточном цитофлюориметре «FC 500» с использованием соответствующих моноклональных антител (Beckman Coulter). Установлено, что у пациентов первой группы, при сниженных показателях системы НК (CD16<sup>+</sup> 4,9 $\pm$ 2,2%; доля цитолитически активных Гранзим<sup>+</sup> клеток 44,0 $\pm$ 8%; в контроле 12,2 $\pm$ 1,2% и 80 $\pm$ 7% соответственно), среднее количество дней применения антибиотиков для лечения эпизодов обострения хронических очагов инфекции составило 102 $\pm$ 24, а частота обострений хронических инфекций 6-8 эпизодов в год. У пациентов второй группы (CD16<sup>+</sup> 9,2  $\pm$ 2,1%; CD16<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> 67 $\pm$ 9%) количество дней применения антибиотиков – 65 $\pm$ 14, среднее число обострений – 3-4 в год. Таким образом, у больных с генетическим дефектом гуморального звена угнетение количественных и функциональных показателей лимфоидных клеток врожденного иммунитета усугубляет клиническое течение первичной а- и гипогаммаглобулинемии.

**РОЛЬ НЕЙРОАУТОАНТИТЕЛ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СОСТОЯНИЯХ ОПИЙНОЙ НАРКОМАНИИ**И.А. Ковалев, В.А. Шаркова *Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, РФ*

Первичная заболеваемость опийной наркоманией на начало 2015 года в Приморском крае составляет 11,3 на 100 тыс., что в 1,5 раза выше, чем в целом по РФ. Пораженность опийной наркоманией в крае составила 187 на 100 тыс., что в 1,08 раза выше, чем в РФ. Целью исследования явилась оценка уровня аутоантител (аАТ) к нейробелкам S100, ОБМ, ГФКП, ФРН при различных состояниях наркозависимости. Обследовано 70 пациентов с диагнозом опийная наркомания, все мужчины, в возрасте 22–38 лет. Из них в состоянии интоксикации опиоидами – 24 человека, в состоянии абстиненции – 24 человека и 22 человека в ремиссии 14–28 дней. Контрольную группу составили здоровые лица – 18 человек. Материалом исследования служила сыворотка крови. Уровни аАТ к нейробелкам определялись методом твердофазного ИФА с помощью тест-системы ООО «Биофарм-тест». Статистически достоверных изменений содержания нейроаутоантител сыворотки крови при опийной наркомании в состоянии интоксикации в сравнении с контрольной группой не выявлено: при этом уровень антител к белкам S100, ГФКП понижался, к ОБМ, ФРН несколько возрастал. При развитии абстинентного синдрома отмечено повышение (относительно контрольной группы) уровня аАТ к белку ГФКП ( $148,9 \pm 16,1$  усл.ед. против  $136,2 \pm 13,1$  усл.ед.,  $p < 0,05$ ), ОБМ ( $221,9 \pm 39,9$  усл.ед. против  $138,5 \pm 13,4$  усл.ед.,  $p < 0,05$ ), ФРН ( $p > 0,05$ ), тенденция к снижению аАТ к S100. При опийной наркомании в состоянии ремиссии уровень аутоантител незначительно отличался от уровня аАТ в контрольной группе: выявлена тенденция к снижению антител к белкам ГФКП, ОБМ, повышению к S100, ФРН. Увеличение аутоантител к антигенам мозговой ткани, говорит об активации защитных функций, а затем и о повреждении этими антителами ткани мозга (Шаркова В.А., 2007; Гамалея Н.Б. 2012.), что позволяет предположить, что именно в состоянии абстиненции, когда происходят выраженные когнитивно-мнестические нарушения (Бохан Н. А. 2012), что проявляется увеличением нейроаутоантител. Проведенное исследование подтвердило, что при опийной наркомании активируются аутоиммунные процессы. В состоянии абстиненции происходит наибольшая активация поступления в периферическую кровь аутоантител к белкам, отражающим повреждение нервной ткани – ГФКП и ОБМ, что позволяет их использовать как предикторы абстиненции при опийной наркомании.

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СЕРЕБРА НА АКТИВНОСТЬ КЛЕТЧНОЙ И СЕКРЕТОРНОЙ ФЕНОЛОКСИДАЗЫ У *PLANORBARIUS CORNEUS***П.С. Бабич<sup>1</sup>, П.С. Кудрявцева<sup>1</sup>, Ю.А. Орлов<sup>2</sup>, А.Е. Романов<sup>2</sup>, Г.Л. Атаев<sup>1</sup><sup>1</sup>Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена; <sup>2</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

У беспозвоночных существует сложная многоуровневая система врожденного иммунитета, в которой большое значение имеет гуморальный ответ организма на инфектант. При этом ведущую роль играют активные метаболиты кислорода (АМК), основное количество которых образуется при активации фенолоксидаз. Среди данных ферментов одним из ведущих атакующих агентов, в том числе при паразитарной инвазии, считается тирозиназа – медь-содержащий фермент. Таким образом, тирозиназа является одним из факторов, влияющих на систему «паразит-хозяин», затрагивающей моллюсков. В настоящее время активно ведутся исследования по изучению тирозиназы у беспозвоночных. Есть работы, показывающие наличие активной тирозиназы в гемолимфе моллюсков. В нашей лаборатории показано наличие активной тирозиназы в различных тканях и органах пресноводных легочных моллюсков *Planorbarius corneus*. В последнее время для изучения медь-содержащих ферментов широко используется серебро, так как атом серебра изoeлектронен атому меди в состоянии окисления (I). Вследствие этого серебро способно замещать медь в биологических соединениях. В нашей группе была показана способность серебра поступать и накапливаться в тканях моллюсков. Цель данной работы: проанализировать влияние ионов серебра на активность тканевой и растворимой фенолоксидазы (тирозиназы) у *Planorbarius corneus*. Моллюсков первой опытной группы содержали в течение 72 часов в воде, содержащей 250 мкг/л  $AgNO_3$  в пересчете на серебро, второй опытной группы – в воде с добавлением 100 мкМ серебряных наночастиц, моллюсков контрольной группы содержали в фильтрованной водопроводной воде. Затем методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии проводили измерение концентрации меди и серебра в гемолимфе, гонаде, гепатопанкреасе, голове, ноге и мантии. Показано, что серебро во всех формах способно поступать в организм моллюсков. Также была выполнена оценка уровня активности фенолоксидазы в клеточных фракциях, полученных из различных тканей моллюсков *P. corneus* и в растворимой фракции гемолимфы. Наличие активной тирозиназы определяли колориметрически по степени окисления специфического субстрата тирозиназ – L-ДОФА. Показано, что тирозиназа гемолимфы теряет активность под воздействием ионов серебра, тогда как уровень активности тканевой тирозиназы не меняется.

**СОДЕРЖАНИЕ И ИММУНОТРОПНОСТЬ БИОЭЛЕМЕНТОВ У ЖЕНЩИН-РОДИЛЬНИЦ**

Е.В. Евстафьева, О.Б. Московчук, К.М. Московчук

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

Целью данного исследования явилась оценка содержания химических элементов в волосах и сравнительный анализ иммунотропности химических элементов в организме женщин-родильниц, с внутриутробной гибелью плода, проживающих на территории Крымского полуострова. Содержание 11 химических элементов в волосах родильниц определяли методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии. Для оценки иммунологического статуса обследовали 21 родильницу, у которых определяли абсолютное содержание форменных элементов белой крови и показатели иммунопродуцирующего ряда лимфоцитов, которые выявляли методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител. Иммунотропность элементов оценивали по способу оценки влияния элементного дисбаланса на функциональные расстройства нервной системы на основании данных непараметрического корреляционного анализа по Спирмену. По результатам исследования в группе обследуемых женщин-родильниц среднее содержание элементов в волосах находилось в пределах условной нормы, за исключением цинка, для которого выявлено незначительное превышение условной нормы и железа, для которого наблюдался дефицит. Для интегральной оценки элементного дисбаланса в группе родильниц рассчитали коэффициент элементного дисбаланса (Кдис), который составил -0,2, что свидетельствует о некотором гипозлементозе. По иммунотропности элементы распределились следующим образом:  $Ni > Cd > Zn$ . Таким образом, выполненное биомониторинговое и иммунологическое ис-

следование свидетельствует о значимости ряда химических элементов, как эссенциальных, так и токсичных, для функционального состояния иммунной системы, которое может быть связано с изменением элементного баланса и ролью отдельных элементов в развитии патологических состояний.

### **ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В РЕГУЛЯЦИИ И КОМПЕНСАЦИИ НАРУШЕННЫХ ФУНКЦИЙ ВНД У МЛЕКОПИТАЮЩИХ С РАЗНОЙ ОРГАНИЗАЦИЕЙ ЦНС**

**Т.Н. Соллертинская, М.В. Шорохов**

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

Создание новых фармакологических средств для успешной нейропротекторной терапии различных нарушений ВНД, особенно когнитивных и психоэмоциональных расстройств, является актуальной проблемой современной фармакологии и медицины. В настоящее время в клинике в качестве нейропротекторов (НП) широко применяют вещества пептидной природы и их синтетические аналоги: Кортексин (Кор), Семакс (Сем), Селанк (Сел). Экспериментальные исследования по специфичности их действия, механизмам влияния, коррекции на различных моделях патологических (тревожных, депрессивных) состояний изучены недостаточно; в эволюционном плане отсутствуют. В последние годы синтезирован новый олигопептид АКТГ6-9. Экспериментально он не исследован. Цель работы изучить сравнительную роль Кор, Сем, Сел и АКТГ6-9 в компенсации нарушенных функций мозга при различных стрессах в восходящем ряду млекопитающих. Опыты выполнены на грызунах и приматах с мультипараметрической компьютерной регистрацией и анализом ЭЭГ, вегетативных и двигательных показателей ВНД. У грызунов влияние НП более выражено и длительно на врожденные формы поведения. Антиамнестическое действие различных НП на нарушенные процессы ВНД краковременно и проявляется как тенденция к дифференциации их эффектов. У грызунов АКТГ6-9 обладает церебропротективным, анксиолитическим и антидепрессивным спектром действия. У приматов Кор, Сем и Сел осуществляют выраженный дифференцированный характер влияния на нарушенные процессы памяти и психоэмоциональные нарушения. Эффекты Кор наиболее значительны при тормозном типе невроза, Сем – при возбудительном, Сел – при всех типах. Показано, что Сел обладает антиэпилептическим и противотревожным спектром действия. Его влияние на нарушенные ЭЭГ показатели особенно значительно. Анализ амплитудно-частотного спектра ЭЭГ показал, что полная компенсация когнитивного дефицита, психоэмоциональных нарушений имеет место лишь на 3-е сутки после его введения. Эффекты Сел особенно значительны по ЭЭГ показателям левого полушария. Влияние Сем более выражено на нарушенные вегетативные показатели ВНД. Обнаружено, что АКТГ6-9 у приматов обладает выраженным антидепрессивным спектром действия, который более обширен по сравнению с грызунами. *Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 15-08-06353.*

### **СИСТЕМА ПЕПТИДОВ ОРЕКСИНА КАК МИШЕНЬ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЗАВИСИМОСТИ**

**П.Д. Шабанов** *Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия*

Методами физиологического анализа установлено, что структурно-функциональной основой подкрепления в тесте самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс является система структур расширенной миндалины (СРМ), включающая центральное ядро миндалины, ядро ложа конечной полоски, медиальный отдел прилежащего ядра. Орексиновые пептиды СРМ прямо не участвуют в обеспечении эмоционального реагирования при исследовании феноменов самостимуляции, но опосредуют дофаминергические и глутаматные механизмы подкрепления. Введение антагонистов рецепторов орексина OX1R в СРМ может направленно влиять на механизмы центрального действия психостимуляторов и гипноседативных средств с наркогенным потенциалом. Это дает основание рассматривать антагонисты орексина как возможные перспективные средства профилактики и лечения аддиктивных расстройств. Наибольшей антагонистической активностью в отношении психоактивирующего действия фенамина, фенциклидина и тримепиридина обладает антагонист рецепторов орексина OX1R SB-408124 при локальном введении в ядро ложа конечной полоски и центральное ядро миндалины. После введения в боковой желудочек и медиальный отдел прилежащего ядра антагонистическая эффективность SB-408124 на подкрепляющие свойства аддиктивных средств снижается. На фоне блокады рецепторов орексина OX1R антагонистом SB-408124, введенным в желудочки мозга или СРМ, психоактивирующие свойства психостимуляторов (фенамин, фенциклидин) и гипноседативных средств (тримеперидин) на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса снижаются или инвертируются в депрессантный тип реагирования. Антагонистические эффекты SB-408124 на подкрепляющие свойства самостимуляции латерального гипоталамуса проявляются следующей закономерностью (вещества расположены в порядке убывания активности): фенциклидин > фенамин > тримеперидин. Орексин при локальном и внутрижелудочковом введении достоверно не меняет основных показателей спонтанной реакции самостимуляции латерального гипоталамуса, так же, как и его комбинация с антагонистом OX1R рецепторов орексина SB-408124, что указывает исключительно на модулирующий тип действия обоих агентов на самостимуляцию мозга.

### **ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОПИАТОВ: ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ АНАЛОГАМИ ХЦК, ТАФЦИНА, НЕЙРОТЕНЗИНА И BDNF В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**М.А. Константинопольский, Т.А. Гудашева, Л.Г. Колик** *НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия*

Современные нейролептики, антидепрессанты и анксиолитики, используемые для купирования проявлений зависимости от опиатов, имеют выраженные побочные эффекты [Kelly T.M. et al., 2012]. Разработка новых безопасных средств коррекции зависимости на базе изучения физиологических и фармакологических эффектов нейропептидов является актуальным направлением экспериментальной наркологии. Настоящее исследование посвящено изучению эффектов дипептидного ретро-аналога ХЦК-4 анксиолитика ГВ-115 [Ph(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CO-Gly-L-Trp-NH<sub>2</sub>], дипептида аналога нейротензина NT(8-13) Дилепта, анксиолитика Селанк [Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro], миметика 4-й петли BDNF дипептида ГСБ-106 [гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-серил- L-лизина)] на восприятие болевых и тактильных стимулов, толерантность к морфину, поведенческие признаки синдрома отмены (СО), формирование зависимости от морфина в тесте «conditioned place preference» (CPP). Методы исследования. Пептиды ГВ-115, Дилепт и ГСБ-106 синтезированы в ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Селанк – в Институте молекулярной генетики РАН. Зависимость от морфина вырабатывали у лабораторных крыс-самцов в течение



5 дней (в/бр. введение), СО оценивали в «открытом поле»; для провокации СО вводили антагонист  $\mu$ -опиатных рецепторов налоксон (1 мг/кг) или регистрировали «спонтанный» СО через 24 ч после морфина; пептиды вводили однократно или ежедневно за 30 мин до морфина. Отмечали неврологические и вегетативные признаки СО, рассчитывали среднее значение «суммарного индекса» СО [Константинопольский М.А. и соавт., 1992, 2011]. Анальгетический эффект оценивали в тестах «tail flick» и «hot plate», тактильное восприятие – в тесте «von Frey»; выработку зависимости от морфина – в тесте СРР; статистический анализ: Mann-Whitney-U-test и «one way ANOVA». Результаты исследования. ГБ-115, Селанк, Дилепт и ГСБ-106 снижали выраженность СО морфина на 30-55%; ГБ-115, ГСБ-106 и Дилепт повышали уровни болевых порогов, при этом эффект ГСБ-106 был выраженным (подъем на 50,3%), длительным (до 48 ч) и устранялся антагонистом опиатных рецепторов налтрексоном. ГБ-115 препятствовал развитию толерантности к морфину. Изученные аналоги нейропептидов рассматриваются как перспективная группа соединений – корректоров зависимости от опиатов.

### **ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС МУЖЧИН, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕГИОНАХ С РАЗЛИЧНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ**

**Н.Г. Беляев, Ю. Ягупова, А.В. Стрельник** *Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия*

В результате производственной деятельности человека появились очаги выраженного загрязнения окружающей среды. За сутки через легкие взрослого мужчины проходит более 8640 л воздуха, поэтому вдыхаемый воздух может явиться одним из основных источников поступления в организм различных твердых и газообразных химических элементов, оказывающих негативное действие на здоровье человека. В этом плане важным представляется исследование функционального состояния репродуктивной системы человека, как интегрального показателя здоровья. Целью данного исследования явилось определение гормонального статуса мужчин 19-30 лет, проживающих в различных регионах Ставрополья. Первую группу составили мужчины, проживающие в городе Ставрополе не менее 3-х лет или в сельских регионах Ставропольского края, что позволило нам причислить их к лицам, проживающим в относительно благоприятных экологических условиях. Вторую группу мужчины, проживающие в г. Невинномысске и работающие на Невинномыском химическом комбинате «Азот». В сыворотке крови обследуемых определяли содержание тестостерона (Т) и эстрадиола (Э) методом иммуноферментного анализа.

Проведение сравнительного анализа гормонального статуса лиц, проживающих в различных регионах Ставрополья позволило установить, что у обследуемых первой группы концентрация Т и Э находятся в пределах физиологической нормы ( $29,43 \pm 1,68$  нмоль/л и  $0,15 \pm 0,02$  нмоль/л, соответственно). У рабочих химкомбината уровень Т был достоверно ниже (мужчины 19–22 года –  $12,9 \pm 1,4$  нмоль/л, мужчины 23 и старше –  $6,9 \pm 1,02$  нмоль/л) по сравнению с мужчинами, проживающими в экологически благоприятных регионах. Но при этом в их крови регистрировались высокие концентрации Э (19–22 года –  $0,92 \pm 0,03$ , нмоль/л, 23 и старше –  $1,32 \pm 0,04$  нмоль/л). Из представленных данных следует, что по мере увеличения стажа работы на предприятии происходит уменьшение концентрации Т и увеличение содержания Э в крови мужчин.

### **НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ ПАМЯТИ**

**Л.И. Губарева<sup>1</sup>, В.А. Батурич<sup>2</sup>, Е.В. Агаркова<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия; <sup>2</sup>Ставропольский медицинский университет, Ставрополь, Россия*

Одно из главных свойств живых организмов – это способность к адаптации. С учетом этого весьма важным является изучение отдаленных последствий стрессорных воздействий в пренатальный период онтогенеза. Цель работы: изучение влияния хронического стресса, испытываемого матерью во время беременности, на становление эмоциональных компонентов поведения и механизмы его формирования у потомства крыс 1 и 2 поколения. Исследования проведены на 258 белых беспородных крысах, которые содержались в виварии в условиях 14-часового светового дня. Хронический стресс у крыс-матерей вызывали в/м введением синтетического АКТГ1-24 (синактен-депо, Швейцария) в дозе 5 ед/кг в течение всей беременности. Потомство 1 и 2 поколения исследовали в 1-2-ой, 30-й, 60-й, 90-й и 180-й дни постнатального онтогенеза. Эмоциональный статус потомства оценивали с помощью тестовых методик «Открытое поле» и «Многопараметрический метод определения тревожно-фобического статуса крыс». Уровень эстрадиола (Э) и тестостерона (Т) в сыворотке крови определяли иммунологическим методом, концентрацию 11-ОКС в плазме крови – флуориметрическим методом; содержание кортикотропина в гипофизе – методом биологического тестирования, индекс андрогенизации – Т/Э – расчетным методом. Введение АКТГ1-24 в течение 20 дней беременности приводило к гипертрофии коры надпочечных желез и повышению продукции 11-ОКС в крови матерей на 38,5%. Гиперкортицизм матери изменял реакцию потомков 1 поколения на тестовые стимулы: по сравнению с потомками контрольной группы было выявлено преобладание фобических компонентов поведения. У потомков 2 поколения регистрировали более высокие показатели тревожно-фобического состояния в ответ на адекватные и неадекватные стимулы из внешней среды. Сопоставление результатов поведения в «открытом поле» у потомков контрольной и подопытных групп показало, что гиперкортицизм матери приводит к выраженному нарастанию у потомства 1 и 2 поколения с возрастом реакций страха и угнетения эмоциональности. В основе выявленных изменений эмоционального статуса лежит изменение гормонального статуса у потомства 1 и 2 поколения, рожденного матерями, испытывавшими хронический стресс, а именно: снижение содержания кортикотропина в гипофизе, концентрации 11-ОКС в крови, изменение возрастной динамики Т и Э и индекса андрогенизации (Т/Э).

### **МЫШЕЧНАЯ РИГИДНОСТЬ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО НАПРЯЖЕНИЯ И ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

**Л.И. Губарева, А.А. Бочкарева, Л.С. Ермолова** *Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия*

Заболевания мышечной системы сравнимы с пандемией, так как занимают второе место по числу обращений после острых респираторных заболеваний и третье место по госпитализации в общеклинической практике. Эпизоды неспецифической мышечной боли в течение жизни беспокоят 60–85% населения, а в основе их патогенеза и развития болевого синдрома лежит мышечный спазм. При длительном существовании мышечного спазма возникает цепь биохимических и патофизиологических реакций (ишемия, гипоксия, дистрофические изменения) с образованием триггерных точек, которые и служат источником болевой афферентации. Цель работы: проанализировать влияние стрессовых ситуаций в различные периоды онтогенеза на

формирование мышечного спазма в области позвоночного столба и его связи с психоэмоциональным напряжением. Обследовано 20 женщин зрелого возраста (от 22 до 44 лет), страдающих остеохондрозом позвоночника. Контрольную группу составили женщины, не имеющие проблем с позвоночником. Все обследуемые не имели генетической патологии. Для выявления механизмов формирования остеохондроза шейного отдела позвоночника нами была использована методика записи поверхностной ЭМГ на приборе «Нейромиан». Для исследования были выбраны две латерально симметричные мышцы шеи и головы – грудино-ключично-сосцевидная мышца и полуостистая мышца головы. Для оценки стрессоустойчивости использовали тест на стрессоустойчивость, методику оценки психической выносливости «Тест на стресс» и тест жизнестойкости Магди. С целью выявления источников хронического стресса проводили анкетирование. Результаты исследования подвергались статистической обработке. Нами установлено, что причинами хронического стрессорного психоэмоционального напряжения у женщин, страдающих остеохондрозом позвоночника, были: родительская депривация в детском, подростковом и юношеском возрасте; «погоня» за повышением заработной платы и улучшением бытовых условий в зрелом возрасте, гражданский брак и отсутствие полового партнера. Физиологической основой остеохондроза позвоночника является асимметричное нарушение мышечного тонуса полуостистой и грудино-ключично-сосцевидной мышц головы, грубое нарушение реципрокности, обусловленное в определенной мере повышением уровня коварной агрессии, чувства обиды и вины, снижением жизнестойкости, уровня контроля жизненных ситуаций и притягия риска.

### **ДИСФУНКЦИИ ИНТЕГРАТИВНОЙ СЕТИ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ**

**А.О. Шпаков**

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

Интегративная сеть гипоталамуса, включающая широкий спектр пептидергических и моноаминергических сигнальных систем, осуществляет центральную регуляцию пищевого поведения, контролирует липидный и углеводный обмен, периферическую инсулиновую чувствительность, функции сердечно-сосудистой, эндокринной и других систем организма. Нарушения функций этой сети являются одной из ключевых причин развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) и его осложнений. Эти нарушения могут возникать как первично, являясь триггером метаболических расстройств, которые через стадию предиабета переходят в явные формы СД2, так и вторично, когда они развиваются в условиях длительно текущего СД2 и приводят к его осложнениям. Наибольшее значение для развития метаболических расстройств, характерных для СД2, имеют функциональные изменения в инсулиновой, меланокортиновой, лептиновой, дофаминовой и серотониновой сигнальных системах гипоталамуса. Поскольку все эти системы тесно взаимосвязаны, то изменения в одной из них индуцируют компенсаторные изменения в других системах, вследствие чего вся интегративная сигнальная сеть гипоталамуса претерпевает значительные изменения, которые усиливаются во времени и, в конечном итоге, приобретают необратимый характер. Восстановление активности одной или нескольких гипоталамических сигнальных систем способно восстановить всю интегративную сигнальную сеть гипоталамуса, нормализуя, таким образом, центральную регуляцию энергетического гомеостаза и инсулиновой чувствительности. Этот принцип является базисом для разработки новых подходов для лечения и предупреждения метаболических расстройств, ассоциированных с СД2. В пользу эффективности таких подходов свидетельствуют полученные нами данные о значительном улучшении метаболических и функциональных показателей у животных с экспериментальным СД2 с помощью фармакологического восстановления инсулиновой, серотониновой и дофаминовой систем гипоталамуса. *Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-15-00413).*

### **СЕКРЕТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ НОРАДРЕНАЛИН, В ОНТОГЕНЕЗЕ У КРЫС**

**А.Р. Муртазина, Ю.О. Никишина, Н.С. Бондаренко, А.Я. Сапронова, М.В. Угрюмов**

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

Исследование направлено на изучение секреторной активности органов, синтезирующих и выделяющих в общую систему циркуляции норадреналин (НА) в пренатальном и раннем постнатальном периодах развития у крыс, т.е. в периоды морфогенеза жизненно важных органов. Цель работы – оценка секреторной активности мозга и периферических источников НА (хромаффинной ткани надпочечников и параганглиев – органа Цукеркандля) в онтогенезе у крыс. В качестве показателей секреторной активности органов мы рассматривали содержание НА в указанных органах и плазме крови, содержание ферментов синтеза НА (тирозингидроксилазы (ТГ) и дофамин-бета-гидроксилазы (ДБГ)), а также содержание мРНК и белков этих ферментов в органах. Объектом исследования были интактные крысы популяции Вистар на 18-й день пренатального периода развития (Э18), Э21, 3-й день постнатальной жизни (П3), П7, П15, П30. Содержание НА в исследованных органах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией, содержание белков ТГ и ДБГ – методом Вестерн блоттинга, уровень мРНК ТГ и ДБГ определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Показано, что на всех исследованных сроках онтогенеза НА содержится в крови в физиологически активной концентрации, т.е. способен оказывать влияние на функционирование клеток- и органов-мишеней. В надпочечниках содержание НА увеличивается в ходе всего исследованного периода. Уровень мРНК ТГ и ДБГ растет к П7 и далее снижается. Количество же белков этих ферментов увеличивается в течение первой недели жизни и далее не меняется. В органе Цукеркандля так же, как и в надпочечниках, происходит рост содержания мРНК и белков ТГ и ДБГ в первую неделю жизни, и затем наблюдается их снижение, что коррелирует с содержанием НА в органе. В мозге, как и в надпочечниках, содержание НА увеличивается в ходе всего исследованного периода, тогда как экспрессия генов ТГ и ДБГ снижается сразу после рождения. Содержание белка ТГ растет до П30, тогда как содержание ДБГ снижается после П7. Таким образом, в перинатальном периоде развития у крыс происходит изменение секреторной активности органов – источников НА и их потенциального вклада в поддержание физиологически активной концентрации НА в общей системе циркуляции. *Работа поддержана грантом РФФИ 14-15-011.*

**ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫХ ИНСУЛИНА И СЕРОТОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ У КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА**

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

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

Интраназально вводимый инсулин (ИИ) широко применяется для лечения болезни Альцгеймера, но почти не используется для лечения сахарного диабета 2-го типа (СД2), что во многом связано с недостаточной изученностью его действия на гормональный и метаболический статус, в том числе на активность гипоталамических систем, играющих ключевую роль в центральной регуляции энергетического обмена. В последние годы появились данные о том, что повышение уровня серотонина в ЦНС, сниженного при диабетической патологии, также восстанавливает энергетический обмен при СД2. Цель работы состояла в изучении влияния лечения самцов крыс с неонатальным СД2 с помощью ИИ (0.48 IU/крысу/день) и интраназально вводимого серотонина (ИС) (20 мкг/крысу/день) на метаболические показатели и активность аденилатциклазной сигнальной системы (АЦСС) в гипоталамусе. Продолжительность лечения составила 5 недель. Лечение ИИ снижало уровень глюкозы в крови, восстанавливало толерантность к глюкозе и ее утилизацию под влиянием инсулина, что указывает на повышение чувствительности тканей к инсулину. Эффект лечения ИС на метаболические показатели был выражен слабее. Лечение диабетических крыс ИИ и, в меньшей степени, ИС нормализовало функции меланокортиновой системы, вызывая восстановление экспрессии гена *Mс4r* и стимулирующих аденилатциклазу (АЦ) эффектов агонистов МК4-меланокортиновых рецепторов. При этом повышалась экспрессия гена *Htr1b*, кодирующего серотониновый рецептор 1В-подтипа (5-НТ1В), и восстанавливались ингибирующие АЦ эффекты агонистов 5-НТ1В. Лечение ИИ и ИС меняло соотношение экспрессии генов для дофаминовых рецепторов 1-го (*Drd1*) и 2-го типов (*Drd2*) в пользу *Drd2* и восстанавливало ингибирующий АЦ эффект агонистов дофаминовых рецепторов 2-го типа. Таким образом, лечение ИИ и ИС крыс с СД2 восстанавливало регулируемые меланокортинами и моноаминами АЦСС в гипоталамусе, что является одним из механизмов положительного влияния ИИ и ИС на энергетический обмен и инсулиновую резистентность. *Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-15-00413).*

**РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛИКОПРОТЕИНА-P ТЕСТОСТЕРОНОМ**

**А.В. Шулькин, И.В. Черных, Е.Н. Якушева, М.В. Гацанова, Н.М. Попова**

*Рязанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Рязань, Россия*

Гликопротеин-P (*Pgp*) – АТФ-зависимый белок-транспортер, локализованный в апикальной мембране энтероцитов, эпителия проксимальных почечных канальцев, эндотелия гистогематических барьеров, билиарной мембране гепатоцитов. Считается, что *Pgp* играет важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов, а также ряда эндогенных веществ – стероидных и тиреоидных гормонов, пептидов. Цель исследования – изучить регуляцию функционирования *Pgp* посредством тестостерона. Работа выполнена на кроликах-самцах породы шиншилла массой 3500-4200 г. В ходе исследования изучалась функциональная активность и экспрессия *Pgp* при орхэктомии, а также при внутримышечном введении тестостерона ундеканоата в дозах 12 мг/кг и 24 мг/кг массы. Функциональную активность *Pgp* на уровне целостного организма определяли по фармакокинетике его маркерного субстрата – фексофенадина. Фексофенадин не подвергается биотрансформации и его фармакокинетика зависит исключительно от активности *Pgp*. Экспрессию *Pgp* в печени, почках, тонком кишечнике определяли иммуногистохимически. Показано, что орхэктомия приводила к повышению активности *Pgp*, что проявлялось изменением фармакокинетики его маркерного субстрата-фексофенадина, а именно: на 7 день операции снижением его максимальной концентрации (*С<sub>max</sub>*), на 14 сутки уменьшением *С<sub>max</sub>*, площади под фармакокинетической кривой концентрация-время (*AUC<sub>0-t</sub>*), увеличением общего клиренса (*С<sub>l</sub>*), а на 21 день – снижением *С<sub>max</sub>*, *AUC<sub>0-t</sub>*, увеличением *С<sub>l</sub>*. При этом орхэктомия также сопровождалась повышением экспрессии *Pgp* на 21 день эксперимента в печени и почках. Введение тестостерона в дозе 6 мг/кг нормализовало данный показатель. Установлено, что введение тестостерона вызывало снижение функциональной активности *Pgp*, что проявлялось повышением *С<sub>max</sub>* фексофенадина на 7 и 14 сутки, *AUC<sub>0-t</sub>* – на 14 сутки, снижением *С<sub>l</sub>* на 14 сутки (доза 12 мг/кг) и повышением *С<sub>max</sub>* – на 7 сутки, *AUC<sub>0-t</sub>* – на 7, 14 и 21 сутки, снижением *С<sub>l</sub>* на 7 и 14 сутки (доза 24 мг/кг). При этом введение тестостерона в дозе 12 мг/кг сопровождалось снижением экспрессии *Pgp* в печени на 14 и 21 сутки, в тонком кишечнике на 7, 14 и 21 сутки, а в дозе 24 мг/кг снижением экспрессии в печени и тонком кишечнике на 7, 14, 21 сутки. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00320 а.*

**ЛЕЧЕНИЕ КРЫС С НЕОНАТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ БРОМОКРИПТИНОМ И МЕТФОРМИНОМ ВОССТАНАВЛИВАЕТ ГОРМОНАЛЬНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ В ГИПОТАЛАМУСЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТКАНЕЙ К ИНСУЛИНУ**

**К.В. Деркач, И.Б. Сухов, Д.М. Бузанаков, Л.А. Кузнецова, А.А. Куликова, А.О. Шпаков**

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

Метформин (МФ) широко применяют для лечения сахарного диабета 2-го типа (СД2), но его влияние на гипоталамические сигнальные системы, в том числе на аденилатциклазную сигнальную систему (АЦСС), изучено недостаточно. В последние годы для улучшения метаболического статуса у пациентов с СД2 используют бромокриптин (БК), агонист D2-дофаминовых рецепторов (ДА2Р), но данные о влиянии лечения БК на АЦСС гипоталамуса и инсулиновую сигнальную систему в периферических тканях отсутствуют. Эти данные необходимы для понимания механизмов действия БК и оценки его терапевтического потенциала. Цель работы состояла в изучении влияния лечения БК и МФ крыс с неонатальным СД2, вызванным обработкой пятисуточных крысят стрептозотоцином (75 мг/кг), на чувствительность аденилатциклазы (АЦ) гипоталамуса к агонистам ДА2Р, 1В-серотонинового рецептора (С1ВР) и МК4-меланокортинового рецептора (МК4Р), на экспрессию кодирующих эти рецепторы генов, а также на функциональную активность инсулиновой системы в печени. Изучали 3 группы диабетических крыс – без лечения (*n*=10), с лечением БК (0.3 мг/кг/день, *n*=5) и МФ (200 мг/кг/день, *n*=5). Длительность лечения составила 60 суток. У крыс с СД2 отмечали нарушенную толерантность к глюкозе и снижение в печени экспрессии и фосфорилирования основных компонентов инсулиновой сигнальной системы – инсулинрецепторного субстрата-1 (*IRS1*) и АКТ-киназ (*АКТ1* и *АКТ2*), причем эти показатели улучшались при лечении МФ и БК. В гипоталамусе диабетических крыс снижалась экспрессия ДА2Р и МК4Р, а также стимулирующий АЦ эффект МК4Р-агониста ТНIQ и ингибирующие эффекты БК и С1ВР-

агониста 5-нонилокситриптамина. Лечение БК и МФ частично или полностью восстанавливало эффекты гормонов. Поскольку ДА2Р- и МК4Р-зависимые сигнальные каскады в гипоталамусе вовлечены в регуляцию энергетического обмена и инсулиновой чувствительности, то их восстановление является одним из механизмов терапевтического действия БК и МФ. *Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-15-00413).*

#### **АНТАГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ ОРЕКСИНА И ГРЕЛИНА ПОДАВЛЯЮТ ПОДКРЕПЛЯЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ПСИХОТРОПНЫХ СРЕДСТВ**

**А.А. Лебедев, В.И. Морозов, Р.О. Роик, П.Д. Шабанов** *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

В опытах на крысах самцах Вистар исследовали подкрепляющие эффекты антагонистов OX1R рецепторов орексина SB-408124, грелина [D-Lys3]-GHRP-6, NMDA рецепторов МК-801 и фенциклидина, D2 рецепторов дофамина сульпирида, а также агониста опиоидных рецепторов тримепиридина в тесте самостимуляции латерального гипоталамуса. SB-408124 и [D-Lys3]-GHRP-6 вводили в желудочки мозга (в/ж) в дозе 5 мкг, остальные препараты внутривенно (в/вр). При системном введении непрямой адреномиметик фенамин (1 мг/кг, в/вр) на 49%, антагонист NMDA рецепторов фенциклидин (3 мг/кг) на 71%, агонист опиоидных рецепторов тримепиридин на 52%, а антагонист D2 рецепторов дофамина сульпирид (5 мг/кг) на 13% повышали частоту нажатий педали в камере Скиннера (FR режим). В дозе 20 мг/кг сульпирид на 58% снижал частоту реакции самостимуляции и на 38% повышал пороги реакции самостимуляции. Антагонисты орексина и грелина при внутримозговом введении умеренно снижали самораздражение мозга. Низкая доза сульпирида (5, но не 20 мг/кг) не вызывала снижения фоновых значений реакции самостимуляции и не блокировала психоактивирующие свойства непрямого адреномиметика фенамина. Сами пептиды орексин А и грелин при внутримозговом и интраназальном введении не меняли основных показателей реакции самостимуляции. На фоне блокады OX1R рецепторов орексина антагонистом SB-408124 (5 мкг, в/ж) фенамин, фенциклидин и тримепиридин снижали свое активирующее действие на реакцию самостимуляции. Антагонист грелина [D-Lys3]-GHRP-6 в этих условиях также снижал подкрепляющие свойства психостимуляторов (фенамина). Сульпирид в низкой дозе (5 мг/кг, в/вр) на фоне блокады рецепторов OX1R орексина антагонистом SB-408124 (5 мкг, в/ж) блокировал активирующее действие фенамина, фенциклидина и тримепиридина. Следовательно, определяется выраженный функциональный синергизм в действии антагонистов D2 рецепторов дофамина и антагонистов орексина OX1R, который может быть связан с образованием димерных структур рецепторов, функционирующих отлично от обычных мономерных структур.

#### **ВАРИАбельность СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС С ВОЗОБНОВЛЯЮЩЕЙСЯ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИЕЙ**

**М.М. Фатеев, П.К. Телушкин, А.С. Гуцин** *Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

Исследовали вариабельность сердечного ритма (BCP) у крыс в процессе развития гипогликемической комы (ГГК) и после купирования ее глюкозой. ЭКГ регистрировали до и через 15, 60, 90 и 120 минут (кома) после введения инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 минут после введения глюкозы (3 мл 40% раствора внутривенно) крысам, находившимся в состоянии ГГК. Затем эти животные перенесли серию из 8 ГГК с интервалом в 2 дня. В ходе развития последней комы и после ее купирования регистрацию ЭКГ повторяли по той же схеме. ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении в течение 4-х минут у иммобилизованных крыс. Изучали показатели временного, геометрического и спектрального анализов BCP. Исходная частота сердечных сокращений (ЧСС) составляла  $481 \pm 5$  уд/мин, после введения инсулина она начинала уменьшаться и в состоянии ГГК снижалась до  $331 \pm 9$  уд/мин ( $p < 0.001$ ). После введения глюкозы ЧСС начинала восстанавливаться и через 1 час составляла  $423 \pm 10$  уд/мин, оставаясь еще значительно меньше исходного уровня ( $p < 0.001$ ). Анализ и других показателей BCP показал, что у животных в состоянии ГГК происходит резкое увеличение тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы и относительно небольшое – симпатoadrenalовой системы. Через час после введения глюкозы не происходит полного восстановления показателей BCP. При этом наблюдается резкое уменьшение мощностей спектрального диапазона, что свидетельствует об уменьшении адаптационных возможностей организма. У этих же крыс, перенесших серию ГГК, анализ BCP показал практически ту же динамику изменений в показателях, как и при первой регистрации, однако несколько менее выраженную. Основные отличия между животными в состоянии первой и последней регистрации наблюдаются через час после купирования ГГК глюкозой по всем видам анализа BCP. Они свидетельствуют о том, что, хотя у крыс, перенесших серию ГГК, восстановление показателей временного и геометрического анализ происходит медленнее, но уже полностью восстанавливаются показатели спектрального анализа, а, следовательно, и адаптационные возможности организма находятся у этих животных на более высоком уровне. Очевидно, это связано с адаптацией организма к возобновляющейся инсулиновой гипогликемии.

#### **ОСОБЕННОСТИ ПЕЙСМЕКЕРНОЙ И СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ПАРАТИРЕОИДНОГО И ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ**

**К.Р. Арутюнян, К.В. Мелкумян, С.Г. Адамян, А.С. Тер-Маркосян, Д.Н. Худавердян**  
*Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, Ереван, Армения*

В ранее проведенных клинических исследованиях была выявлена корреляция между уровнем 1-34 паратиреоидного гормона (ПТГ), электролитов в крови и степенью тяжести заболевания у больных, страдающих ишемией сердца. Было отмечено, что у женщин нарушения указанных веществ в крови наблюдаются в меньшей степени, чем у мужчин. В связи с этим, проведение сравнительного анализа сочетанного влияния 1-34-ПТГ и женских/мужских половых гормонов на пейсмерную и сократительную активность сердца позволяет в определенной мере установить причины выявленных различий. Методом фотоэлектрической регистрации сокращений изолированного сердца лягушки в неинвазивных условиях были исследованы, как собственные эффекты физиологических доз гормонов (ПТГ, эстрадиол, тестостерон), так и эффекты их сочетанного применения (ПТГ с эстрадиолом и ПТГ с тестостероном). Выявлялась динамика изменений частотной и амплитудной характеристик деятельности сердца. Результаты экспериментов показали, что βэстрадиол не только значительно усиливает пейсмерную и сократительную функции сердца (частоту сокращений на 158%, амплитуду – 220%, по сравнению с контролем), но и удлиняет жизнеспособность сердца, поддерживая его активность в течение 45-50 минут. Схожим, но менее выраженным, инотропным и хронотропным эффектом обладает и мужской половой гормон. Максимальный показатель частоты, регистрируемый на

10 минуте после введения тестостерона составил 115%, а амплитуды сокращений – 170% по сравнению с контролем. Однако под действием тестостерона жизнеспособность сердца резко сокращалась, что выражалось внезапной его остановкой на 15–20 минуте эксперимента. При комплексном введении с эстрадиолом, 1–34 ПТГ несколько нивелировал чрезмерную активацию сердца, тем самым модулируя его потенцирующее влияние. Возникал так называемый «эффект усмирения разбушевавшегося сердца». В то же время, при сочетании с тестостероном ПТГ, наоборот, еще более активировал, а также увеличивал длительность работы изолированного сердца. Полученные результаты с одной стороны подтверждают ранее установленное модулирующее влияние ПТГ на деятельность сердца, а с другой, свидетельствуют о зависимости эффектов ПТГ от исходного уровня женских и мужских половых гормонов в крови. Работа выполнена при финансовой поддержке ГРН МОН РА.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНО-АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ**

*Л.Ф. Вуду Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Кишинэу, Молдова*

Оценка адаптационных возможностей организма важна особенно для людей, находящихся в пограничном состоянии между здоровьем и болезнью, в связи с необходимостью дифференцированного подхода, с учетом уровнем адаптации, при профилактике и терапии их заболеваний. Для исследования вегетативной нервной системы, степени адаптации сердечно-сосудистой системы мы использовали метод математического анализа сердечного ритма – исследование variability сердечного ритма при помощи диагностического комплекса Полиспектр-Ритм (Нейрософт). Оценку уровня функционирования системы кровообращения осуществляли по степени напряжения процессов вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы. Анализ регуляторных процессов сердечного ритма дает информацию не только об активности сердечно-сосудистой системы, но и об интегральной деятельности организма. Соответственно этому принципу выделили 3 функционально-адаптивных уровня у больных первичным гипотиреозом: нормальный, напряженный, сниженный. Нормальный вариант функционально-адаптивного потенциала (ФАП) соответствует показателям здоровых людей и отражает динамическое равновесие центрального и автономного уровней регуляции синусового узла. Напряженный вариант ФАП указывает на выраженную активность стрессогенных механизмов, характеризуется несоответствием адаптивного ответа на провоцирующий фактор. При сниженном варианте ФАП наблюдается истощение адаптивных процессов, десинхронизация на центральном и периферическом уровне. Было обследовано 100 пациентов с первичным гипотиреозом на фоне аутоиммунного тиреоидита без сопутствующих заболеваний. Распределение пациентов согласно выявленному ФАП было следующим: у 12% – нормальный вариант ФАП, у 18% – напряженный, у 70% – сниженный. Анализ содержания гормонов гипофизарно-тиреоидной оси и антител к тиреопероксидазе в зависимости от варианта ФАП показал значительно более выраженные изменения тиреотропного гормона и свободного Т4 при напряженном варианте ФАП по сравнению с нормальным вариантом ( $p < 0,05$ ). Достоверно значимых изменений уровня антител между различными вариантами ФАП не было обнаружено. Длительность заболевания была больше среди пациентов со сниженным вариантом ФАП ( $4,82 \pm 0,5$  лет) по сравнению с нормальным и напряженным вариантами ( $2,4 \pm 0,46$  и  $2,32 \pm 0,46$  лет соответственно).

### **РОЛЬ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ ИНСУЛИНА В КРОВИ У 30-ДНЕВНЫХ КРОЛЬЧАТ**

*К.Г. Мамедова Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Биоритмы эндокринной системы, а также и их изменения в условиях патологии, привлекает внимание исследователей в течение нескольких десятилетий. Мелатонин играет ведущую роль в синхронизации гормональных стимулов и метаболических процессов с чередованием светлого и темного времени суток. В последние годы получены принципиально новые данные о роли мелатонина в регуляции секреции инсулина, адреналина и глюкозы. Основной функцией мелатонина является синхронизация физиологических и метаболических процессов с суточными и сезонными ритмами. В частности, секреция мелатонина влияет на ритмы сердечно – сосудистой, иммунной, эндокринной систем. Представляется вероятным, что мелатонин способствует созданию наиболее оптимального режима энергетического обмена в условиях низкой секреции и высокой чувствительности к инсулину в ночные часы. В этой статье мы детально рассмотрим динамику инсулина в крови у 30-дневных крольчат, которые перенесли влияние физической нагрузки и пренатальную гипоксию онтогенеза. Исследования были проведены на крольчатах породы Шиншилла. Значения определяемых параметров у крольчат, которые служили для нас показателями нормы: инсулин  $49,00$  U/ml. Эти крольчата были подвергнуты кратковременной физической нагрузке (КФН) 5 мин: инсулин –  $33,2$  U/ml. Подвергнутые долговременной физической нагрузке (ДФН) 20 мин: инсулин –  $46,6$  U/ml. Показатели были определены у 30-дневных крольчат, перенесшие зародышевую гипоксию, КФН 5 мин: инсулин –  $44,6$  U/ml. Подвергнутые ДФН 20 мин: инсулин –  $63,3$  U/ml. Показатели были определены у 30-дневных крольчат, перенесшие предплодную гипоксию онтогенеза, КФН 5 мин: инсулин –  $15,5$  U/ml. Подвергнутые ДФН 20 мин: инсулин –  $19,8$  U/ml. Показатели были определены у 30-дневных крольчат, перенесшие плодную гипоксию которые были подвергнуты КФН 5 мин: инсулин –  $54,3$  U/ml. Подвергнутые ДФН 20 мин: инсулин –  $36,3$  U/ml. Результаты проведенных исследований расширяют имеющиеся возможности по изучению гормона эпифиза и его связи с другими гормонами при различных физических нагрузках и стрессорного фактора (гипоксии) во время внутриутробного развития.

### **ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГОРМОНОВ И ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ ПРИ САХАРНОЙ НАГРУЗКИ У КРОЛЬЧАТ, ПЕРЕНЕСШИЕ ГИПОКСИЮ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

*Ф.А. Алиева Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Мелатонин является основным гормоном, продуцируемым пинеальными клетками в эпифизе, расположенном в центре мозга, позади третьего желудочка. Циркадные ритмы, влияющие на изменения уровня инсулина, адреналина, мелатонина и глюкозы в крови в организме здоровых людей и млекопитающих при различных экстремальных условиях всегда представляло большой интерес. Однако в условия гипоксию и сахарной нагрузки данный вопрос остается практически не изученным. В связи с этим его участие во многих физиологических процессах в задаче настоящего исследования входило изучение, изменение количе-

ства гормонов и глюкозы крови при сахарной нагрузке. Полученные результаты гормонов, определенные методом ИФА (иммуно-ферментный анализ) (ELISA-enzyme linked immune sorbent assay), количественно определяем на анализаторе Stat Fax+303 производства США (Awareness Technologies inc) с использованием светофильтров с длиной волны 450 или 630 нм для гормонов (мелатонин, адреналин, инсулин). Экспресс методом определяем глюкозу глюкометром производства США (Bayer Health Care) и Канады. Результаты, полученные нами в результате исследований, показали, что у 30 дневных крольчат, по сравнению с интактными, наблюдаются изменения. Самки, получившие в пренатальной и постнатальной периода гипоксию и родившие крольчат, достигших 30 дней после сахарной нагрузки гормоны и количество глюкозы в течение 2–3 часов наблюдаются изменение, а затем через 2 часа приближаются к исходным величинам. У интактных и опытных группах 30 дневных крольчат кратковременная нагрузка, по сравнению с длительной нагрузкой, в уровне гормонов и количестве глюкозы наблюдается повышение. И так, гипоксия является распространенной перинатальной патологией, являющаяся причиной нарушения уровня эндокринных и гликемических реакций и поведения. Учитывая вышесказанное. Можно сделать вывод, что уменьшение или увеличение уровня содержания сахара в крови при предплодная и плодная гипоксию и после СН КФН и ДФН связано с активированием или ингибированием синтез мелатонина, или активностью адреналовой и инсулиновой системой через эпифиз или ингибированием гипоталамических ризилинг факторов и гипофизарных гормонообразовательных функций.

### **РОЛЬ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОГО СТИМУЛА И АНАЛИЗАТОРОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ ГОРМОНОВ И ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ У КРОЛЬЧАТ, ПРЕНАТАЛЬНО РАЗВИВАЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ**

**А.Г. Алиев, К.Г. Мамедова, Ф.Дж. Зейниева, Э.В. Гусейнов**

*Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Функция эпифиза оставалась непонятной многие годы. Только в 1958 году, после открытия американским ученым-дерматологом М. Лернером мелатонина, ученые снова заинтересовались эпифизом. Но эта проблема при условиях разрушения слухового-вестибулярного анализатора, после воздействия фотопериодического стимула в постнатальном онтогенезе остается практически неизученной. В связи с этим, целью проведения данного исследования является изучение роли эпифиза и слухового-вестибулярного аппарата в изменении гормонов и глюкозы в крови. Это обеспечивает приспособление организма к опасным воздействиям внешней среды. В последние годы наряду с другими нейромедиаторными системами организма стали выделять мелатонинергическую систему. Установлено, что нарушение светового режима вызывает выраженные изменения морфофункциональной активности пинеальной железы, характеризующиеся угнетением биосинтеза мелатонина в пинеалоцитах за счет нарушения структуры этих нейроэндокринных клеток. Исследования были проведены на крольчатах породы Шиншилла (30-ти дневные). Животные были поделены на две группы: контрольные и опытные. Каждая из обеих групп животных были подвергнуты условиям гипоксии в определенных этапах пренатального развития. Гипоксия осуществлялось в методике Б.П.Хватова (1978). Разрушения слухового и вестибулярного анализатора проводилась по методу Ципина и Григорьева 1961. Экспресс-методом определяем глюкозу. Параметры мелатонина и инсулина крови будем определять методом ИФА на анализаторе Stat Fax 303, производства США. Таким образом, по результатам проведенных исследований в группе животных, перенесшие темновую фазу. Показатели гормонов и глюкозу заметно варьируют. После воздействий гипоксии также наблюдаются изменения показателей у контрольных и опытных групп, количество инсулина снижается по сравнению с контрольной световой группы животных. У опытной группы по сравнению с контрольной количество глюкозы снижается при темноте и возрастает у световой группы опытных животных. Учитывая выше изложенное, можно прийти к заключению, что гипоксия, нарушение функции анализаторов в условиях длительного круглосуточного освещения, приводят к нарушению всех систем организма, что в свою очередь нарушает метаболизм организма и влияет на уровень инсулина, мелатонина и концентрации глюкозы в крови.

### **ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КОМПОНЕНТОВ КРОВИ У 30-ДНЕВНЫХ КРОЛЬЧАТ ПРЕНАТАЛЬНО РАЗВИВАЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ**

**С.Дж. Мамедова, А.Г. Алиев, С.Б. Мириева, С.Ш. Ибрагимова, Р.Ю. Бабаева**

*Институт физиологии им. А.И. Караева НАН, Баку, Азербайджан*

Мы поставили перед собой цель изучить действие физической нагрузки на количество компонентов крови у 30-ти дневных крольчатах рожденных от матерей, подвергнутые гипоксии в течение 10 дней в предплодный период. Значения определяемых параметров у крольчат, которые служили для нас показателями нормы: лейкоциты –  $5,60 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $47,75 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 16,25%, гранулоциты – 35,50%, эритроциты –  $4,59 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 9,20 г/л, тромбоциты –  $36,00 \times 10^9/\text{л}$ . Значения определяемых параметров у 30-дневных крольчат, не перенесших пренатальную гипоксию, но подвергнутые физической нагрузке (ФН), следующие: после кратковременной нагрузки (КФН) лейкоциты –  $1,55 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $34,65 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 19,60%, гранулоциты – 31,85%, эритроциты –  $4,22 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 8,45 г/л, тромбоциты –  $20,58 \times 10^9/\text{л}$ . После долговременной нагрузки (ДФН): лейкоциты –  $2,70 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $56,22 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 7,27%, гранулоциты – 25,45%, эритроциты –  $4,68 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 8,64 г/л, тромбоциты –  $31,50 \times 10^9/\text{л}$ . Значения определяемых параметров у 30-дневных крольчат, перенесшие предплодную гипоксию, но не подвергнутых ФН, следующие: лейкоциты –  $6,40 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $58,28 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 15,64%, гранулоциты – 29,20%, эритроциты –  $3,77 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 7,98 г/л, тромбоциты –  $66,67 \times 10^9/\text{л}$ . Показатели были определены у 30-дневных крольчат, перенесших предплодную гипоксию, которые были подвергнутые КФН 5 мин и ДФН длительностью 20 мин. После КФН – лейкоциты –  $4,05 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $70,40 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 11,93%, гранулоциты – 14,02%, эритроциты –  $4,67 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 9,35, тромбоциты –  $253,7 \times 10^9/\text{л}$ . После долговременной нагрузки: лейкоциты –  $5,16 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты –  $79,0 \times 10^9/\text{л}$ , моноциты – 19,70%, гранулоциты – 33,44%, эритроциты –  $4,81 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин – 10,54 г/л, тромбоциты –  $213,3 \times 10^9/\text{л}$ . Результаты проведенных исследований расширяют имеющиеся возможности по изучению компонентов крови у крольчат при действиях различных ФН и стрессорного фактора. Полученные данные показывают, что пренатальная гипоксия значительно влияет на компоненты крови крольчат и зависит от периода действия.

**РОЛЬ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ В ИЗМЕНЕНИИ ВРЕМЕНИ РЕКАЛЬЦИФИКАЦИИ ТКАНИ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ, ПОЛУЧИВШИХ ГИПОКСИЮ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ В СВЕТОВЫХ УСЛОВИЯХ**

**А.Г. Алиев, Ф.А. Алиева, С.Ш. Ибрагимова, Р.Ю. Бабаева, С.Б. Мириева**

*Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Актуальность данной проблемы заключается в том, что, длительное воздействие условий гипоксии на организм человека и животных остается одной из актуальных проблем прикладной физиологии и медицины. Учитывая вышеизложенное, мы поставили перед собой цель проследить динамику влияния световой фазы на время рекальцификации в печени и селезенке у 30-дневных крольчат, подвергнутых условиям 10-дневной гипоксии в препродном периоде пренатального развития. Время рекальцификации гомогената печени и селезенки определяли по методу Бер-гергофа и Рока в модификации Б.К. Кудряшова (1975). Гипоксия осуществлялась по методике Б.П. Хватова (1976). Опыты были проведены на 30-дневной крольчатах породы шиншилла. Животные были разделены на 2 группы: 1-я группа серия контрольная (норма), 2-ая серия подопытная. Основная цель проведения данной работы заключается в изучении действия гипоксии в препродном периоде пренатального онтогенеза и определения времени рекальцификации в ткани печени и селезенки у 30-дневных детенышей-крольчат, развившихся пренатально в условиях гипоксии и постнатально содержащихся 10 дней в световом режиме в нормальных условиях. Исследования были проведены в 4 серии. У гипоксированных животных, время рекальцификации в ткани печени и селезенки гомогената по сравнению с 30 дневными (контрольными) нормального животного укорачивается. Результаты наших опытов отчетливо показывают, что длительное воздействие светового режима. У животных, находившихся в течение 10 дней в условиях постоянного освещения, процесс свертывания крови имеет несколько иные характеристики. Из таблицы 1, что время рекальцификации в ткани печени и селезенки у 30 дневных крольчат, прошедшие гипоксию пренатальном развитии в препродном периоде, а постнатальном развитии прошедший 10-дневный световой режим по сравнению с контрольной укорачивается. И так из проведенных исследований известно, что гипоксия нарушает нервно-гуморально и гормональную регуляцию в процессе свертывания крови.

**ВЛИЯНИЕ ОЛЬФАКТОМИИ И СВЕТОВОГО СТИМУЛА НА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ИНТЕРОЦЕПТИВНЫХ ГЛИКЕМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ**

**П.А. Зулфугарова, А.Г. Алиев, С.Б. Мирева, С.Ш. Ибрагимова** *Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Циркадные ритмы, влияющие на изменения гликемического уровня крови в организме здоровых людей и млекопитающих, подвергшихся физической нагрузке при напряженной мышечной деятельности, всегда представляли большой интерес. Основная цель работы заключается в том, чтобы выяснить, как при физической нагрузке, эпифиз и обонятельная ана-лизатор влияют на интероцептивную гликемическую реакцию и циркадный ритм в раннем постнатальном онтогенезе. Для выяснения участия эпифиза в нейрогормональной регуляции интероцептивной гликемической реакции период постнатального онтогенеза опыты проводилось на 1-,3-6- и 12-месячных животных. На основе проведенной исследовательской работы было установлено, что как у интактных, так и ольфактомированных животных на фоне светового и темного режима уровень глюкозы в крови в утренние часы минимален по сравнению с дневными и вечерними часами, в дневные часы максимален по сравнению с утренними и вечерними часами, а в вечерние часы близок к исходному уровню. Во всех возрастных группах наблюдалось различное повышение уровня гликемических реакций после интероцептивной стимуляции как у интактных животных, так и животных, содержащихся на фоне света, темноты и ольфактомии. Было выяснено, что рецепторный аппарат органов работает строго под контролем суточного ритма: через 7 и 14 суток после ольфактомии уровень гликемической реакции в течение 8, 12, 16 и 20 часов дня до и после 5-минутной физической нагрузки ниже, чем уровень сахара в крови у животных контрольной группы, во всех возрастных периодах. Через 7 и 14-дней после ольфактомии уровень гликемической реакции в течение дня 18, 12, 16 и 20 часов) по сравнению с контрольными животными становился незначительно выше. Итак, через 7 и 14 дней после ольфактомии суточный ритм уровень сахара в крови при влиянии кратковременной физической нагрузки повышается, а при длительной нагрузки-понижается. Учитывая выше изложенное можно сделать вывод, что уменьшение или увеличение уровня содержания сахара в крови при КФН (5 мин) и ДФН (20 мин) связано с активированием или ингибированием синтеза мелатонина (М) как у интактных так и ольфактомированных животных. Значит, причина понижения или повышения содержания сахара в крови связаны с ингибированием (при световом режиме) или активированием (при темновом режиме) или адреналовой системой через эпифиз активированием.

**О ПЕРСПЕКТИВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШАФРАНА (*CROCUS SATIVUS L.*) ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ**

**У.Ф. Гашимова<sup>1</sup>, Х.Ф. Бабаев<sup>1</sup>, П.А. Шукюрова<sup>1</sup>, С.И. Гасанова<sup>1</sup>, А.Н. Ильницкий<sup>2</sup>, К.И. Процаев<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан; <sup>2</sup>Белорусское республиканское геронтологическое общественное объединение, Минск, Беларусь*

В XXI веке избыточная масса тела стала одной из наиболее серьезных проблем общественного здравоохранения. По оценкам ВОЗ заболеваемость ожирением приняла масштабы эпидемии, а числа зафиксированных случаев заболеваний растёт из года в год. Метаболический синдром является состоянием, инициирующим процессы преждевременного старения. Установлены положительные корреляционные связи между индексом массы тела с одной стороны, и биологическим возрастом и коэффициентом скорости старения, с другой. В этой связи профилактика метаболического синдрома является ключевой задачей гериатрии и антивозрастной медицины. Ещё с глубокой древности известно многогранное лечебное действие шафрана. Имеющиеся в составе шафрана природные гормоны – фитостеролы – стабилизируют нейрогуморальную систему организма, что может способствовать нормализации липидного профиля крови и повышению половой активности. Принимая это во внимание, представляется целесообразным изучить анорексические свойства шафрана и его действие как афродизиака. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния шафрана на динамику веса, уровень основных компонентов липидного профиля крови (уровень общих липидов – ОЛ, триглицеридов -ТГ и общего холестерина -ОХ) и на некоторые параметры полового поведения у экспериментальных животных. Результаты исследования показали, что шафран обладает умеренными анорексическими свойствами и способен действовать как афродизиака. Так, у животных, получающих высококалорийную пищу на фоне введения экстракта шафрана, прослеживалось снижение как показателей веса тела, так и уровня ОЛ, ТГ и ОХ в крови, по

сравнении с животными, получающих высококалорийную пищу без добавки шафрана. Также было показано стимулирующее действие шафрана на половое поведение экспериментальных животных. Таким образом, шафран (*Crocus sativus L.*) может рассматриваться как потенциальный фитогеропротектор при метаболическом синдроме. Мы полагаем, что выявленные эффекты шафрана связаны с многообразием химического состава шафрана. Важным является то, что шафран действует посредством влияния на нейроэндокринные взаимоотношения, поскольку дисбаланс нейро-иммуно-эндокринной системы лежит в основе процессов преждевременного старения при метаболическом синдроме.

**ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ГОМЕОСТАЗИСА ЭНДОГЕННОГО ВРЕМЕНИ ОРГАНИЗМА**

**М.Р. Чернышева** *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

В настоящее время исследования молекулярных механизмов генеза циркадианных и цирканнуальных биологических ритмов существенно расширили представления о функциях гипоталамуса: помимо температурного и метаболического гомеостаза гипоталамические структуры поддерживают относительное постоянство set point эндогенного времени, отражающей оптимальный диапазон темпоральных параметров временных процессов. Согласно современным представлениям гипоталамические ядра выступают в роли водителей разных по темпоральным параметрам (латентности, скорости, длительности, периодичности, последовательности и плотности) и уровневой организации временных процессов, составляющих в совокупности эндогенное время организма. Рассматриваются особенности локальных сетей гипоталамических ядер и формулируются принципы действия нейропептидов и гормонов, лежащие в основе гомеостатической регуляции гипоталамусом эндогенного времени организма.

**ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ АНТАГОНИСТОВ МУСКАРИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА КОНСОЛИДАЦИЮ НАВЫКА ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫЗВАННЫХ ОТВЕТОВ ПОЛЯ СА1 ГИППОКАМПА**

**Ю.В. Добрякова, О.Я. Гурская, В.А. Маркевич**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Гиппокамп вовлечен в широкий круг процессов, связанных с механизмами обучения и памяти. Один из возможных нейрофизиологических механизмов влияния на обучение и память связан с модулирующим действием ацетилхолина (ACh) на эффективность синаптической передачи. Показано, что большая часть гиппокампальных пирамидных нейронов, образующих СА1-СА3 синапсы, модулируется в первую очередь мускариновыми холинергическими рецепторами. Целью нашей работы является исследование нейрофизиологических механизмов влияния ацетилхолина на консолидацию памяти, связанного с его модулирующим действием на эффективность синаптической передачи и пластичность нейронов гиппокампа. Нами использовалась методика избегания темного отсека камеры после предъявления животному в этом отсеке однократного болевого электрического раздражения («пассивное избегание»). При этом оценивался латентный период (ЛП) входа животного в темный отсек. Электрофизиологические исследования осуществлялись у свободноподвижных крыс (линии Wistar) до однократного болевого электрического стимула, в течение 1.5 часов после помещения в камеру (период консолидации) и через 24 часа (retention) после предъявления болевого раздражителя. Оценивались амплитудно-временные характеристики вызванных ответов поля СА1 гиппокампа в ответ на низкочастотную стимуляцию коллатералей Шафера. В качестве нейрофармакологических агентов применяли антагонисты М1 (пирензепин 1 мг/кг) и М2 (метоктрамин 2 мг/кг) мускариновых рецепторов, вводимые после получения животным болевого электрического раздражителя.

Введение метоктрамина значительно снизило время ЛП входа в темный отсек камеры ( $p < 0.05$ ). Однако инъекции пирензепина достоверного изменения ЛП не вызывали. Регистрация вызванных потенциалов в гиппокампе крыс линии Wistar показала, что введение метоктрамина не приводило к значимым изменениям амплитуд ответов в первые 1,5 часа после инъекции, однако пирензепин значительно снижал амплитуды вызванных ответов поля СА1 гиппокампа ( $p < 0.05$ ). Наиболее выраженные отличия наблюдались с 60-й мин записи. В работе обсуждается взаимосвязь между модуляцией холинергической системы и процессом консолидации памятного следа.

*Работа поддержана Грантами РФФИ № 16-34-00287 и №16-0401762а.*

**ПОВЫШЕНИЕ САНОГЕНИЧНОСТИ КОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА – ЗАДАЧА САНОКРЕАТОЛОГИИ И РЕПРОДУКТОЛОГИИ**

**И.В. Балан, Г.В. Борончук, Н.В. Рошка, Ю.М. Казакова, М.Г. Букарчук, В.И. Бузан, И.Г. Мереуца, Н.С. Зайченко**

*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Воспроизводство здорового потомства – одна из главных задач санокреатологии, решение которой при искусственном воспроизводстве в значительной степени зависит от качества консервированной спермы. Известно, что в последнее время имеет место интенсивное снижение воспроизводительной функции мужчин – снижение концентрации сперматозоидов в эякуляте, их активности, оплодотворяющей способности, выживаемости и других показателей спермограммы. Это обуславливает повышенные требования к качеству консервированной спермы, которая в последнее время всё чаще используется в биотехнологиях воспроизводства. Вместе с тем, используемые современные криотехнологии недостаточно эффективны. В результате консервации-деконсервации разрушаются морфологические структуры гамет и уменьшается их функциональная активность, что отрицательно сказывается на процессе оплодотворения. В связи с этим нами в последнее время проводятся исследования по изучению динамики морфофизиологических нарушений, позволившие получить новые данные по химическому составу биологических мембран и устойчивости спермиев к низким температурам, по структурным перестройкам палзматических мембран сперматозоидов на технологических этапах криоконсервации, по криогенным изменениям видоспецифического характера клеточных белков и липидов, что обуславливает комплекс адаптационно-компенсаторных процессов в криобиологических системах и возможность полной или частичной реабилитации объекта после криоконсервации, а также позволяет установить зависимость между эффективностью сочетанного применения различных компонентов криозащитных сред и морфофункциональными показателями сперматозоидов. На базе концептуальных исследований с позиции санокреатологии (Фурдуй Ф.И. и др., 2013) разрабатывается саногенный алгоритм консервации и деконсервации спермы человека в целях обеспечения саногенного воспроизводства потомства.



**РОЛЬ СУКЦИНАТ-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В МЕХАНИЗМАХ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АДАПТАЦИИ ПРИ ГИПОКСИИ**

*Л.Д. Лукьянова, Ю.И. Кирова НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия*

Обосновывается существование сукцинат-зависимой сигнальной регуляции, реализующейся при гипоксии через активацию транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  и рецептора GPR91, направленной на формирование срочных и отсроченных молекулярных механизмов адаптации и увеличение резистентности организма к дефициту кислорода. Индуцируемая гипоксией срочная экспрессия транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  и срочная индукция рецептора GPR91 тканеспецифичны, фенотипичны, дозозависимы, сукцинат-зависимы и коррелируют с формированием срочной и отсроченной защитно-адаптивной резистентностью животных к дефициту кислорода. В КГМ существует прямая корреляция между срочной гипоксической экспрессией HIF-1 $\alpha$ , внутриклеточным содержанием сукцината и активностью СДГ, а также обратная корреляция между экспрессией HIF-1 $\alpha$  и толерантностью организма к гипоксии: HIF-1 $\alpha$  играет ключевую роль в формировании адаптации к гипоксии только у низкорезистентных животных. Срочная сукцинат-зависимая экспрессия HIF-1 $\alpha$  контролируется в КГМ двумя различными механизмами образования эндогенного сукцината: а) в цикле Кребса при активации СДГ (репрограммирование работы субстратного участка дыхательной цепи: ингибирование МФК I и активация МФК II) и б) за счет функционирования специфического для мозга ГАМК-шунта. В отличие от этого, срочная сукцинат-зависимая экспрессия GPR91 в КГМ не зависит от активности МФК II и поддерживается сукцинатом, образованным в реакциях ГАМК-шунта. Рассматривается взаимодействие HIF-1 $\alpha$  и GPR91 при гипоксии с другими сигнальными системами (Hsp90, Hsp70, VEGF). Определены оптимальные для экспрессии HIF-1 $\alpha$  и GPR91 режимы однократного и курсового применения ГБГ в условиях *in vivo* с учетом индивидуальной толерантности животных к дефициту кислорода, а также обоснована правомочность применения в гипоксических условиях экзогенного сукцината в качестве активатора этого процесса, ускоряющего формирование толерантности организма к гипоксии.

**МЕХАНИЗМЫ КРОСС-ТОЛЕРАНТНОСТИ МОЗГА К ГИПОКСИИ И СТРЕССУ**

*Е.А. Рыбникова Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Изучение механизмов формирования толерантности мозга к неблагоприятным факторам продолжает оставаться актуальной проблемой для биомедицинских исследований. Особый интерес представляет выявление как общих механизмов адаптации и реабилитации, так и специфических компонентов, либо повышающих адаптивные возможности, либо необходимых для реабилитации организма, перенесшего патогенное воздействие. В рамках доклада будут обобщены результаты многолетних исследований по данной проблеме, проведенных с использованием оригинального подхода – протективного воздействия умеренной гипобарической гипоксией (УГГ). Гипоксическое пре- и посткондиционирование с применением нескольких сеансов УГГ представляет собой эффективную технологию для профилактики и коррекции патологических последствий разных повреждающих воздействий. В докладе будет проведен сравнительный анализ выявленных ранее механизмов нейропротективных эффектов УГГ в режимах пре- и посткондиционирования в условиях гипобарической гипоксии, травматического и психоэмоционального стресса, показана универсальность и/или особенности вовлечения гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 и его мишеней, компонентов гипоталамо-гипофизарно-адренортикаральной оси и ее нейроэндокринных регуляторов, нейротрофинов и процессов нейрогенеза в формирование толерантности мозга к гипоксии и стрессу. Сделанные на основе детального сравнительного анализа заключения внесут значительный вклад в понимание механизмов стресса и адаптации, а также откроют новые перспективы для разработки способов протекции от патологических последствий стрессов, основанные на индукции гипоксической толерантности. *Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00987.*

**РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЕ ОРГАНИЗМА ПРИ ГИПОКСИИ И ЕЕ СВЯЗЬ С СИГНАЛЬНЫМИ СИСТЕМАМИ АДАПТАЦИИ**

*Ю.И. Кирова, Л.Д. Лукьянова*

*НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия*

Исследовано влияние разных режимов гипоксии на параметры системы глутатиона и их роль в гипоксической индукции проадаптивных белков (HIF-1 $\alpha$ , GPR91, VEGF) в наиболее чувствительной к дефициту O $_2$  ткани коры головного мозга (КГМ) крыс с различной толерантностью к гипоксии. Доказано, что регуляторные свойства системы глутатиона более сбалансированы в КГМ низкоустойчивых (НУ) крыс, что обеспечивает им лучшую антиоксидантную защиту, нежели у высокоустойчивых (ВУ). В ответ на повреждающие однократные гипоксические воздействия происходит снижение содержания окисленного глутатиона в КГМ НУ и ВУ крыс, коррелирующее с активацией антиоксидантных ферментов (каталазы, Cu, Zn-SOD), индукцией HIF-1 $\alpha$ , GPR91, VEGF, увеличением резистентности к острой гипоксии. Эти изменения более выражены у НУ животных. При курсовом применении неповреждающих гипоксических воздействий этот эффект постепенно ослабевал. При этом в КГМ ВУ животных отмечалось снижение активности глутатионзависимых ферментов и накопление гидроперекисей, свидетельствующее о появлении признаков окислительного стресса. В отличие от этого, после однократного воздействия тяжелой гипоксии в КГМ обоих фенотипов крыс выявлялись нарушения регуляторной функции цикла глутатиона и усиление свободно-радикальной активности, характерные для окислительного стресса. При этом подавлялась экспрессия HIF-1 $\alpha$ , уменьшалась плотность GPR91, нарушалось формирование срочной и отсроченной резистентности к острой гипоксии. Все эти изменения усиливались при курсовом применении тяжелой гипоксии и усугублялись в КГМ ВУ крыс снижением активности глутатионзависимых ферментов. Следовательно, в условиях максимальной гипоксической аккумуляции HIF-1 $\alpha$  и GPR91 в КГМ свободно-радикальные процессы не являются индукторами экспрессии этих белковых факторов. Таким образом, функциональная активность системы глутатиона зависит как от тяжести и длительности гипоксического воздействия, так и от индивидуальной переносимости гипоксии, т.е. генетически детерминирована. В КГМ НУ крыс эта система сохраняет свои регуляторные свойства в более широком диапазоне сниженных (но не повреждающих) значений pO $_2$  сравнительно с ВУ животными, а ее дисрегуляция наступает при более тяжелых режимах гипоксии, либо более длительном их применении.

**ГИПОКСИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ МОЗГА**

**Ю.С. Медникова<sup>1</sup>, С.Н. Кожечкин<sup>2</sup>, А.В. Исакова<sup>1</sup>, Ф.В. Копытова<sup>3</sup>** *<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, <sup>2</sup>НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, <sup>3</sup>Научный центр неврологии, Москва, Россия*

На срезах сенсомоторной коры морских свинок, инкубированных при температуре 32–34°C, было обнаружено, что в условиях недостатка энергоснабжения гипоксические явления в виде снижения амплитуды спайков развиваются одновременно с увеличением активационной реакции на ионофоретическое подведение ацетилхолина при  $t=35\text{--}36^\circ\text{C}$ . У кроликов при нормальной температуре тела 38,5°C введение препаратов, блокирующих энергетический метаболизм нейронов (например, На тиопентала), приводит к тем же результатам – к снижению амплитуды нейрональных спайков в период начиная с 30-ой секунды после начала введения вещества до наступления наркотического состояния. Наркотический эффект состоял в потере адаптивной функции мозга, что на нейронном уровне соответствовало снижению частоты спонтанной активности и блокированию активационной реакции на микроионофоретическое подведение ацетилхолина к нервным клеткам. Наступление наркотического состояния восстанавливало исходную амплитуду спайков. И, наконец, действие глутамата – возбуждающего медиатора в нервной системе, при длительной аппликации к отдельным нервным клеткам, вызывает те же гипоксические проявления. Необходимость сохранения функциональных возможностей нейронов в условиях глобальности глутаматергического возбуждения и высокой температуры мозга определяет приход специфических афферентов к нейронам особого типа, нечувствительным к гипоксии. Таким образом, угроза наступления гипоксического состояния мозга у теплокровных тесно связана с высокой температурой (выше 36°C), при которой резко возрастает скорость метаболической М-холинергической реакции, ответственной за формирование приспособительного поведения. Зависимость этого процесса от температуры и от значительного энергетического обеспечения позволяет разработать технологии, предохраняющие нервную систему от гипоксического поражения. *Исследования поддержаны грантом РФФИ (проект №13-04-01114а).*

**ОТ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ К ПАТОЛОГИЯМ РАЗВИТИЯ МОЗГА ВСЛЕДСТВИЕ ВОЗДЕЙСТВИЙ  
В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

**Е.И. Тюлькова** *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Выяснение механизмов влияния неблагоприятных факторов среды на организм – одна из центральных проблем современной биологии и медицины. Особенно опасно их действие в раннем онтогенезе – в различные периоды пренатального развития. Целью работы явилось изучение комплекса эпигенетических и молекулярных механизмов, а также физиологических реакций, индуцируемых пренатальным воздействием тяжелой гипобарической гипоксии и стресса. Представлены результаты изучения последствий воздействия гипобарической гипоксии (подъем на 11000 м на 3 часа) или введения синтетического глюкокортикоида – дексаметазона (0,8 мг/кг) в различные периоды пренатального онтогенеза у крыс (на 14–16 и 17–19 сутки внутриутробного развития) на соматическое и сенсомоторное развитие в раннем постнатальном онтогенезе, на двигательное, эмоциональное, исследовательское поведение и способность к обучению взрослых крыс. Выявлены сходства и различия в эффектах действия тяжелой гипобарической гипоксии и введения дексаметазона в различные сроки пренатального онтогенеза крыс. Нарушения поведения и способности к обучению находят свое отражение в модификации уровня апоптоза клеток мозга, стрессо-реактивности ГГАС, активности внутриклеточных регуляторных систем, в частности кальциевой и фосфоинозитидной. Развитие патологических процессов в мозге связаны также с нарушением эпигенетической регуляции экспрессии генов. С использованием количественного иммуноцитохимического метода исследовали влияние пренатальной гипоксии на изменения содержания эпигенетического фактора: асН3К24, влияющего на конформационные свойства хроматина и экспрессию генов в различных структурах мозга 14-суточных, взрослых (3-месячных и 1,5 годовалых) крыс. Показаны долгосрочные изменения степени ацетилирования гистона H3 по Lys24 в гиппокампе и неокортексе крыс, переживших гипоксический и дексаметазоновый стресс в течение последнего триместра эмбрионального развития. Проведен сравнительный анализ нарушений изменений эпигенетического статуса хроматина в клетках исследуемых областей мозга (гиппокамп и неокортекс), модификации активности фосфоинозитидной и нейроэндокринной систем, а также соотношения между числом нейронов и глиальных клеток в возрасте наступления старости.

**ГИПОБАРИЧЕСКАЯ ГИПОКСИЯ И МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В КЛЕТКАХ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

**М.О. Самойлов, Е.А. Рыбникова**

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

С использованием количественного иммуноцитохимического метода исследовали изменение интенсивно иммунореактивных (ИИР) к антителу метилированной формы ДНК клеток переднего мозга млекопитающих (париетального неокортекса, гиппокампа крыс) в ответ на разные воздействия (тяжелой повреждающей и умеренной адаптогенной гипобарической гипоксии (ТГГ и УГГ, соответственно). Обнаружено, что ТГГ вызывает выраженное увеличение иммунореактивности к метилированной ДНК в уязвимых к ТГГ клетках переднего мозга. В отличие от этого, три (но не один) сеанса УГГ само по себе или в режиме гипоксического прекодиционирования (ПК) индуцирует падение числа ИИР клеток как в неокортексе, так и в полях СА1, СА3 гиппокампа. Таким образом, впервые показано, что различные режимы гипобарической гипоксии (ГГ) – повреждающей и адаптогенной, индуцируют принципиально разные состояния метилирования ДНК в структурах переднего мозга млекопитающих. Известно, что усиление глобального метилирования ДНК мозга приводит к затруднению доступа проадаптивных транскрипционных факторов к генам-мишеням и репрессии генной транскрипции. Ранее при использовании аналогичной методики нами установлено, что ТГГ вызывает репрессию проадаптивных транскрипционных факторов, их генов-мишеней и белковых продуктов, а эффективная УГГ сама по себе, а также используемая в режиме ПК, – напротив, их активации. К этому следует добавить, что метилирование ДНК блокирует нейропротекцию в модели ишемической толерантности, а глобальная редукция этого процесса опосредует ишемическую нейропротекцию. Таким образом, эпигенетическим механизмом и, в частности, процессу метилирования ДНК в клетках переднего мозга млекопитающих принадлежит важная роль в разнонаправленных ответах на повреждающую ТГГ и адаптогенную УГГ. Полученные данные могут быть использованы при разработке новых лекарственных форм нейропротекторов, повышающих нейропластичность мозга при действии экстремальных факторов среды. *Поддержано грантом РФФИ № 14-04-00516.*

**ВЛИЯНИЕ ВЕЩЕСТВА  $\pi$ Q1983 НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ С ГИПЕРКАПНИЕЙ**

А.В. Евсеев<sup>1</sup>, Д.В. Сосин<sup>1</sup>, В.А. Правдивцев<sup>1</sup>, М.А. Евсеева<sup>1</sup>, Д.В. Сурменёв<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>2</sup> <sup>1</sup>Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск; <sup>2</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Известно, что при быстром снижении содержания кислорода в окружающей среде устойчивость организма к остро формирующейся гипоксии в значительной мере зависит от уровня активности кардиореспираторной системы. Установлено, что эффективным механизмом адаптации к острой гипоксии выступает способность организма замедлять скорость течения метаболических процессов, особенно за счёт снижения функциональной активности энергоёмких структур.

Целью исследования явилось изучение состояния кардиореспираторной системы крыс в условиях формирования острой гипоксии экзогенной природы после применения в качестве протектора гипоксии нового селенсодержащего соединения металлокомплексной природы. Опыты выполнены на модели острой гипоксии с гиперкапнией (ОГ+Гк) на белых крысах-самцах линии Wistar (n=20) массой 180–200 г в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (2003). Металлокомплексное соединение  $\pi$ Q1983 (гексакис(3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридинато) [трис(добензилдисульфидо)] диник(II)) вводили внутрь однократно в дозе 100 мг/кг за 90 мин (период инкубации) до помещения животных в гипоксические камеры свободным объёмом 1,0 л. В ходе опытов у крыс на протяжении периода инкубации и в условиях ОГ+Гк осуществляли одновременную регистрацию электрической активности миокарда (ЭКГ) и дыхательной активности легких (пневмобарограмма – ПБГ). Установлено, что вещество  $\pi$ Q1983 оказывает отчётливое кардиодепрессивное действие, а также существенно снижает параметры лёгочной вентиляции. В соответствии с динамикой изменений ЭКГ и ПБГ, крысы, защищённые веществом  $\pi$ Q1983, демонстрировали в сравнении с контрольной группой значимо более высокий уровень резистентности к ОГ+Гк, что проявлялось ослаблением ранних реакций на гиперкапнию, 3-кратным увеличением периода стабильной активности эффекторов кардиореспираторной системы, 2-кратным приростом показателя продолжительности жизни. В качестве преимущества нового антигипоксического соединения отмечена его эффективность после введения *per os*.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

М.А. Красильников *Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

Развитие резистентности злокачественных опухолей к стероидным гормонам приводит не только к снижению эффективности гормональной терапии, но и к формированию более злокачественного фенотипа опухолей, резкому усилению тяжести и ухудшению прогноза заболевания. В основе механизма пролиферативного действия стероидных гормонов лежит образование комплекса гормона со специфическим рецептором, связывание с определенными каноническими последовательностями промоторов генов и активация транскрипции.

Потеря клетками гормональной зависимости может быть обусловлено как снижением содержания рецепторов гормонов, так и рядом других факторов, среди которых – нарушение баланса между белками-активаторами и супрессорами рецептора, лиганд-независимая активация рецептора; стимуляция сигнальных путей, идущих в обход рецепторов гормонов (EGFR, PI3K, NF- $\kappa$ B) и поддерживающих тем самым рост опухолей в отсутствие гормонов.

На сегодняшний день можно выделить несколько принципиально возможных путей преодоления гормональной резистентности злокачественных новообразований:

- реактивация рецептора гормона путем воздействия на специфические белки-корректоры, активаторы или репрессоры рецептора;
- восстановление экспрессии рецептора в тех опухолях, где его экспрессия заблокирована на уровне эпигеномной регуляции (метилирования/деацетилирования промотора, регуляции специфичных микроРНК);
- подавление активности ключевых белков гормонезависимых сигнальных путей – в первую очередь рецепторных тирозинкиназ и нижележащих сигнальных белков, в том числе на фоне реактивации рецептора;
- воздействие на уровне межклеточных контактов, прямых или опосредованных, предположительно участвующих в распространении гормональной резистентности по всему клеточному пулу (GAP junctions, экзосомы).

В наших экспериментах на культивируемых *in vitro* клетках рака молочной железы получены предварительные данные, свидетельствующие, что подавление некоторых сигнальных белков, одновременно являющихся репрессорами рецептора эстрогенов (Snail1, NF- $\kappa$ B), может приводить к частичной реактивации рецептора; продемонстрирована возможность распространения гормональной резистентности при совместном культивировании гормонрезистентных и чувствительных клеток – предположительно, с участием низкомолекулярных медиаторов или экзосом. Можно ожидать, что дальнейший прогресс в исследовании механизма гормональной резистентности опухолей позволит в итоге перейти к установлению молекулярных причин развития резистентности в каждом конкретном случае заболевания и разработке индивидуальных подходов к преодолению гормональной резистентности.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**

Е.Н. Имянитов, А.П. Соколенко *НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, С.-Петербург*

Концепция 2-ударного механизма развития наследственных опухолей составляют основу современных представлений о генетике рака. Считается, что присутствие мутации лишь в одном аллеле «ракового» гена практически всегда компенсируется, поэтому человек, унаследовавший подобную мутацию от родителей, остаётся внешне здоровым. Тем не менее, если хотя бы в одной клетке органа-мишени в результате соматической мутации инактивируется оставшийся аллель вовлечённого гена, возникает функциональный дефект, который является пусковым звеном процесса злокачественной трансформации.

Серия наших работ указывает на то, что упомянутая выше концепция, будучи в целом верной, не является абсолютно универсальной. В частности, изучение карцином яичника у носительниц мутаций в гене BRCA1 продемонстрировало, что определённая, достаточно небольшая пропорция клеток опухоли сохраняет нормальный аллель гена BRCA1 – это свидетельствует о том, что делеция оставшейся копии гена BRCA1 не всегда является первым событием процесса злокачественной трансформации у BRCA1-гетерозигот. Более того, в процессе предоперационной терапии опухоли производными платины практически моментально происходит селекция подобных клеток, характеризующихся сохранной функцией гена BRCA1.

Данное наблюдение имеет значение не только для развития фундаментальных представлений о молекулярном патогенезе рака, но и для клинической онкологии: оно свидетельствует о нецелесообразности применения после операции той же терапии, которая применялась до хирургического вмешательства.

Другим интересным наблюдением является тот факт, что далеко не все наследственные опухоли действительно развиваются по 2-ударному механизму. В частности, интактный статус оставшегося аллеля гена сохраняется примерно в одной трети BRCA1-ассоциированных карцином яичника. Соматическая инактивация вовлеченного гена не является частым событием в опухолях молочной железы, возникающих у носителей мутаций в генах BLM, NBS1 и CHEK2. Таким образом, патогенез определенной части наследственных опухолей связан, по-видимому, с феноменом гаплонедостаточности.

До недавнего времени считалось, что практически все генетически обусловленные раковые синдромы имеют аутосомно-доминантный механизм наследования. Эта особенность отличает генетику рака от «классической» медицинской генетики, где преобладают заболевания с аутосомно-рецессивным механизмом наследования. Тем не менее, в последние годы появилось немало примеров онкологических заболеваний, ассоциированных с биаллельным наследственным дефектом. В докладе будут обсуждаться методические особенности поиска рецессивных генов онкологической предрасположенности. *Данная работа поддержана грантом РФФИ 14-25-00111.*

### **РОЛЬ МИКРОДОМЕНОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В РЕГУЛЯЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ**

**И.Б. Зборовская** *Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

Плазматическая мембрана (ПМ), сложно организованная клеточная структура, содержащая липиды и белки, участвует в широком спектре клеточных процессов, обеспечивая не только барьерную, транспортную, матричную, маркерную, но и рецепторную функции. В настоящее время в составе ПМ выделяют широкий спектр микродоменов, содержащих разные типы сигнальных молекул и рецепторов и имеющих различный уровень организации.

Плазматические микродомены (ранее – «липидные рафты»), помимо минорных липидов различных типов, имеют в своем составе специальные «рафт-образующие» белки нескольких семейств – кавеолы, SPFH-семейство, тетраспанины, галектины и клатрины – которые формируют и стабилизируют мембранные микродомены, удлиняя период их существования. Некоторые «рафт-образующие» белки способны формировать микродомены не только в плазматической мембране, но и в эндоплазматическом ретикулуме (эрлины) и митохондриях (прохибитины). Существует некоторое разночтение в обозначении данного типа белков, но наиболее адекватным, с нашей точки зрения, является термин «микродомен-образующие белки» (МОБ).

Функции МОБ чрезвычайно разнообразны, однако большинство из них опосредуется через способность формировать «сигналы», т.е. концентрировать внутри мембранного микродомена рецепторы и сигнальные молекулы разных каскадов, осуществляя их регуляцию и облегчая перекрестные взаимодействия, т.к. могут создавать комплексы с резидентными белками и формировать сети. Таким образом, МОБ осуществляют регуляцию широкого спектра сигнальных белков и каскадов, и участвуют практически во всех аспектах жизнедеятельности клетки. Принимая во внимание наличие ряда общих черт и регуляторных белков-мишеней, функционирование МОБ различных семейств может и должно быть тесно взаимосвязано, и, безусловно, нуждается в комплексном рассмотрении.

Процесс развития опухоли, как и других патологических процессов в первую очередь связан с изменением молекулярных систем передачи клеточных сигналов, а значит, и влиянием различных типов мембранных микродоменов, выступающих в роли «сигнальных» платформ и регулирующих спектр рецепторов и примембранных сигнальных белков в опухолевой клетке. В связи со все возрастающим интересом к механизмам везикулярного транспорта и таким мембранным структурам, как экзосомы, следует отметить, что МОБ активно влияют на процессы их формирования и функционирования, особенно при развитии злокачественных процессов.

Исследование взаимоотношений между различными микродоменами и смена ролей в передаче внутриклеточных сигналов может иметь важное значение не только для онкологии, но и при изучении молекулярных механизмов развития множества патологий, в том числе нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, воспалительных и ряда других социально-значимых заболеваний человека. Данные исследования имеют принципиальное значение и в молекулярной мембранологии.

### **РОЛЬ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ, ОПОСРЕДОВАННЫХ КАДХЕРИНАМИ, ДЛЯ ДИССЕМИНАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

**Н.А. Глушанкова, С.Н. Рубцова, И.Ю. Житняк**

*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

Угнетение экспрессии адгезионного белка E-кадгерина считается ключевым этапом прогрессии клеток карцином, однако во многих опухолях E-кадгерин сохраняется. Были проведены исследования линий эпителиоцитов IAR, трансформированных мутантным онкогеном RAS и диметилнитрозамином. Для визуализации клеток и межклеточных адгезионных контактов (АК) культуры были стабильно трансфицированы флуоресцентными конструкциями GFP, GFP-E-кадгерина или mKate2. Клетки также были трансфицированы конструкциями E-кадгерина или доминантно-негативного E-кадгерина (dNE-cad), ингибирующего образование АК. Было обнаружено, что трансформированные эпителиоциты могли сохранять экспрессию E-кадгерина, однако в этом случае стабильные тангенциальные АК, типичные для нормальных клеток, замещались динамичными радиальными АК. Несмотря на сохранение E-кадхериновых АК, в таких культурах наблюдалось угнетение контактного паралича псевдоподиальной активности, разрушалась стабильная межклеточная адгезия, а эпителиальные клетки приобретали миграционный фенотип. Трансформированные эпителиоциты IAR1170 и IAR-6-1, экспрессирующие E-кадгерин, могли мигрировать по субстрату как в составе группы клеток, так и индивидуально. Эпителиоциты IAR1162, утратившие при трансформации экспрессию E-кадгерина, и клетки IAR-6-1, трансфицированные dNE-cad, мигрировали только индивидуально. Трансформированные клетки, экспрессирующие E-кадгерин, также лучше мигрировали в миграционных камерах, нежели клетки, утратившие E-кадгерин. С помощью конфокальной микроскопии было показано, что трансформированные клетки, сохранившие экспрессию E-кадгерина, могут образовывать АК с нормальными эпителиальными клетками. Трансформированные эпителиоциты, образующие E-кадхериновые АК, могли мигрировать по поверхности эпителиальных клеток и инвазировать монослой нормальных эпителиоцитов. Введение в трансформированные клетки IAR-6-1 конструкции dNE-cad практически полностью

отменяло их инвазивную активность, экспрессия в клетках IAR1162 экзогенной конструкции E-кадхерина существенно повышала процент инвазии. Таким образом, опосредованные E-кадхерином межклеточные взаимодействия между опухолевыми и нормальными эпителиальными клетками способствуют диссеминации опухолевых клеток, E-кадхерин-содержащие АК важны для коллективной миграции.

#### **АНТИКАНЦЕРОГЕННОЕ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ КУРАКСИНА CBL0137**

**К.И. Кирсанов<sup>1</sup>, Е.А. Лесовая<sup>1,4</sup>, Т.И. Фетисов<sup>1</sup>, Л.С. Труханова<sup>1</sup>, Е.Е. Антошина<sup>1</sup>, Т.Г. Горькова<sup>1</sup>, Р.М. Селимов<sup>2</sup>, Р.В. Иванов<sup>2</sup>, Е.В. Шипаева<sup>2</sup>, К.В. Гурова<sup>3</sup>, А.В. Гудков<sup>3</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва; <sup>2</sup>ООО «Инкурон», Москва, Россия; <sup>3</sup>Онкологический центр Розвелл Парк, Баффало, США; <sup>4</sup>Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Рязань, Россия

В данной работе было проведено исследование антиканцерогенных и противоопухолевых эффектов Кураксина, соединенных относящихся к классу узкобороздочных лигандов, *in vivo* и *in vitro*. Кураксин представляет собой низкомолекулярные карбазольные производные, способные одновременно активировать p53-зависимый апоптоз и ингибировать NF-κB-зависимый сигнальный путь. Кураксин вводили мышам, ранее обработанным и необработанным 1,2 ДМГ. При гистологическом анализе полученных образцов впервые было показано, что: (1) CBL0137 в значительной степени снизил частоту появления аденоматозных полипов (у самцов с 54% до 22,7%, у самок – с 64,4% до 25%) и аденокарцином толстого кишечника (у самцов с 18,9% до 22,73%, у самок – с 20,51% до 11,3%); (2) частота появления ангиосарком почечной капсулы у самцов снизилась с 48,65% до 20,45%, (3) а частота появления саркомы матки упала с 33,3% до 20,4%. Далее было проведено исследование возможного противоопухолевого действия CBL0137 в различных дозах (с определением зависимости доза-эффект) на перевиваемую опухоль кишечника «Акатол». Анализ полученных данных показал, что: (1) в дозе 20 мг/кг CBL0137 проявлял тенденцию к увеличению времени появления первых узелков на месте перевивки опухоли; (2) CBL0137 оказывал достоверное тормозящее действие на рост данной аллогraftной опухоли; (3) максимальный эффект действия CBL0137 наблюдается на 37 сутки и в ряду 5, 10, 15, 20 мг/кг/день составляет 53, 50, 56, 74% соответственно; (4) при анализе продолжительности жизни при выбывании животного из экспериментальной группы по достижении опухолью определенного объема наблюдалось значимое увеличение продолжительности жизни во всех группах, принимающих CBL0137. Максимальный эффект был продемонстрирован для группы, принимавших препарат в дозе 20 мг/кг/день, и составил 81,7%. Таким образом, нами было показано как антиканцерогенное, так и противоопухолевое действие Кураксина CBL0137.

#### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ ПРЕОДОЛЕНИЯ**

**Е.А. Лесовая<sup>1,2</sup>, Л.Р. Тилова<sup>1</sup>, А.В. Савинкова<sup>1,3</sup>, Е.М. Жидкова<sup>3</sup>, О.И. Борисова<sup>1</sup>, В.З. Ширинян<sup>4</sup>, Г.Е. Байда<sup>5</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1</sup>, Г.А. Белицкий<sup>1</sup>, И.В. Будунова<sup>5</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва; <sup>2</sup>Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Рязань; <sup>3</sup>Московский технологический университет, Москва; <sup>4</sup>Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского, Москва, Россия; <sup>5</sup>Northwestern University, Chicago, USA

Глюкокортикоиды (GC) широко применяются при терапии гемобластозов и солидных опухолей. Биологический эффект GC реализуется посредством активации глюкокортикоидного рецептора (GR), регулирующего экспрессию генов путем (1) транс-активации, требующей связывания GR с ДНК, и (2) транс-репрессии – белок-белкового взаимодействия GR с факторами транскрипции. Транс-репрессия обуславливает терапевтические эффекты GC, в то время как транс-активация вызывает развитие метаболических осложнений, остеопороза, атрофии кожного покрова в случае местного применения, и пр. Был предложен ряд подходов по увеличению активности GC и снижению побочных эффектов от их применения. Так, были описаны селективные агонисты глюкокортикоидного рецептора (SEGRA), которые не приводят к образованию гомодимера GR и, соответственно, запускают лишь транс-репрессию. К классу SEGRA относится 2-(4-ацетоксиметил)-2-хлор-N-метилэтиламиний хлорид или CrdA, соединяющие растительного происхождения, выделенные из кустарника *Salsola tuberculatifomis*. Нами было показано, что CrdA селективно запускает транс-репрессию GR и проявляет GR-зависимый противоопухолевый эффект на моделях гемобластозов *in vitro* и *in vivo*. Далее список потенциальных SEGRA был расширен за счет синтеза (1) энантиомеров CrdA и (2) его химических производных. Также было показано, что ключевую роль в развитии побочных эффектов GC играет GC-зависимый белок REDD1, ингибитор белкового комплекса mTORC1. С помощью виртуального докинга было протестировано около 1500 лекарственных препаратов, 4 препарата было отобрано для исследований. Ингибирование REDD1 было продемонстрировано на клетках лимфомы, лейкоза, а также на кератиноцитах для иммуномодулятора рапамицина. Было показано значительное снижение базального и GC-индуцированного уровня REDD1 после обработки клеток рапамицином. Рапамицин существенно подавлял фосфорилирование GR, его транслокацию в ядро, а также транс-активацию GR-зависимых генов, в то же время усиливая транс-репрессию GR. Таким образом, в ходе исследований были продемонстрированы возможные подходы к снижению побочных эффектов GC и показана потенциальная клиническая значимость селективного запуска транс-репрессии GR. Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ (гранты 16-04-01410, 15-04-04006) и фонда Династия.

#### **НОВЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

**А.М. Щербаков<sup>1</sup>, В.Б. Цветков<sup>2</sup>, Б.В. Тяглов<sup>3</sup>, К.В. Лобанов<sup>3</sup>, С.В. Яроцкий<sup>3</sup>, А.С. Миронов<sup>3</sup>, Р.С. Шакулов<sup>3</sup>, А.А. Штиль<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ; <sup>2</sup>ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА; <sup>3</sup>ГосНИИГенетика, Москва, Россия

Акадезин (AICAR или 5-Аминоимдазол-4-карбоксамид-1-β-D-рибофуранозид) – активный регулятор внутриклеточных сигнальных каскадов, что обуславливает его перспективность в качестве лекарственного кандидата. Химическими модификациями молекулы акадезина получена серия новых производных с различными заместителями в гетероциклическом кольце и углеводном остатке. Сравнение способности акадезина и новых производных вызывать гибель культивируемых клеток рака молочной железы выявило 5-ацетиламино-4-ацетиламиноимдазол-1-β-D-2',3',5'-триацетилрибуфуранозид (A4) как соединение-лидер. В клетках рака молочной железы линии MCF-7 соединение A4 снижало базальную и индуцированную

форболовым эфиром (ФЭ) NFκB-опосредованную трансактивацию гена-репортера. Это позволило предположить, что “классические” (Ca<sup>2+</sup>/фосфолипид-зависимая) изоформы протеинкиназы C (ПКС) могут быть мишенями NFκB-ингибирующего действия A4. Действительно, A4 в субмикромольных концентрациях ингибировало протеинкиназу C δ (по фосфорилированию пептидного субстрата в бесклеточной системе). Активность α1, α2, β и γ-изоформ ПКС, а также протеинкиназ IKKα и IKKβ не изменялась или снижалась лишь при использовании существенно более высоких (2 порядка) концентраций A4. В соответствии с этими результатами A4 снижало ФЭ-индуцированное фосфорилирование IκB и активацию NFκB в клетках рака молочной железы. По способности ингибировать ПКСδ соединение A4 в 37 раз активнее акадезина и вдвое по сравнению с ближайшим физиологическим аналогом аденозином. Проведено моделирование взаимодействия соединения A4 и его ближайших аналогов (акадезина и аденозина) с CYS2 доменом ПКСδ (PDB:1PTR) с помощью процедуры докинга, реализованного в программе ICM 3.8. Анализ результатов докинга показал, что соединения A4 и аденозин связываются с ПКСδ в области встраивания активаторов (ФЭ, диацилглицерола), а акадезин не имеет энергетически выгодных расположений в этой области. Комбинация рибозида A4 с цисплатином продемонстрировала аддитивный эффект этих препаратов на клетках рака молочной железы *in vitro*. В целом, химические модификации структуры акадезина позволили получить более активное производное и выявить внутриклеточную мишень – ПКСδ, важную для установления молекулярных механизмов действия соединений этого нового химического класса.

### **РОЛЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

**Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>, Ю.Г. Кжышкова<sup>2,3</sup>, М.В. Стахеева<sup>1</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,2,4</sup>, Н.В. Литвяков<sup>1,2</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Томский НИИ онкологии, Томск; <sup>2</sup>Томский государственный университет, Томск, Россия; <sup>3</sup>Институт трансфузионной медицины и иммунологии, Медицинский факультет Мангейм, Университет Гейдельберг, Германия; <sup>4</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Россия

Введение. Представлены данные по изучению иммунологических механизмов регуляции опухолевой прогрессии и эффективности химиотерапии (ХТ) для выявления маркеров прогноза и мишеней для терапии. Материалы и методы. У больных раком молочной железы (n=367) проведены исследования связи метастазирования и ответа на неоадьювантную ХТ (НХТ) с генетическими нарушениями экспрессии цитокинов опухолью, инфильтрацией стромы опухоли воспалительными клетками и состоянием иммунной системы (ИС) как интегрированного целого. Результаты. Первичная опухоль обеспечивает инвазию и метастазирование, модуляцию микроокружения путем продукции цитокинов. Показано, что потеря функции провоспалительных молекул (хемокины, стабиллин) в результате хромосомных аномалий клеток опухоли снижает метастазирование и повышает эффективность НХТ. Найдены различия взаимоотношений опухоли и стромы в разных сайтах опухоли, в зависимости от наличия разных морфологических структур РМЖ (Zavyalova et al., 2011), влияющие на ее биологическое поведение, о чем свидетельствует разная прогностическая значимость инфильтрирующих клеток, расположенных вблизи различных структур. Показана гетерогенность опухолевого микроокружения и разная связь изучаемых клеток и молекул в разных сайтах с эффективностью ХТ и метастазированием. Эффект НХТ оказался связан со средним баллом экспрессии CD68 и SI-CLP в разных сегментах ткани опухоли в случаях с полной регрессией и в случаях с прогрессированием. Указанные ХПБ – потенциальные маркеры прогноза, предсказания и мишени для терапевтического воздействия. Показано, что ИС как единое целое может формировать различные стратегии функционирования: поддерживать опухолевую прогрессию или противодействовать ей. На этой основе создана прогностическая модель, при этом прогноз изменится на разных этапах лечения. Для повышения эффективности поиска прогностических иммунологических маркеров и мишеней для терапии следует учитывать факторы опухоли и микроокружения, гетерогенность взаимоотношений стромального и паренхиматозного компонентов. Перспективным направлением является модуляция микроокружения в первичной опухоли и нишах для противодействия опухоли, поиск комбинаций ХТ с иммунотерапией для повышения эффективности лечения. *Работа поддержана грантом РФФИ 14-15-00350.*

### **МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КСЕНОБИОТИКОВ**

**М.Г. Якубовская, К.И. Кирсанов, Е.А. Лесовая, А.М. Оглоблина, Г.А. Белицкий**

НИИ канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия

Активно развиваемой областью химического канцерогенеза в настоящее время является изучение молекулярных механизмов действия негенотоксических канцерогенов, промоторов канцерогенеза и антиканцерогенов. Это связано с прогрессом в понимании закономерностей эпигенетической регуляции экспрессии генов. Механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов включают влияние на транскрипцию, процессинг РНК и трансляцию. Особое место среди этих механизмов занимает регуляция транскрипции путем метилирования/деметиляции ДНК и модификации гистонов. Кроме того, регуляция функционирования генома осуществляется с помощью микроРНК путем ингибирования транскрипции и процессинга мРНК. В последнее время также рассматривается участие альтернативных конформаций нуклеиновых кислот в ингибировании транскрипции и трансляции. Данные по участию ксенобиотиков в процессах регуляции экспрессии генов делают актуальными вопросы тестирования соединений на эпигенетическую активность и определения эффектов эпигенетически активных соединений на процессы канцерогенеза и опухолевой прогрессии. Возможность направленной коррекции экспрессии генов на постгеномном уровне с помощью ксенобиотиков раскрывает новые подходы для поиска противоопухолевых препаратов. Особый интерес среди таких соединений представляют узкобороздочные лиганды, влияющие на вторичную структуру дуплекса ДНК. Это может оказывать эффект как на метилирование ДНК и модификацию гистонов, так и на эффективность работы ферментов метаболизма ДНК и процессы компактизации ДНК. Кроме того, эпигенетически активными являются соединения, стабилизирующие альтернативные структуры ДНК, в частности G-квадруплексы и Z-ДНК в регуляторных областях генов, оказывая влияние на профиль экспрессии. Анализ влияния ксенобиотиков на различные механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов весьма сложен, так как эпигенетические характеристики клетки динамичны, они являются тканеспецифичными, зависят от степени дифференцировки клетки, стадии клеточного цикла и т. д. В настоящее время уже предложен ряд модельных систем, основанных на выявлении как отдельных эпигенетических эффектов ксенобиотиков в системах *in vitro*, так и на оценке общего эффекта на уровень восстановления транскрипции эпигенетически супрессированных генов.

**БЕЛКИ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕТИНОВУЮ КИСЛОТУ, CRABP, В ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

**Е.М. Чевкина, И.А. Фаворская, А.В. Комельков, В.В. Делекторская, Г.Ю. Чемерис, К.Б. Соколинский, И.Б. Зборовская**  
*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

CRABP1 и CRABP2 (Cellular retinoic acid binding proteins) являются высоко гомологичными представителями семейства внутриклеточных липид связывающих белков (iLBPs). Их основная и единственно установленная на сегодняшний день функция – это связывание ретиноевой кислоты (РК) в цитоплазме клеток. Однако значение данного связывания, по-видимому, различно. Связывание CRABP2 с РК приводит к активации ядерных рецепторов (RAR/RXR), являющихся транскрипционными факторами, и последующей стимуляции экспрессии целого ряда ретиноид-респонсивных генов. Значение связывания CRABP1 с РК менее понятно. Есть свидетельства сходного действия белков CRABP1 и CRABP2 в отношении усиления эффекта РК, однако большая часть данных указывает на противоположную роль CRABP1 – снижение внутриклеточной концентрации и/или уменьшение биодоступности РК за счет усиления ее метаболизма или секвестрирования в цитоплазме. Также противоречивы данные о роли этих белков в канцерогенезе и опухолевой прогрессии – для каждого из белков есть свидетельства как опухоль-промоторной, так и опухоль-супрессорной активности. Проведенный нами на различных моделях мезенхимальных опухолей анализ функционального значения CRABP1 впервые доказал про-туморогенную и про-метастатическую активность данного белка, а также выявил конститутивно-высокий уровень экспрессии CRABP1 в синовиальных саркомах. Также опухоль-промоторная активность белка CRABP1 характерна для нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (НЭО ПЖ) – показана корреляция экспрессии данного белка с агрессивным фенотипом (низкой дифференцировкой, метастазированием в лимфоузлы и др.) данного типа опухолей. Совместное исследование CRABP1 и CRABP2 при НМРЛ выявило частое увеличение уровня мРНК и белковой продукции обоих генов и наличие достоверной корреляции между экспрессией CRABP1 и CRABP2 как на уровне мРНК, так и на уровне белка.

**ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ APP И АКТИВНОСТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗ В КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Е.Г. Кочкина<sup>1</sup>, Н.Н. Наливаева<sup>1,2</sup>, И.А. Журавин<sup>1</sup>, А.Г. Turner<sup>2</sup>** *<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>School of Biomedical Sciences, University of Leeds, U.K.*

Ацетил- и бутирилхолинэстеразы (АХЭ, БХЭ) помимо важной роли в нейротрансмиссии также обладают широким спектром некаталитических свойств. Существование разных форм холинэстераз, их субстратная специфичность и локализация определяют широкий спектр функций мозга, которые зависят от уровня экспрессии и активности этих ферментов, а их дисрегуляция может приводить к развитию разных неврологических заболеваний. В настоящее время ингибиторы холинэстераз являются одними из немногочисленных эффективных средств лечения когнитивного дефицита, связанного с патогенезом болезни Альцгеймера (БА). В основе патогенеза БА лежит повышенная продукция или дефицит катаболизма амилоидного пептида (Аβ), образующегося при расщеплении белка предшественника амилоидного пептида (APP). APP играет важную роль в развитии и функционировании мозга, что обусловлено наличием в его молекуле ряда специфических доменов, а также принимает участие в регуляции экспрессии большого числа нейрональных генов, включая АХЭ. Как нами было показано ранее, гипоксия приводит к изменению метаболизма APP и активности холинэстераз в структурах мозга крыс, коррелирующее с развитием когнитивного дефицита. Целью данного исследования было изучение влияния гипоксии на содержание APP и активность АХЭ и БХЭ в двух линиях клеток нейробластомы человека SH-SY5Y и NB7, характеризующихся разным уровнем экспрессии этих белков. Сравнение этих клеточных культур показало, что активность АХЭ значительно ниже в клетках нейробластомы NB7, обладающих более высоким уровнем экспрессии APP. Гипоксия (1% O<sub>2</sub>, 24 часа) приводила к повышению содержания APP в обеих линиях клеток, что коррелировало со снижением в них активности АХЭ. Гипоксия вызывала снижение активности как растворимой, так и мембраносвязанной форм АХЭ и БХЭ в обеих линиях клеток, а также к снижению секреции БХЭ клетками NB7. Полученные данные свидетельствуют о существовании корреляции между содержанием APP и активностью холинэстераз в нейрональных клетках в норме и при гипоксии, что расширяет наши представления о взаимосвязи метаболизма данных клеточных комплексов и их роли в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. *Поддержано частично РФФИ (16-04-00694), средствами бюджета по госзаданию (01201351571), а также Alzheimer's Research UK.*

**ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ОПУХОЛЕЙ В ВЫСОКОЧАСТОТНОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ**

**А.В. Максимюк, А.Г. Пенжоян, А.М. Мануйло, Н.В. Порханова, В.А. Минкин, В.Б. Каушанский, С.Ю. Каушанская, С.Ш. Данелян, В.А. Новикова, М.С. Карпов, А.К. Пятченко, О.М. Ширяева, Г.А. Забунян, П.Г. Овсиенко, Ю.Ю. Стефанова**  
*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар*

Целью работы явилась визуализация раковых клеток биоптатов желудка, толстой кишки, матки онкологических больных в высокочастотном электрическом поле. Объектом наблюдения явились 258 биоптатов желудка, толстой кишки, матки, участки опухоли кожи лица, губы, взятые на гистологический анализ при подозрении на злокачественное новообразование для решения вопроса об объеме оперативного вмешательства. Газоразрядную визуализацию участков биоптатов осуществляли сразу после взятия биоптата в течение 2 секунд сканером КЭЛСИ (фирма «ЭЛСИС»). Свечение сканировалось, увеличивалось встроенным в сканер микроскопом, регистрировалось фото-телекамерой (до 1000 кадров/сек) и через устройство оцифровки видеосигнала поступало в слот компьютера. Компьютерная программа воспроизводила изображение на экране монитора в виде снимков и видеоролика, строила гистограммы яркостей свечения и гистограммы длин волн. Анализировали гистограммы яркостей краевого свечения участков биоптатов, гистограммы длин волн краевого свечения (границы диапазона, диапазон). Диагноз был подтвержден результатами гистологического анализа биоптата. Статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием пакета программ: «Statistika 6,0». По данным гистологического анализа в 205 биоптатах имела место раковая опухоль 2 стадии (148 биоптатов) и 3 стадии (57 биоптатов), в остальных биоптатах доброкачественная опухоль. Во всех биоптатах в высокочастотном поле имело место краевое свечение. Наряду с краевым свечением в биоптатах раковых опухолей наблюдали очаги внутреннего свечения. Свечение охватывало всю зону раковой опухоли. Интенсивность яркости свечения раковой опухоли зависела от стадии заболевания. При 3 стадии она была больше. Интенсивность яркости свечения

раковой опухоли разной локализации в толстом кишечнике, желудке и матке достоверно не отличалась ( $p > 0,05$ ). Полученные на биоптатах результаты свечения раковых опухолей могут лечь в основу наружного или эндоскопического метода диагностики раковых опухолей за счет их визуализации в высокочастотном поле.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОБТУСТАТИНА И ЦЕЛЬНОГО ЯДА ЗМЕИ *MACROVIPERA LEBETINA OBUTUSA* НА МЫШАХ С САРКОМОЙ КРОКЕРА (S-180)**

**Н.А. Казарян, Л.А. Гуликян, А.В. Кишмирян, Г.Р. Киракосян, О.А. Назарян, Т.А. Гевондян, Н.А. Закарян, Н.М. Айвазян**  
*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, Ереван, Армения*

За последние несколько десятилетий исследования токсинов змеиных ядов дали человечеству не только новые инструменты для расшифровки молекулярных механизмов различных физиологических процессов, но и вдохновили на проектирование и разработку ряда терапевтических агентов. Обтустатин представляет из себя самый короткий известный мономерный дизинтегрин, обнаруженный в яде гюрзы (*Macrovipera lebetina obutusa*), и является специфическим ингибитором  $\alpha 1\beta 1$  интегрина. Этот низкомолекулярный пептид показал отличный терапевтический эффект на прогрессирование меланомы, а его онкостатический эффект обусловлен ингибированием ангиогенеза. Целью данного исследования является изучение влияния обтустатина и сырого яда гюрзы (MLO) на пролиферацию клеток саркомы линии S-180 *in vivo* условиях. В рамках исследования получили мышиную модель саркомы Крокера (S-180), провели гистологическое исследование и электрофорез ДНК для изучения противоопухолевого эффекта яда MLO и обтустатина. Кроме того были проведены некоторые биохимические тесты (хемиллюминесцентный анализ-ХЛ, ТБК-тест, активность супероксиддисмутазы (СОД) для выяснения влияния обтустатина и сырого змеиного яда MLO на S-180 линию саркомы. В наших исследованиях S-180 саркома в значительной степени ингибировалась ядом MLO и обтустатином со скоростью ингибиции 50% и 33%, при дозах 10 мкг/мышь и 1 мг/кг/день соответственно. В двух обработанных группах было обнаружено снижение значений хемиллюминесценции и малонового диальдегида по сравнению с контрольной группой, в то же время СОД активность уменьшается при обтустатине и значительно возрастает при лечении сырым ядом MLO. Все результаты показали, что и обтустатин и сырой змеиный яд имеют противоопухолевую активность и могут быть предложены для дизайна новых препаратов для лечения злокачественной саркомы.

### **СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЦИКЛОФИЛИНА А ЧЕЛОВЕКА И 5-ФТОРУРАЦИЛА ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**

**А.А. Калинина, Л.М. Хромых, Н.П. Маркова, И.С. Голубева, Д.Б. Казанский**  
*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

Циклофилин А (ЦФА) – убиквитарный внутриклеточный белок с изомеразной активностью. Секретируемый при инфекционных процессах и оксидативных стрессах, ЦФА является провоспалительным фактором и участвует в формировании очага воспаления. ЦФА играет важную роль в патогенезе различных заболеваний. Ранее нами было показано, что монотерапия рекомбинантным ЦФА человека (рЦФА) приводила к значительной ингибиции роста *in vivo* рака шейки матки РШМ5 и ряда других модельных опухолей. Цель исследования. Изучение действия рЦФА на рост рака шейки матки на фоне химиотерапии 5-фторурацилом (5ФУ). Материалы и методы. В исследовании использовали рак шейки матки мышей РШМ-5, который прививали самкам линии СВА. рЦФА (100 мкг/мышь) вводили подкожно через 24 часа после прививки опухоли в течение 7 дней. 5ФУ в дозе 40 мг/кг вводили дважды – через 2 и 7 суток после прививки опухоли. Эффективность терапии оценивали по показателю торможения роста опухоли (ТРО, %) по отношению к контрольной группе животных, которым вводили фосфатный буфер. Результаты. Установлено, что рЦФА в монотерапии обладал выраженным противоопухолевым действием, аналогичным действию 5ФУ и сохранялся до 17 дня после прививки опухоли, составив ТРО 50%. При одновременном введении рЦФА и 5ФУ подавление роста опухоли достигало 70% на 17 день после прививки. Сочетанное действие рЦФА и 5ФУ сохранялось до 28 дня после прививки опухоли, составив ТРО 48% по сравнению с 26% ТРО при монотерапии 5ФУ. Вывод. Выявлено синергическое взаимодействие рЦФА и 5ФУ при терапии перевиваемого рака шейки матки мышей РШМ-5, которое заключается в достоверно более сильном и пролонгированном эффекте подавления роста опухоли.

### **ФУНКЦИИ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПЕРИТОНИТЕ**

**Г.А. Демченко, С.Н. Абдрешов, Л.Э. Булекбаева** *Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Казахстан*

Перитонит в медицине является важной общепатологической проблемой, актуальность которой не снижается и в настоящее время. Представляет теоретический и практический интерес, изучение роли лимфатической системы в развитии перитонита, процессов образования лимфы при экспериментальном перитоните. Опыты проведены на 75 белых лабораторных крысах-самцах массой 220–250 г. Были сформированы 2 группы крыс, 1-ая группа – 25 крыс контрольная, 2-ая группа с острым перитонитом (50 крыс). Острый перитонит у крыс, вызывался путем введения в брюшную полость каловой взвеси из расчета 0,5 мл 10% раствора на 100 г массы тела животного. Исследования проводили, после истечения 44–48 часов после введения каловой смеси. В перитональной жидкости мы обнаружили следующие микроорганизмы: *Proteus vulgaris* group  $10^6$  КОЕ/мл; *Escherichia coli*  $10^6$  КОЕ/мл; *Enterococcus faecalis*  $10^6$  КОЕ/мл; *Staphylococcus vitulinus*  $10^6$  КОЕ/мл; *Candida inconspicua/lambica*  $10^6$  КОЕ/мл. Лимфоток при остром перитоните снижался до  $5,2 \pm 0,3$  мкл/мин 100 г (контроль  $7,9 \pm 0,2$ ). Общий белок в лимфе снижался до  $31,6 \pm 0,2$  г/л (в контроле  $42,2 \pm 0,3$ ). Мы обнаружили повышение активности  $\alpha$ -амилазы в лимфе до  $980 \pm 76$  ед., в контрольной группе было  $410 \pm 32$  ед. ( $p < 0,01$ ), в лимфе АлАТ  $0,59 \pm 0,09$  и АсАТ  $0,55 \pm 0,11$  мккат/л по сравнению с контрольной группой ( $0,15$ – $0,19$  мккат/л). Нами было отмечено, что увеличение концентрации глюкозы в лимфе у опытных крыс составила  $10,4 \pm 2,2$  ммоль/л (в контроле  $4,4 \pm 1,5$  ммоль/л). Обнаружено нарастание билирубина в плазме крови у опытных крыс. Исследования крови показали, что при перитоните у крыс количество эритроцитов и лейкоцитов повысилось на 13% и 79% (в контроле  $7,3 \times 10^6/\mu\text{L}$  и  $4,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) соответственно. Повысилось и количество лимфоцитов  $2,8 \pm 0,40 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Увеличивалось количество тромбоцитов в крови. В лимфе при перитоните лейкоциты увеличились на 24%, лимфоциты на 20%. Изменялись содержание электролитов в изучаемых биологических жидкостях. Была выявлена тенденция к снижению в крови  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$



и увеличение этих же элементов в лимфе и в моче. Перитонит приводит к угнетению иммунологической активности брыжечных лимфоузлов, вызывая достоверные патологические изменения в их структуре. Таким образом, развитие острого перитонита сопровождалось структурными преобразованиями брыжечных лимфатических узлов, что являются морфологическими критериями недостаточности дренажно-детоксикационного обеспечения в регионе лимфосбора на фоне эндотоксикоза, снижением лимфотока, повышением вязкости лимфы и крови, укорочением времени свертываемости этих жидкостей, увеличением числа тромбоцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, а в крови и эритроцитов, что ухудшало текучесть как крови, так и лимфы.

#### **НА ПУТИ К ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ**

**Е.А. Евстифеева, С.И. Филиппченкова** *Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Россия*

Принцип партисипативности как один из 4 базовых принципов персонализированной медицины понимается как участие и партнерство всех субъектов лечебного процесса, сотрудничество врачей, специалистов и пациентов, как активная, субъектная мотивированная роль пациента в профилактике возможных заболеваний и их лечении. Сегодня доминантной стала технократизация лечебной практики. Справедливо говорить о достаточно высоком уровне развития медицины, взятом в её управленческом инструментальном аспекте, о достигнутых результатах в организации здравоохранения, что подтверждается данными об организационных эффектах и широте распространения медицинских технологий. Однако обратной стороной такого вектора развития медицины является уменьшение гуманистической составляющей медицины и снижение эффективности лечения. Проблема состоит в том, чтобы остановить этот процесс дегуманизации путем восхождения к психологическому потенциалу, присущему онтологии медицины и аксиологическому вектору профессионального медицинского образования. Это достигается на теоретическом уровне способом построения психологической модели врачевания с имплицитной сборкой всех субъектов лечебного процесса и на практическом уровне – путем развития Института психологов в системе здравоохранения. Налицо амбивалентность складывающейся ситуации – хорошая организация здравоохранения снижает требования к профессионализму врача. Технократическая медицина, повышение качества медицинской диагностики не требует искусства врачевания, на чем была построена вся традиционная медицина. Особо «трагичным» оказывается то обстоятельство, что внедрение новых технологий позволяет «покрывать» недостатки индивидуальной профессиональной подготовки врача. В достижении высоких целей персонализированной медицины с ее явно выраженными намерениями учета личностного участия в предсказательности и предупредительности к заболеваниям и ведения здорового образа жизни важная роль должна отводиться психологии здоровья, раскрываемых через психологическую модель взаимодействия субъектов врачевания, идею холистического здоровья, социогуманитарные технологии. Разрабатываемая авторская психологическая модель врачевания для персонализированной медицины раскрывает новые пути и стратегии реализации ее партиципационного сегмента.

#### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП НА ЭТАПАХ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ**

**Е.Н. Плохотюк, Д.Ю. Будко** *Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия*

В настоящее время в России для лечения хронического гепатита С (ХГС) применяется комбинированная терапия пегилированным интерфероном  $\alpha 2a$  или  $\alpha 2b$  и рибавирином в течение 24-48 недель, позволяющая добиться эффекта, в среднем, у 50-60% больных. Однако побочными действиями проводимого лечения являются расстройства эмоционально-волевой сферы. Целью нашего исследования явилось проведение сравнительного анализа динамики показателей стрессоустойчивости больных ХГС разных возрастных групп на этапах противовирусной терапии. Исследование психологической составляющей стрессоустойчивости проводилось с использованием трех опросников: Симптоматический опросник «Самочувствие в экстремальных условиях» А. Волкова и Н. Водопьяновой, Шкала психологического стресса PSM-25 Лемура – Тесье – Филлиона (адаптация Н. Водопьяновой) и Шкала депрессии А. Бека. В исследовании приняли участие 94 больных ХГС в возрасте от 25 до 39 лет ( $n=59$  чел) – 1 группа; от 40 до 58 лет ( $n=35$  чел) – 2 группа. Получены следующие результаты: наблюдалось статистически значимое повышение уровня показателей невротизации, психической напряженности и показателя депрессии на этапах противовирусной терапии в обеих возрастных группах. Динамика показателей: – уровень невротизации в 1 группе возрастает от  $3,6 \pm 1,2$  до  $8,5 \pm 1,9$  баллов; во 2 группе от  $4,8 \pm 1,4$  до  $9,9 \pm 2,1$  баллов. – показатель психической напряженности в 1 группе возрастает от  $51,7 \pm 2,7$  до  $59,7 \pm 3,4$  баллов; во 2 группе от  $61,5 \pm 3,1$  до  $76,5 \pm 4,4$  баллов. – величина депрессии в 1 группе возрастает от  $2,3 \pm 1,1$  до  $5,7 \pm 1,5$  баллов; во 2 группе от  $5,0 \pm 2,2$  до  $10,4 \pm 2,9$  баллов. Полученные данные характеризуют увеличение показателей выраженности стресса у больных хроническим гепатитом С в обеих возрастных группах, что может являться результатом применения данными пациентами противовирусных препаратов. В группе больных старше 40 лет (2-ая группа) увеличение этих показателей на этапах проводимой терапии более выражено.

#### **ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ СИСТЕМНЫМИ ДЕРМАТОЗАМИ**

**К.А. Попов, Е.А. Алексеев, И.М. Быков** *Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия.*

Известно, что хронизация патологических состояний может быть ассоциирована с накоплением в организме своевременно не выведенных конечных и промежуточных метаболитов. К таким заболеваниям можно отнести хронические системные дерматозы, при которых зачастую размыты клинические проявления эндогенной интоксикации (ЭИ) в связи с тем, что накопление в крови продуктов ЭИ происходит медленно и постепенно. Однако это не означает, что организм полностью адаптирован к новым условиям функционирования. Учитывая вышеизложенное, целью настоящей работы являлось изучение выраженности ЭИ по показателям содержания молекул средней и низкой массы (МСиНМ) в эритроцитах, плазме крови и ротовой жидкости (РЖ) пациентов с атопическим дерматитом (АтД,  $n=30$ ), псориазом ( $n=30$ ) и системной красной волчанкой (СКВ,  $n=30$ ) в стадии обострения. Контрольную группу составили относительно здоровые доноры ( $n=30$ ). Содержание МСиНМ определяли по методу М.Я. Малаховой, по которому после осаждения белков раствором трихлоруксусной кислоты осуществлялась регистрация спектра поглощения оставшихся компонентов биожидкости в диапазоне длин волн от 238 до 298 нм. В ходе проведенных исследований было установлено, что у больных АтД концентрация МСиНМ была повышенной во всех изучаемых биожидкостях, в плазме на 60,1% ( $p<0,01$ ), в эритроцитах на 40,4% ( $p<0,05$ ) и в РЖ на 35,0% ( $p<0,05$ ). У больных псориазом концентрация

ция МСНМ в плазме, эритроцитах и РЖ была повышенной на 27,6%, 34,9% и 44,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Наиболее выраженные изменения в функционировании системы детоксикации выявлены в группе больных СКВ. У больных последней группы также выявлено повышение концентрации МСНМ во всех биожидкостях, в плазме – на 230,4% ( $p < 0,05$ ), в эритроцитах – на 19,8% ( $p < 0,05$ ), в РЖ – на 36,3% ( $p < 0,05$ ). Такие изменения говорят о дисбалансе в процессе детоксикации организма при хронических системных дерматозах и существенной роли данной системы регуляции гомеостаза в патогенезе развития рассматриваемых заболеваний.

### **СПЕЦИФИКА МЕЖПОЛУШАРНОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОАКТИВНОСТИ КОРЫ МОЗГА У ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С НАРУШЕНИЯМИ РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ**

**Л.А. Рожкова** *Институт коррекционной педагогики РАО, Москва, Россия.*

Современные исследования с использованием различных методов нейровизуализации свидетельствуют о преимущественной роли в патогенезе когнитивных расстройств не столько дисфункции отдельных регионов мозга, сколько аномального морфофункционального состояния сложных систем взаимодействия мозговых структур. В связи с этим нами предпринято исследование пространственно-временной организации электроактивности мозга у детей дошкольного возраста (4-7 лет) с ограниченными возможностями здоровья с целью выявления ее особенностей при нарушениях речевого развития. Анализ показателей межполушарной КоГ (МПКоГ) ЭЭГ спокойного бодрствования у этой выборки детей (147 человек) показал, что группа с речевой патологией в целом (РП; 88 человек, из них 45 с общим недоразвитием речи /ОНР/) отличается сниженной (по сравнению с группой без РП) МПКоГ ритмики (особенно альфа2 диапазона почти между всеми изученными гомологичными областями коры, тета1-альфа2 диапазона между теменными зонами). Наряду с этим у детей с ОНР выявлен повышенный уровень МПКоГ ряда частотных составляющих ЭЭГ: в тета1, тета2 диапазонах лобных, средневисочных, затылочных областей полушарий при наибольшей степени речевого недоразвития (ОНР1); в тета1, альфа2 диапазонах нижнелобных отделов при ОНР2 и затылочных зон при ОНР3. Группу ОНР1 отличает также наименьшая выраженность межрегионарных различий значений МПКоГ (в особенности при сравнении межтеменных и межзатылочных показателей, а также нижнелобных и средневисочных пар); кроме того, у детей с ОНР1 (как и с ОНР3) наблюдается инверсия передне-заднего градиента, проявляющаяся в большем уровне КоГ ряда частотных составляющих ЭЭГ затылочных зон коры по сравнению с нижнелобными. Характер (повышение/понижение), частотная и регионарная специфика изменений МПКоГ ЭЭГ, особенности ее пространственной организации рассматриваются как отражение нарушений морфо-функционального состояния систем межполушарного взаимодействия (обусловленных преимущественно перинатальной патологией ЦНС), что в значительной степени определяет структуру когнитивных нарушений, специфику речевой патологии.

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ ВИНОГРАДА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА САНАТОРНО-КУРОРТНОМ ЭТАПЕ РЕАБИЛИТАЦИИ**

**Т.А. Жмурова** *Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Таврическая академия, Симферополь, Россия*

Актуальность данной темы обусловлена перспективным направлением использования природных возможностей флавоноидов в коррекции сердечно-сосудистой патологии на санаторно-курортном этапе физической реабилитации. Целью исследования было изучение эффективности концентрата полифенолов винограда как элемента комплексной физической реабилитации больных ГБ на санаторно-курортном этапе. Исследовательская часть работы проводилась в течение 21 дня на базе МЧП «Рессфуд». В исследовании принимали участие 24 женщины 43-56 лет, с диагнозом гипертоническая болезнь II стадии. Все обследуемые были разделены на контрольную ( $n=12$ ) и основную ( $n=12$ ) группы. В контрольной группе блок коррекции включал средства физической реабилитации (ЛФК, массаж), в основной группе был включен прием концентрата полифенолов (КП). Рекомендуемые суточные дозы (три приема), составляли 0,15-0,25 мл/кг массы тела (первые 3 дня) и 0,25-0,5 мл/кг в последующем. Для оценки влияния различных комплексов использовались показатели функционального состояния сердечно-сосудистой системы, применялись методики функциональных тестов, расчет интегральных оценочных показателей. Проведенный анализ полученных данных контрольной и основной групп после курса коррекции, свидетельствует об эффективности использования продуктов функционального питания. Важным механизмом, задействованным в процессе коррекционных мероприятий является формирование механизмов компенсаций. Как известно, флавоноиды характеризуются антиоксидантными, кардио- и вазопротекторными свойствами, что определяет положительную динамику изменений функциональных показателей ( $p < 0,05$ ) и адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы обследуемых больных ( $p < 0,01$ ). На фоне сочетанного использования с массажем и ЛФК эти факторы способствуют снижению активности вегетативной нервной системы, что обуславливает оптимизацию функционирования сердечно-сосудистой системы, повышение уровня физической работоспособности ( $p < 0,01$ ) и улучшение общего соматического состояния обследуемых. Таким образом, подтверждаются лечебно – профилактические эффекты КП винограда на санаторно-курортном этапе реабилитации больных с гипертонической болезнью.

### **МЕТФОРМИН УСТРАНЯЕТ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ТОРМОЗИТ РАЗВИТИЕ ОПУХОЛЕЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ, ИНДУЦИРОВАННЫХ 1,2-ДИМЕТИЛГИДРАЗИНОМ У КРЫС**

**В.В. Бекусова, В.М. Пацановский, А.П. Трашков, В.Н. Анисимов**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; НИИ физиологии им. И.П. Павлова РАН; Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Целью работы была оценка эффективности применения антидиабетического бигуанида метформина (МФ) для профилактики канцерогенеза толстой кишки, индуцируемого 1,2-диметилгидразином (ДМГ) у крыс. Метформин вводили крысам в желудок зондом, начиная со дня 1-й инъекции канцерогена, ежедневно на протяжении 2 месяцев в дозе 100 мг/кг или 300 мг/кг массы тела. Через 6 месяцев опыт был завершен. У всех крыс, подвергнутых воздействию ДМГ, в толстой кишке развились злокачественные опухоли. Введение метформина независимо от использованной концентрации достоверно уменьшало средний размер опухолей и увеличивало относительно число высокодифференцированных опухолей по сравнению с контролем. Другие показатели опухолевого роста, такие как количество, множественность (количество опухолей на крысу), глубина инвазии, степень пораженности опухолями различных отделов кишки, были достоверно меньшими у животных, получавших

МФ в дозе 100 мг/кг массы тела по сравнению с животными, получавшими МФ в дозе 300 мг/кг массы тела. У крыс, подвергнутых воздействию только ДМГ, через 6 месяцев содержание глюкозы, общего холестерина, триглицеридов, малонового диальдегида, аланинаминотрансферазы, аспаратаминострасферазы, инсулиноподобного фактора роста 1 типа в сыворотке крови были выше, а гемоглобина и гликированного гемоглобина – ниже по сравнению с контролем. Метформин сдвигал биохимические показатели крови в направлении контрольных значений, что хорошо коррелировало с его угнетающим влиянием на процессы опухолевого роста в толстой кишке крыс.

### **ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ ЖЕЛУДКА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ**

**Н.С. Тропская, И.Г. Шашкова, Т.С. Попова** *НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия*

Изучены изменения параметров электрической активности тонкой кишки в условиях гипохлоргидрии. Исследования выполнены на 6 крысах самцах линии Вигтар, которым за 15 дней до экспериментов были вживлены иглочатые электроды в тощую кишку на расстоянии 5, 10, 15 см от связки Трейтца, а также зонд в антральную часть желудка. На протяжении 16 суток эксперимента животным ежедневно внутривидельно однократно вводили раствор париета в дозе 0,14 мг/кг. Фоновая электрическая активность тонкой кишки регистрировалась в течение первого часа. Затем в желудочный зонд вводили раствор париета и продолжали регистрацию электрической активности в течение двух часов. До и через два часа после введения париета измерялся pH содержимого желудка. На 17 сутки животных выводили из эксперимента летальной дозой наркоза. Рассчитывались основные параметры электрической активности тонкой кишки; данные представлялись в виде медианы и перцентилей. Сравнение параметров проводили с помощью критерия Вилкоксона. Результаты: До введения париета pH желудочного сока составляла 2 (2;2). Электрическая активность тощей кишки характеризовалась наличием мигрирующего миоэлектрического комплекса (ММК). Количество ММК в час составляло 3 (3; 4), период ММК – 645 (560; 743) сек, длительность фазы I – 31,2 (28,3;34)%, фазы II – 45,9 (42,9;49,6)%, фазы III – 20,9 (17,3;24,9)%, скорость распространения фазы III – 2 (1,8; 2,7) см/мин. Через 16 суток после введения париета pH желудочного сока составила 6,5 (6,5;7). Наблюдалось изменение характера электрической активности тощей кишки. На 17 сутки (перед забоем) регистрировался 1 (1; 2) ММК в час, период ММК – 590 (485; 755) сек, длительность фазы I – 14,8 (12,8;16,9)%, фазы II – 70,6 (68,2; 74,4)%, фазы III – 12,7 (12; 13,7)%, скорость распространения фазы III – 2 (1,3; 2,1) см/мин. Данные основных параметров ММК статистически значимы, кроме длительности фазы III. Вывод: при гипохлоргидрии желудка наблюдается урежение цикла ММК и уменьшение числа распространяющихся комплексов и, следовательно, частичное подавление пропульсивной перистальтики. Кроме того, наблюдалось увеличение длительности нерегулярной активности с уменьшением времени покоя, что способствовало усилению некоординированных сокращений тонкой кишки.

### **ХАРАКТЕРИСТИКИ СИСТЕМ ВНИМАНИЯ И ПАМЯТИ КАК ПРЕДИКТОРЫ ИНТЕЛЛЕКТА В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ**

**О.М. Разумникова, Н.В. Вольф**

*Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия*

Изучение закономерностей старения мозга и связанных с ним изменений когнитивных процессов и состояния здоровья становится все более актуальным, так как вместе с повышением продолжительности жизни в развитых странах встает вопрос об обеспечении ее высокого качества и сохранения активной жизнедеятельности в пожилом возрасте. Учитывая представление о том, что психометрический интеллект отражает способности к адаптации и положительно связан с жизнеспособностью (Айзенк, 1995; Batty et al., 2009; Kanazawa, 2004; Razumnikova, 2010), целью исследования стало выяснение особенностей организации когнитивных функций: интеллекта, памяти и внимания у лиц старшей возрастной группы (64,5±6,3 года, n=83) и у молодых людей (22,0±4,5 года, n=133). С использованием методов корреляционного и регрессионного анализа установлено, что универсальным предиктором уровня интеллекта независимо от возраста является скорость селекции информации в конфликтных условиях выбора ответа. В пожилом возрасте повышению уровня интеллекта соответствует меньшее время исполнительного контроля при селекции информации, тогда как для группы молодых людей связи интеллекта и систем внимания не обнаружено. При сходном для групп положительном вкладе в интеллект памяти: эффективности воспроизведения слогов в ситуации их узнавания, у пожилых дополнительно значимый вклад имело воспроизведение геометрических фигур, а также вербальная память при адресации слов левому полушарию, тогда как у молодых обнаружена положительная связь интеллекта и вербальной памяти при адресации слов правому полушарию. Временные характеристики селекции информации и узнавания запомненных стимулов у молодых связаны негативно, а у пожилых – положительно. Возрастные особенности в асимметрии воспроизведения слов и вклада этого показателя в регрессионную модель интеллекта свидетельствуют, что при старении в первую очередь нарушаются функции правого полушария, а постоянная речевая деятельность способствует лучшему левополушарному сохранению вербальной памяти. Обнаруженные возрастные особенности взаимосвязи систем внимания, памяти и интеллекта указывают на их перестройку при старении и подтверждают гипотезу «дедифференциации» в организации когнитивных функций. *Публикация подготовлена в рамках поддержанного РГНФ научного проекта № 15-06-10052.*

### **ВЛИЯНИЕ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ: СВЯЗЬ С ПОЛИМОРФИЗМОМ 5-HTTLPR ГЕНА ТРАНСПОРТЕРА СЕРОТОНИНА**

**Н.В. Вольф, Д.В. Базовкина, А.В. Куликов** *НИИ физиологии и фундаментальной медицины; Институт цитологии и генетики; Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Гетерогенность ментального старения обусловлена действием как генетических, так и средовых факторов. Среди последних важная роль принадлежит интеллектуальной деятельности. Обнаруженная связь полиморфизма 5-HTTLPR гена транспортера серотонина с эффективностью решения когнитивных задач и «адаптационный» характер одного из его генотипов послужили основой для изучения ассоциаций этого полиморфизма с возрастными изменениями когнитивных функций в зависимости от интеллектуальной среды профессиональной деятельности испытуемых. В исследовании принимали участие молодые и пожилые работающие на момент исследования ученые (научная деятельность – НД, N= 126) и люди, не связанные с научной

деятельностью (ННД, N=144). Определяли IQ с помощью теста Айзенка. В компьютеризированных экспериментах регистрировали показатели 3 форм внимания в Attention Network Test, латеральные характеристики моторного компонента ориентировочной реакции в модифицированном варианте odd-ball задачи, воспроизведение слов в дихотическом тесте, эффективность узнавания предъявленных ранее слогов и фигур. Обнаружено, что независимо от возраста испытуемые группы НД имели более высокие показатели интеллекта, бдительности, исполнительного внимания и речевой памяти по сравнению с ННД. Интеллектуальная среда оказалась фактором, препятствующим возрастному снижению левополушарной вербальной памяти. Установлено, что независимо других факторов носители S/S генотипа полиморфизма 5-HTTLPR гена транспортера серотонина, по сравнению с носителями L аллеля, обладающего высокой транскрипционной активностью, демонстрируют лучшие показатели интеллекта и образной памяти. Ассоциации полиморфизма 5-HTTLPR с показателями бдительности, ориентации и правополушарной ориентировочной реакции различались в группах НД и ННД. Таким образом, с генотипом были ассоциированы в основном показатели, связанные функциями правого полушария мозга. Обсуждается роль исходного когнитивного потенциала, средовых и генетических факторов в процессах физиологического ментального старения. *Работа выполнена при поддержке гранта РГНФ, проект N15-06-10052.*

### **ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ И ВОЗРАСТНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РЕАКЦИИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ НА ОСТРОЕ СТРЕССОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ АССОЦИИРОВАННЫ С ОСОБЕННОСТЯМИ АДАПТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ И ПИНЕАЛЬНОЙ СЕКРЕЦИИ МЕЛАТОНИНА**

**Н.Д. Гончарова** *Научно-исследовательский институт медицинской приматологии, Сочи, Россия*

Изучение особенностей реакции ключевой адаптивной гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) на острое стрессовое воздействие (ОСВ) в разные возрастные периоды у индивидов, различающихся по поведению, является одним из перспективных подходов в поиске биомаркеров повышенной уязвимости к стрессу и ускоренного старения. Цель исследования – изучение реакции ГГАС на ОСВ у индивидов разного возраста с аномальным депрессивноподобным и беспокойным поведением (DAB), а также здоровым стандартным поведением (SB) в эксперименте на самках макак резус. В опытах использовали 16 молодых (6–8 лет) и 16 старых (21–30 лет) животных, половину из которых составляли животные со SB, а другую половину – с DAB. Животных подвергали ОСВ (ограничению подвижности), тесту с AVP и антагонистом V1b-рецепторов в 15.00, а также взятию образцов крови для изучения циркадного ритма секреции мелатонина (M). Молодые животные с DAB и SB демонстрировали сходные величины подъема концентрации АКТГ и кортизола (F) в ответ на ОСВ. В то же время величины подъема АКТГ в ответ на введение AVP были существенно выше у молодых животных с DAB по сравнению с молодыми животными со SB и обратно коррелировали с концентрацией M в 22.00. Концентрация M была существенно ниже у молодых животных с DAB по сравнению с молодыми животными со SB. При старении у животных со SB значительно снижалась концентрация M, а также реакция АКТГ на ОСВ и AVP, в то время как у животных с DAB отмечалась лишь тенденция к снижению M и повышению реакции АКТГ на ОСВ и AVP. Разнонаправленность возрастных изменений в функционировании ГГАС у животных со SB и DAB приводила к формированию у старых животных выраженных межгрупповых различий в реакции АКТГ на ОСВ и AVP с более высокими показателями у животных с DAB. Были выявлены также значимые межгрупповые различия в реакции коры надпочечников на ОСВ с более низкими величинами секреции F и DHEAS и более высоким соотношением молярных концентраций F и DHEAS у старых животных с DAB. Предварительное введение антагониста V1b-рецепторов самкам с DAB приводило к снижению секреции АКТГ и повышению F в ответ на введение AVP, более выраженные у старых животных. Таким образом, старые животные с DAB наиболее уязвимы к ОСВ, что, по-видимому, обусловлено нарушениями в вазопрессинергической и мелатонинергической регуляции стресс-реактивности ГГАС.

*Исследование поддержано РФФИ, проект 15-04-07896.*

### **РОЛЬ ЦИТОКИНЗАВИСИМОГО СТАТ-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА НЕЙРОНОВ ПРИ СТАРЕНИИ**

**Е.Д. Бажанова<sup>1</sup>, В.Н. Анисимов<sup>2</sup>, Д.Л. Теплый<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова Министерства здравоохранения России, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

Одной из актуальных проблем биологии является изучение регуляции возраст-зависимого апоптоза при старении, в частности, механизмов резистентности нейронов к апоптозу при старении. Цель работы – выявить роль цитокинзависимого STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) сигналинга в механизме супрессии p53-зависимого апоптоза при физиологическом и патологическом (сверхэкспрессия онкогена HER2, рецептора эпидермального фактора роста) старении. Исследованы HER2/neu-трансгенные ускоренно стареющие мыши-самки разного возраста (2, 10 мес), дикий тип – линия FVB/N (2, 18 мес). Оценивали уровень апоптоза нейросекреторных клеток на срезах гипоталамуса, содержащих супраоптическое (СОЯ) и паравентрикулярное (ПВЯ) ядра (TUNEL). Определяли экспрессию STAT1,3,5,6, caspase-3 и белка-онкосупрессора p53 (Western blotting) в СОЯ и ПВЯ. Проведена иммуногистохимическая реакция с антителами к survivin, STAT1,5. Впервые исследовано участие STAT-пути в регуляции апоптоза нейронов при физиологическом старении и у старых мышей со сверхэкспрессией онкогена HER2/neu. Синтез антиапоптотических факторов STAT3,5,6 снижался на поздних этапах онтогенеза в нейронах гипоталамуса мышей дикого типа (FVB/N). Вероятно, при старении у мышей дикого типа снижается цитокиновая активация или активация ростовыми факторами, которые также являются лигандами STAT-семейства. Можно предположить, что супрессия STAT3,5,6, и сверхэкспрессия проапоптотического фактора STAT1, обеспечивающая активацию p53-опосредуемого апоптоза, является одной из причин увеличения количества гибнущих нейронов при физиологическом старении. У мышей HER2/neu при старении не отмечены изменения в синтезе антиапоптотических факторов STAT3,5, однако их уровень превышал таковой у мышей дикого типа, и наблюдалось повышение экспрессии STAT6. Показано, что survivin (семейство белков-ингибиторов апоптоза) играет значительную роль в резистентности нейронов к апоптозу. Итак, основную роль в цитокин-опосредуемом механизме резистентности нейронов к возраст-зависимому апоптозу играет сверхэкспрессия онкогена HER2, вызывающая активацию STAT-сигнального пути, при одновременном супрессировании проапоптотического фактора STAT1. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 15-04-00425).*

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА**

**Н.Н. Голубцова, Ф.Н. Филиппов, А.Г. Гунин** *Чувашский государственный университет, Чебоксары, Россия*

Цель исследования заключалась в выявлении механизмов клеточного старения кожи человека. Проводилось определение экспрессии ламин А, В1, В2, ламин ассоциированного полипептида (LAP-2) и серин-аргинин сплайсинг фактора 1 (SRSF1) в коже людей разного возраста: от 20 недель беременности до 85 лет. Все маркеры старения выявлялись в срезах кожи непрямым иммуногистохимическим методом. Было установлено, что количество фибробластов, содержащих ламин А, плавно уменьшалось от 90,4% до 76,9% от 20 недель беременности до 85 лет. Уровень экспрессии ламин А в ядрах фибробластов был практически постоянным от 20 недель беременности до 85 лет. В период от 20 до 40 недель беременности было выявлено 62,3% фибробластов дермы с положительной окраской на ламин В1. От рождения до 40 лет в дерме было обнаружено 41–42% фибробластов, содержащих ламин В1. В возрастном интервале от 41 до 85 лет 57–60% фибробластов дермы имели положительную окраску на ламин В1. Уровень экспрессии ламин В1 в ядрах фибробластов был снижен в период от рождения до 40 лет. Количество фибробластов, содержащих ламин В2, плавно уменьшалось от 80,6% до 68,6% от 20 недель беременности до 85 лет, а содержание ламин В2 в ядрах фибробластов было практически постоянным от 20 недель беременности до 85 лет. В период от 20 недель беременности до 20 лет было выявлено 32% фибробластов дермы с положительной окраской на LAP-2. От 21 до 40 лет в дерме было обнаружено 37,8% фибробластов, содержащих LAP-2. В возрастном интервале от 41 до 85 лет 49–51% фибробластов дермы имели положительную окраску на LAP-2. Содержание LAP-2 в ядрах фибробластов уменьшалось от 0 до 20 лет, по сравнению с эмбриональным периодом, а после 21 года постепенно увеличивалось. Было установлено, что количество фибробластов, содержащих SRSF1, плавно увеличивалось от 20 недель беременности до 85 лет. Общее число фибробластов и PCNA-положительных фибробластов в дерме уменьшалось с возрастом. Наиболее значительное снижение числа фибробластов отмечено на протяжении от 20 недель беременности до 20 лет. Результаты работы позволяют предположить участие ядерных ламин, LAP-2 и SRSF1 в возрастном уменьшении численности фибробластов в дерме человека. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-44-210018.*

**ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ В РАЗВИТИИ СОЦИАЛЬНЫХ И КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ**

**Я.В. Горина<sup>1,2</sup>, Ю.К. Комлева<sup>1,2</sup>, О.Л. Лопатина<sup>1,2</sup>, В.В. Волкова<sup>2</sup>, А.И. Черных<sup>3</sup>, А.А. Шабалова<sup>1</sup>, А.Б. Салмина<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>Кафедра биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, <sup>2</sup>НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия*

Нейродегенеративные заболевания характеризуются медленно прогрессирующей гибелью нервных клеток с нарастающей атрофией соответствующих отделов головного и/или спинного мозга, вызывая развитие когнитивных, поведенческих и двигательных расстройств. Резистентность к инсулину в ЦНС играет важную роль в развитии нейродегенерации. Поэтому выявление социальных и когнитивных нарушений, а также идентификация молекул-маркеров инсулинорезистентности (ИР), может обеспечить более глубокое понимание поведенческих изменений, наблюдаемых при нейродегенеративных заболеваниях, а также сыграть определенную роль в изучении новых терапевтических возможностей. Цель исследования – изучить социальные и когнитивные нарушения, экспрессию молекул-маркеров ИР (IRAP, GLUT 4 и др) при нейродегенерации. Объектом исследования являлись мыши линии CD1, самцы, в возрасте 2 и 12 месяцев (контроль и модель физиологического старения, соответственно); мыши линии B6SJL-Tg(APPs<sup>w</sup>FILon, PSEN1<sup>\*M146L</sup>\*L286V)6799 – генетическая модель болезни Альцгеймера. Для оценки неврологического статуса животных использовались поведенческие тесты: социальный пятипопыточный тест, приподнятый крестообразный лабиринт, тест «открытое поле», тест «черно-белая камера», тест «Fear conditioning». Анализ результатов социального пятипопыточного теста показал снижение заинтересованности особью противоположного пола у животных с моделью старения по сравнению с контрольной группой. В тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Черно-белая камера» выявлено увеличение уровня тревожности у животных с моделью старения по сравнению с группой контроля. С помощью теста «открытое поле» установлена низкая двигательная активность и повышенная тревожность в группе животных с моделью старения. Результаты теста Fear conditioning показали, что моделирование старения приводит к нарушениям ассоциативного обучения и запоминания у животных, в частности, существенно подавляется процесс консолидации памяти страха. Изучая экспрессию молекул-маркеров ИР, выявлено уменьшение экспрессии GLUT4 на фоне увеличения IRAP, ИЛ-1 и HMGB-1 в ткани головного мозга при моделировании нейродегенерации, что свидетельствует о сопряжении механизмов нейровоспаления и ИР, тем самым определяя новые подходы к направленной фармакологической коррекции заболевания. *Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-10241.2016.7).*

**СВЕТОВОЙ ДЕСИНХРОНОЗ КАК ФАКТОР РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ**

**И.А. Виноградова<sup>1</sup>, В.А. Илюха<sup>1,2</sup>, В.Д. Юнаш<sup>1</sup>, Е.А. Хижкин<sup>2</sup>, Т.А. Лотош<sup>1</sup>, Ю.П. Матвеева<sup>1</sup>, О.В. Жукова<sup>1</sup>, В.Н. Анисимов<sup>3</sup>**

*<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск; <sup>2</sup>Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск; <sup>3</sup>НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Световое загрязнение является частью современного образа жизни и рассматривается как один из ведущих экологических факторов преждевременного старения организма. Длительное избыточное освещение в ночные часы способствует угнетению мелатонинобразующей функции эпифиза и ускорению процессов старения этого органа, приводя к нарушению эндогенного суточного ритма мелатонина и снижению его концентрации в крови. Коллективом авторов проводится комплексное экспериментальное исследование механизмов старения для изучения путей увеличения продолжительности жизни, фармакологической коррекции возрастной патологии в разных модельных условиях нарушений циркадианных и цирканнуальных ритмов. Серия экспериментов включает в себя изучение влияния различных световых режимов (стандартный режим освещения, постоянное освещение, световая депривация, естественное освещение Северо-Запада России в разные сезоны годового цикла), препаратов и гормонов эпифиза (мелатонин, эпиталон) на динамику показателей биологического возраста и гомеостаза (масса

тела, функциональные периоды развития животных, потребление корма и воды, температура тела, эстральный цикл, заболеваемость, физическая работоспособность, выносливость, двигательная активность, исследовательское поведение, плодовитость, половое созревание, показатели углеводного, белкового, жирового обмена, гормональный уровень, ферментативное и неферментативное звенья антиоксидантной системы, ферменты энергообмена, уровень и морфофункциональные свойства лейкоцитов), развития возрастной патологии, онкогенеза и продолжительность жизни крыс. Воздействие постоянного освещения на исследуемые параметры изучено в разные возрастные периоды – антенатальный, ранний и поздний постнатальный.

Полученные данные свидетельствуют о том, что световое загрязнение и нарушение фотопериода приводит к возникновению десинхроноза, что, в свою очередь, ведет к развитию преждевременного старения. Таким образом, результаты экспериментов расширяют существующие представления о механизмах старения и способствуют поиску возможных путей фармакологической и нефармакологической коррекции возрастной патологии и преждевременного старения в группах повышенного риска. Работа выполняется при поддержке Программы стратегического развития ПетрГУ.

### **ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ**

**А.Ю. Ратушный, Л.Б. Буравкова** *ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются малодифференцированными клетками, Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются малодифференцированными клетками, поддерживающими во взрослом организме процессы регенерации и обновления тканей. До сих пор нет единой точки зрения об изменении дифференцировочного потенциала ММСК с возрастом, поэтому цель нашего исследования заключалась в оценке остеогенного и адипогенного потенциала ММСК при репликативном старении *in vitro*. ММСК выделяли из жировой ткани человека, культивировали в среде  $\alpha$ MEM с добавлением пенициллин-стрептомицина (1%) и 10% фетальной телячьей сывороткой в стандартных условиях (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Направленную дифференцировку осуществляли с помощью добавления в среду соответствующих индукторов. Степень дифференцировки культур в остеогенном направлении оценивали окрашиванием на щелочную фосфатазу (маркер ранней остеогенной дифференцировки) и на минерализованный внеклеточный матрикс (маркер поздней остеогенной дифференцировки). Адипоциты выявляли окрашиванием липидных включений. Оценку уровня экспрессии генов проводили методом ОТ-ПЦР в реальном времени на приборе MX3000P (Stratagene, США). Сравнивали культуры ММСК на поздних (p20-p25) и ранних (p5-p6) пассажах. Проведенные исследования показали, что индуцированная адипогенная дифференцировка значительно менее выражена в культурах на поздних пассажах в сравнении с ранними. В «старееющих» клетках, культивируемых в среде без индуктора, было выявлено 2-х кратное снижение уровня экспрессии гена PPAR $\gamma$ , являющегося фактором транскрипции и позитивно регулирующим адипогенную дифференцировку. Анализ маркеров ранней и поздней остеогенной дифференцировки показал их повышение на поздних пассажах. При этом наблюдалось повышение уровня экспрессии гена щелочной фосфатазы ALPL-1 в «старееющих клетках». Таким образом, репликативное старение ММСК приводит к увеличению их остеогенного потенциала, но при этом снижает способность клеток дифференцироваться в адипогенном направлении. Работа выполнена при поддержке программы «интегративная физиология».

### **РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ЖИТЕЛЕЙ СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА ДАГЕСТАНА**

**Д.У. Черкесова, А.И. Рабаданова, В.Р. Абдуллаев** *Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия*

Интерес к проблеме старения сохраняет свою актуальность, несмотря на длительную историю ее изучения и существование множество теорий и гипотез. Согласно современным представлениям старение представляет собой «эволюционно детерминированный биологический процесс возрастного изменения экспрессии и структуры генов». В последнее время в осмыслении процессов старения намечился переход к представлениям о регуляторных эпигенетических изменениях, влияющих на экспрессию генов. Так негативные средовые факторы инициируют в клетках оксидативный стресс, приводящий к накоплению активных форм кислорода. Свободные радикалы, образуясь в достаточном количестве, модифицируют липиды, белки, наследственный аппарат клетки, вызывают дезорганизацию энергетических процессов и апоптоз клеток. Целью работы, выполненной в рамках целевой программы «Здоровье пожилых людей Дагестана. Медико-социальное исследование» явилось изучение интенсивности перекисного окисления липидов по накоплению малонового диальдегида, активности ферментов антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы), суммарной антиоксидантной активности, спектров поглощения и собственной флуоресценции белков плазмы крови для оценки степени их окисления у лиц старческого возраста равнинных, предгорных и горных районов Дагестана. Выявлены региональные вариации показателей окислительно – антиоксидантной системы и окисленности белков плазмы крови, связанные вероятно не только со старческим возрастом, но и природно-климатическими, экологическими условиями регионов, этническими предпочтениями пищевых нутриентов и уровнем материального благосостояния.

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ УМСТВЕННЫХ НАГРУЗКАХ**

**Н.В. Харковлюк-Балакина** *Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины, Киев, Украина*

Перспективы современных геронтологических разработок направлены на решение актуальных прикладных проблем сохранения трудового потенциала на всех этапах профессиональной биографии человека. В то же время, эволюция развития научно-технических достижений человечества максимально приблизила общество к внедрению информативных технологии, однако проблема влияния "человеческого фактора" не становится менее глобальной и пересекается со многими сферами деятельности. Таким образом, целью работы была реализация способа интегральной оценки и коррекции работоспособности людей разного возраста при умственных нагрузках. Материал и методы исследования. Умственная нагрузка моделировалась с помощью компьютерного тестирования, было обследовано 295 человек в возрасте от 21 года до 74 лет. Для интегральной

физиологической оценки работоспособности человека при умственных нагрузках была разработана информационная структура, которая базируется на сочетании параметров психофизиологического потенциала и темпа старения человека. Для профилактики гипокинезии при умственных нагрузках и коррекции функционального состояния человека был использован комплекс физических упражнений в режиме рабочего дня. Результаты и выводы. Выявленные объективные возрастно-стажевые изменения параметров психофизиологического потенциала человека указывают на связь скорости возрастного регресса функциональных возможностей обеспечения эффективности труда человека с условиями трудовой деятельности и образом жизни. Свообразным критерием этих изменений служат показатели ускоренного темпа старения, связанные с функциональным состоянием кардио-респираторной системы и опорно-двигательного аппарата. Доказано, что возрастное ухудшение состояния психофизиологических функций на фоне стабилизации уровня умственной работоспособности у большинства работников после 60 лет отражает компенсаторное влияние профессионального опыта. После использования способа коррекции умственной работоспособности у 60% лиц выявлено повышение ее уровня в пределах возрастной нормы. Полученные данные убедили нас в том, что с целью преодоления последствий негативного воздействия профессиональных факторов и профилактики ускоренного профессионального старения необходимо применение корректирующих средств, что будет способствовать повышению эффективности труда персонала, в том числе лиц, находящихся в условиях повышенного нервно-эмоционального напряжения (операторы, водители, летчики и т. д.).

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДИНАМИКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ, ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ НОВОПОСЕЛЕНЦЕВ 1,2,3 ПОКОЛЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ПРИОБЬЯ**

**В.С. Соловьев, С.В. Соловьева, А.В. Белкин, А.В. Елифанов, В.Н. Дубровский, О.Л. Ковязина, О.Н. Лепунова, Д.Н. Кыров, Н.В. Турбасова, А.Б. Загайнова, Н.В. Карпов** Тюменский госуниверситет, Тюмень, Россия

В течение 40 лет кафедра изучает процесс создания адаптивного типа новопоселенцев на примере полифункциональных исследований 1,2,3 поколений новой популяции человека на Севере. Обследовали жителей г. Сургута и ближайших малых городов. Население Ханты-Мансийского автономного округа с 1955 года начала освоения нефтегазового комплекса увеличилось со 120 тыс. до 1 млн. 560 тыс. Интенсивный прирост с 1970 по 1990 г. Обозначил прирост 2 поколения, а затем третьего. Новопоселенцы обеспечили все производительные силы без учета внешней миграции. При изучении адаптации трех поколений учитывали конкретные параметры антигипоксических систем и неспецифической резистентности и их индексы у детей и взрослых 4-х возрастных групп. Определяли параметры, входящие в структуру генофонда. Наряду с субъективно здоровыми обследовались больные артериальной гипертензией, хронической обструктивной болезнью легких и их комбинацией. Многократные работы на Севере подтвердили успешность приживаемости (до 64<sup>0</sup> с.ш.) и выживаемости (севернее) новопоселенцев. Развитие новой популяции из-за стрессогенных факторов: холода, резких колебаний атмосферного давления, сухого воздуха, гелиофизических факторов поддерживает напряжение лимитирующих кислородно-энергетический гомеостаз систем кровообращения, дыхания, красной крови. Большинство обследованных имеют типичные диагнозы, но это не влияет в генеральной популяции на воспроизводство населения, производственный и интеллектуальный потенциал. При нормальном содержании кислорода в атмосфере Севера постоянная стрессорность через физиологический, психоэмоциональный и психосоциальный стресс формирует гипоксемию, названную нами ранее неспецифической. 2,3 поколения имеют признаки активизации неспецифического иммунитета, приспособительные морфофункциональные параметры роста, веса тела, сердца, легких. Многолетнее обучение физиологов-специалистов, бакалавров, магистров, аспирантов убеждает в необходимости для регуляции развития важнейшей для страны популяции подготовки адаптологов-физиологов. Портрет этой специальности у нас есть.

**АДАПТАЦИЯ ОРГАНИЗМА К ДЕЙСТВИЮ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ: ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ**

**И.И. Дигурова, А.Г. Гушин**

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Москва; Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

Исследование проведено на 376 белых беспородных крысах-самцах. Интенсивные непродолжительные нагрузки (плавание с грузом, составляющим 10% от массы тела животного) привели к позитивным изменениям: повышению индекса деформируемости и снижению индекса агрегации эритроцитов. При ортостатическом 45-минутном стрессе, 1-часовой гипотермии, 30-минутной гипертермии, иммобилизации в течение 3 и 12 часов, плавании с грузом, составляющим 7,5% от массы тела крысы, у большинства животных имела место оптимизация кровотока. Это проявлялось в изменении показателей клеточной реологии: индекс деформируемости эритроцитов снижается при высоких исходных цифрах, и повышается – при низком контрольном уровне, а значения индекса агрегации эритроцитов остаются в пределах, установленных для нормы. Ортостатический 45-минутный стресс обуславливает прокоагулянтные сдвиги в крови, приводит к уменьшению снабжения тканей кислородом. Гипоксия тканей сочетается со снижением деформируемости эритроцитов и повышением адгезивности лейкоцитов. Более продолжительный острый стресс (иммобилизация в течение 24 часов) вызывает разнонаправленность гемореологических изменений. При данном виде стрессового воздействия имеют место нарушения в коагуляционном звене гемостаза, что проявляется в повышении концентрации фибриногена. При исследовании влияния стрессоустойчивости установлено, что у животных с низкой стрессоустойчивостью наблюдались невысокие исходные значения деформируемости эритроцитов и происходило дальнейшее их снижение под воздействием стрессового фактора. При введении стимулятора альфа-адренорецепторов (мезатона) *in vitro* и *in vivo* (без последующего стресса) имели место негативные изменения микрореологических показателей. При стрессовом воздействии на фоне измененного сосудистого русла путем введения мезатона отмечены направленные на оптимизацию сдвиги микрореологических показателей крови. Выявлено, что предварительное применение блокатора бета адренорецепторов (обзидана) вызывало увеличение деформируемости эритроцитов, а использование блокатора кальциевых каналов (изоптина) предотвращало усиление адгезии лейкоцитов при ортостатическом стрессе. Установлено позитивное влияние ингибитора фосфодиэстеразы (трентала) на микрогемореологические показатели при 3-часовой иммобилизации.

**АДАПТАЦИЯ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ПРИ ПСИХЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТАУРИНА**Э.А. Аветисян<sup>1</sup>, А.А. Петросян<sup>1</sup>, М.С. Хачиян<sup>1</sup>, Н.А. Саакян<sup>2</sup>, Л.Ю. Симонян<sup>2</sup>, С.А. Шогерян<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА; <sup>2</sup>Армянский педагогический университет им. Х. Абовяна, Ереван, Армения

На белых нелинейных крысах в условиях вызова 5-и часового иммобилизационного психо-эмоционального стресса без – и на фоне введения таурина проведены острые и полухронические эксперименты. В данном фрагменте рассмотрены: нисходящее влияние паравентрикулярного ядра (ПВЯ) на нейрональные реакции ядра солитарного тракта (ЯСТ), первого звена висцеральной чувствительности, механизмы центрального управления висцеральных реакций методом математического анализа вариабельности ритма сердца (МА ВРС) и морфогистохимические изменения мозговых структур, интегрирующих и регулирующих висцеральную сферу (ПВЯ гипоталамуса и амигдала) при возникновении психо-эмоционального стресса. Изучение влияния ПВЯ на вагусные ЯСТ нейроны привело к заключению, что исследуемые нами единицы подвержены значительному ПВЯ воздействию, однако это влияние и пути реализации неоднозначны и зависят как от силы и частоты нисходящих сигналов, так и от восприимчивости солитарных нейронов к ним в разные сроки психо-эмоционального стресса. Выявлена сильнейшая централизация вегетативных показателей ВРС (ЧСС – частота сердечных, сокращений, ИВР – индекс вегетативного равновесия, ИНПС – индекс напряженности активации подкорковых систем), нормализация которых наступает на 7-й и 14-й день на фоне введения таурина. Показаны взаимодействие и взаимозависимость центральных механизмов регуляции сердечно-сосудистых реакций и значительная протекторная роль таурина, способствующая скорейшему восстановлению адаптивных свойств центрального и периферического звеньев висцеральной чувствительности при развитии длительного психо-эмоционального стресса. Исходя из полученных результатов можно заключить, что в стрессовых ситуациях происходит нарушение симпато-парасимпатического равновесия с преобладанием симпатического тонуса, что вызывает, судя по данным МА ВРС, централизацию процессов регуляции с вовлечением подкорковых структур, участвующих в нейрогуморальных механизмах адаптивных реакций, что влечет за собой повышение энергетических затрат, для восполнения которых необходимы дополнительные средства, одним из таких средств является таурин. Обсуждаются механизмы быстрой адаптации организма к стрессу.

**НАРУШЕНИЯ АДАПТАЦИИ АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ У СТУДЕНТОВ МЛАДШИХ КУРСОВ**Л.Д. Коровина, Т.Н. Запорожец *Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина*

Проведено исследование нарушений вегетативной регуляции у студентов 1-2 курсов. Сравнивали данные относительно наличия диагностированной до поступления в медицинскую академию вегето-сосудистой дистонии (15% студентов) и наличия синдрома вегетативной дисфункции по методике А.М. Вейна. Синдром вегетативной дисфункции (СВД) был определен у 68,6% опрошенных. У студентов с СВД был ниже показатель удовлетворенности жизнью ( $3,08 \pm 0,15$  балла против  $3,72 \pm 0,23$ ,  $p < 0,05$ ), выше частота нарушений сна за неделю ( $1,7 \pm 0,2$  случая против  $0,6 \pm 0,2$  случая,  $p < 0,001$ ), выше уровень патологической пораженности ( $3,6 \pm 0,2$  нозологических единиц против  $2,3 \pm 0,3$  нозологических единиц,  $p < 0,02$ ), больше случаев голодания за год ( $0,59 \pm 0,17$  против  $0,12 \pm 0,07$ ,  $p < 0,02$ ), выше уровень нейротизма ( $13,94 \pm 0,33$  баллов против  $13,94 \pm 0,33$  баллов,  $p < 0,001$ ), чем у студентов без СВД. У студентов с СВД была ниже частота употребления мяса жирных сортов ( $p < 0,005$ ), маргарина ( $p < 0,02$ ) и яиц ( $p < 0,05$ ). Анализ показателей, по которым наблюдались различия между группами студентов со СВД и без него, выявил, что высокий уровень проявлений СВД обусловлен в основном психологическими факторами и слабо связан с состоянием ВНС. У студентов с СВД чаще наблюдается метеозависимость (47,6% случаев против 16,1% у студентов без СВД,  $p < 0,001$ ), также в анамнезе чаще диагностировалась вегето-сосудистая дистония (22,8% случаев против 9,4% у студентов без СВД,  $p < 0,05$ ), у них ниже трудоспособность по результатам пробы Руфье ( $p < 0,05$ ). Наблюдалась множественная корреляционная связь выраженности СВД с количеством случаев голодания за год, с нейротизмом и с интенсивностью занятий спортом. Коэффициент множественной корреляции составил  $R = 0,60$  ( $p < 0,001$ ). Стандартизованные коэффициенты связи были для количества случаев голодания  $\beta = 0,17$  ( $p < 0,01$ ), для нейротизма  $\beta = 0,51$  ( $p < 0,001$ ), для недельной длительности занятий спортом  $\beta = -0,17$  ( $p < 0,01$ ). Студенты с патологией регуляции в анамнезе в 5 раз реже экспериментировали с голоданием ( $p < 0,05$ ).

**ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПАРАМЕТРОВ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И КОНЦЕНТРАЦИИ КОРТИЗОЛА В СЛЮНЕ В ОЦЕНКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ АДАПТАЦИОННОГО НАПРЯЖЕНИЯ СТУДЕНТОВ**С.В. Шутова *Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия*

При изучении ответных реакций организма студентов-медиков на экзаменационный стресс решалась задача сравнительного анализа информативности гормональных и вегетативных индикаторов напряжения организма. Методом многофакторного регрессионного анализа получены математические модели таких параметров как индекс напряжения (ИН), вагосимпатический индекс (ВСИ) и индекс централизации (ИЦ) вариабельности сердечного ритма (ВРС), а также концентрации кортизола (КК) в слюне. Показано, что для оценки функционального состояния студентов в целом (независимо от этапа учебного семестра), наиболее прогнозируемым является ИН сердечного ритма, однако и для этой характеристики информативность модели можно оценить лишь как удовлетворительную (статистическая значимость уравнения регрессии составляла  $p = 0,000$ , но коэффициент множественной детерминации всего 45,3%, число совпадений с прогнозом 61%). Учет интенсивности действия академического стрессора значительно повышает информативность моделей, на основе чего создан алгоритм применения различных индикаторов адаптационного напряжения, который значительно повышает их прогностическую информативность. Согласно предлагаемой схеме, на первом этапе оценки состояния адаптационных систем организма необходимо осуществить математический анализ ВРС с определением величины ИН. Если значения ИН находятся в пределах нормы, то на втором этапе исследования, для уточнения заключения, необходимо измерение КК в слюне. Если значения индекса напряжения выходят за пределы нормы, то необходимо осуществлять спектральный анализ ВРС с расчетом ИЦ. Разработанный нами подход позволяет с более высокой точностью (коэффициент детерминации до 79%, число совпадений с прогнозом до 87%) осуществить прогноз дизадаптационных нарушений и своевременное выявление преморбидных состояний организма студентов в условиях обучения в вузе.



**СИСТЕМНЫЙ ПРИНЦИП АДАПТИВНОГО РЕАГИРОВАНИЯ В ЮНОШЕСКОМ ОРГАНИЗМЕ**

Л.Д. Цатурян, А.А. Шевякова, В.Д. Перхурова, Е.В. Елисеева, Е.О. Меликбекян, Р.Х. Кувандыкова, М.О. Цатурян  
*Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия*

Основополагающими механизмами жизнедеятельности организма является системный принцип организации адаптивного реагирования на внешние и внутренние факторы. При этом, все виды приспособительной деятельности физиологических систем осуществляются посредством иерархически организованных динамических объединений. С учетом данного подхода нами проведено изучение многомерных взаимосвязей целостного организма у современных юношей. Нами обследовано 134 студента (17–21 года), проживающих на территории Ставропольского края. Выделено две группы: I группу составили 78 русских юношей (Ставрополь), II группу (n=56) – юноши армянской национальности (Пятигорск, Кисловодск). Морфологические параметры, показатели сердечного ритма в клиноположении, липидного обмена, уровня гомоцистеина (ГЦ) и периферической крови были подвергнуты корреляционному анализу Пирсона. Нами установлена весьма тесная отрицательная корреляционная взаимосвязь между холестерином липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) и уровнем ГЦ ( $r=-0,83$ ), а также положительная тесная связь между коэффициентом атерогенности и ГЦ ( $r=0,76$ ). Обнаруженные взаимосвязи иллюстрируют межсистемные взаимодействия на молекулярном уровне, постулируя закономерность: с увеличением антиатерогенных липопротеинов (ХС-ЛПВП) снижается вероятность риска развития гипергомоцистеинемии, а также подтверждая тесную взаимосвязь липидного обмена с гомоцистеиновым. В группе русских юношей при увеличении уровня аполипопротеинов-B (Апо-B) происходило увеличение ГЦ ( $r=\pm 0,81$ ), кроме того увеличение уровня Апо-B приводило к увеличению лейкоцитов ( $r=\pm 0,72$ ). В группе армянских юношей установлена взаимосвязь между показателем сердечного ритма RMSSD и аполипопротеинами А (Апо-А) ( $r=\pm 0,84$ ) и отрицательная выраженная между RMSSD и Апо-B ( $r=-0,51$ ), а также показателем сердечного ритма ULF и уровнем Апо-А. При анализе корреляционных взаимосвязей у армянских юношей с увеличением уровня общего холестерина происходило повышение уровня Апо-B и уровня ГЦ. Таким образом, при анализе корреляционных связей нами установлены разнонаправленные межсистемные взаимодействия в рамках функционирования юношеского организма. Установленные связи иллюстрируют наличие разноуровневых взаимодействий, обеспечивая динамические адаптационные реакции всех систем организма.

**ОСОБЕННОСТИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТРЕСС-РЕАЛИЗУЮЩИХ СИСТЕМ У ДЕТЕЙ ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА**

О.В. Комиссарова, Е.В. Дорохов *Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия*

В ходе исследования нами было обследовано 38 детей в возрасте от 6 до 12 лет на базе БУЗ ВО «Сомовский санаторий для детей». Исследование проводилось с письменного согласия родителей. Обследование детей включало в себя определение уровня гормона коры надпочечников (кортизола) в слюне и оценку показателей вариабельности сердечного ритма. Участники обследования были разделены на 2 группы по гендерному признаку. Каждая из этих групп была поделена на подгруппы: от 6–9 лет и от 10–12 лет. При разделении детей на возрастные группы 6–9 лет и 10–12 лет нами установлены достоверные отличия в значениях вариационной пульсометрии у мальчиков. У мальчиков 6–9 лет и 10–12 лет показатель вагосимпатического индекса был значительно выше, чем у девочек. При распределении детей на группы по величине вагосимпатического индекса и сравнении этих групп между собой в группе девочек и мальчиков симпатотоников отмечались достоверно более низкие значения общей мощности волн по сравнению с девочками и мальчиками нормо- и ваготониками. Отмечалось увеличение показателей амплитуды моды и уменьшение вариационного размаха, что привело к повышению индекса напряжения и росту активности симпатического отдела вегетативной нервной системы со значительным напряжением регуляторных систем. В группе нормотоников и у девочек, и у мальчиков отмечались более высокие показатели мощности волн высокой частоты. Корреляционный анализ в группе девочек выявил слабые отрицательные корреляционные связи между уровнем кортизола и такими показателями спектрального анализа как мощность волн низкой частоты и общей мощностью волн и слабую положительную корреляционную связь с вагосимпатическим индексом. Корреляционный анализ в группе мальчиков выявил слабую отрицательную корреляционную связь между уровнем кортизола и индексом напряжения и слабую отрицательную корреляционную связь между уровнем кортизола и вагосимпатическим индексом.

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

А.А. Ковалева, М.А. Скедина, М.Г. Потапов

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

При исследованиях функционального состояния (ФС) у лиц экстремальных профессий в качестве возможных индикаторов рассматривались самые разнообразные электрофизиологические показатели, отражающие работу сердечно-сосудистой, центральной нервной системы (ЦНС), вегетативные и биохимические сдвиги. ЦНС обуславливает как восприятие окружающей среды, так и взаимодействие с ней, поэтому при исследовании особенностей деятельности лиц экстремальных профессий для оценки ФС ЦНС используются показатели электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Достижение адаптации в экстремальных условиях осуществляется, прежде всего, за счет перестройки энергетических обменных процессов, в следствии чего актуальным является исследование метаболической активности мозга в данных условиях. Изменение функциональной активности головного мозга сопровождается сдвигом церебрального энергетического обмена, отражением которого является такой показатель как уровень постоянного потенциала (УПП). Спонтанная электрическая активность мозга, являющаяся основой ритмов ЭЭГ, протекает на фоне медленно меняющейся метаболической активности УПП. Синхронная регистрация ЭЭГ и УПП, дополненная простыми психологическими и психофизиологическими тестами – цветным тестом Люшера (длинным) и оценкой простой зрительно-моторной реакции показала, как общие закономерности, так и индивидуальные особенности изменения ФС ЦНС под действием стрессовых факторов среды обитания в таких проектах как «Марс-500» со 105 и 520 суточной изоляцией, «Климат» с 30 суточном пребыванием обследуемых в измененных условиях микроклимата. Полученные результаты выявили наиболее характерные признаки развития стресс-реакции, что позволяет более тонко оценить не только индивидуальные особенности церебральной нейродинамики и текущее ФС ЦНС, но и дать некоторый вероятностный прогноз по его изменению в экстремальных условиях.

**ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ФОРМЫ АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА К ВЫСОКОГОРЬЮ****Ф.А. Шукуров** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Изучение адаптационных возможностей организма к высокогорью является важнейшим направлением экологической физиологии. Определяющим фактором воздействия на организм в условиях высокогорья является пониженное парциальное давление кислорода. Высотный порог, вызывающий соответствующие сдвиги в организме человека, зависит от индивидуальных особенностей, пола и возраста людей, их физического и психического состояния, уровня тренированности, наличия «высотного опыта». Целью исследования явилось изучение индивидуальных особенностей адаптации человека к высокогорной гипоксии по состоянию автономной нервной системы. Нами обследовано 230 человек: жители низкогогорья (ЖН – Душанбе, высота 840 м над ур. м), временные жители (ВЖ) высокогорья с различным сроком (от 3 дней до 18 мес.) проживания на высоте (пос. Мургаб Восточного Памира, высота 3660 м над ур. м) и местные жители высокогорья (МЖ). Всем обследованным регистрировали 2 мин запись ЭКГ во втором отведении с последующим математическим анализом по специальной программе. Анализ корреляционных ритмограмм (КРГ) в покое позволил выделить три типа: 1 тип имеет вид эллипса, характеризуется достаточно высоким вариационным разбросом и высокой степенью корреляции (0,8–0,9), встречается на равнине у здоровых людей; 2 тип – эллипсоидальная форма теряется, отражая более стабильный ритм – у здоровых людей в условиях низкогогорья отмечается при физических нагрузках; 3 тип – отражает минимальную степень корреляции (0,16–0,2) и обладает большой степенью разброса, в условиях низкогогорья у здоровых людей не встречается. Каждый тип КРГ отражает ту или иную фазу адаптации: второй тип – аварийной фазе; третий тип – переходной фазе; первый тип – стабильной фазе. Нами установлено, что частота встречаемости типов КРГ зависит от срока проживания: наибольшее количество лиц со 2 типом наблюдается в короткие сроки (до 3 мес) режим в аварийной фазе адаптации, при более длительном сроке пребывания (4–6 мес) характерным является 3 тип – режим в переходную фазу адаптации; при сроке более года увеличивается число лиц с 1 типом – стабильная фаза.

При изучении волновой структуры сердечного ритма автокоррелограммы (АКГ) можно сгруппировать на 4 основные вида: 1) на АКГ отмечаются дыхательные волны (ДВ); 2) отмечаются медленные волны (МВ); 3) преобладают высокочастотные колебания, быстрые волны (БВ); 4) нет определенной периодики (шумовые колебания). При сравнении АКГ с описанными ранее видно, что в наших исследованиях определяется новый тип АКГ в условиях высокогорья – БВ. Эти волны отмечались только у жителей высокогорья, количество лиц с этими волнами увеличилось по мере увеличения высоты – наибольшее количество этих волн отмечались в условиях высоты 4300 и 4700 м над ур. м.

Сравнительный анализ видов АКГ с физической работоспособностью (ФР) нами отмечено, что у лиц с четкими ДВ на АКГ и наименьшая ФР – у лиц с шумовыми колебаниями. Таким образом, анализ типов КРГ и волновой структуры сердечного ритма у людей с различным сроком проживания на большой высоте показывает, что эти показатели можно использовать для оценки эффективности адаптации к условиям высокогорья с учетом индивидуальных особенностей организма.

**ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ В КРЫМСКОМ РЕГИОНЕ****Е.В. Евстафьева, В.В. Белалов, А.М. Богданова, С.А. Зинченко, С.Л. Тымченко, И.А. Евстафьева, Г.П. Нараев, Н.А. Сологуб***Медицинская академия имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета им. С.И. Вернадского; Министерство экологии и природных ресурсов Республики Крым, Учебно-научный центр «Экопарк», Симферополь, Россия*

В докладе излагаются основные результаты многолетних комплексных медико-экологических исследований по оценке экологического риска для здоровья населения Республики Крым, которая позволяет перейти от рассмотрения отдельных аспектов воздействия антропогенных факторов среды к обобщенным оценкам и представлениям о последствиях для здоровья населения социально-экономического развития территорий и превентивному управлению и снижению рисков. Приводится теоретическое обоснование применяемых подходов, как отечественных и международных, так и авторских, результаты их апробации для оценки популяционного и индивидуального здоровья в мониторинговых исследованиях разного уровня. По данным медицинской статистики анализируется динамика болезненности населения за 20-летний период, оценивается относительный риск в разных городах и административных районах для общей заболеваемости и ряда наиболее экологически зависимых заболеваний (врожденные аномалии, онкология, заболевания дыхательной системы). Приводятся результаты типизации территорий по нозологическому профилю. Обобщены ведомственные данные и данные собственных полевых исследований экологической ситуации в крымском регионе в отношении таких приоритетных загрязнителей окружающей среды как тяжелые металлы, пестициды, окислы азота и серы. Оценено влияние некоторых из них на состояние популяционного здоровья и функционирование различных систем организма. Продемонстрирована недостаточность традиционных подходов в изучении региональных медико-экологических проблем, указывается на необходимость использования биогеохимических подходов, позволяющих оценить фундаментальные аспекты взаимодействия организма человека с окружающей средой, а также физиологических походов в изучении аспектов адаптации к техногенной трансформации среды. Обозначены подходы к оценке экологического риска для индивидуального здоровья как важного инструмента исследования и управления адаптацией в условиях интенсивного загрязнения среды обитания. Охарактеризованы перспективы ее использования для экологической реабилитации в системе санаторно-курортного лечения и практической медицины. Обозначены дальнейшие шаги в последовательном продвижении в решении медико-экологических задач и оценки экологического риска для здоровья в Республике Крым.

**ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕЗАДАПТАЦИИ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ НАСЕЛЕНИЯ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ НАПРЯЖЕННЫХ РЕГИОНАХ****П.А. Иванов, Д.М. Никулина, В.Н. Пекин, М.Ю. Мартиросов, А.В. Пономарев, Е.О. Клопнев***Астраханский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Астрахань, Россия*

Экологическое неблагополучие регионов имеет природный и антропогенный генезис. Астраханская область (АО) отличается резко континентальным климатом с длительной солнечной радиацией, а также повышенной техногенной нагрузкой, в первую очередь, за счет газодобывающей и газоперерабатывающей промышленности. На этом фоне при обсуждении результатов профилактического скрининг-обследования возникает вопрос об информативности стандартного лабораторного протокола для выявления латентных форм заболеваний или преморбидного состояния организма. Однако до сих пор отсутствие

симптомов, необходимых для постановки диагноза, дает основание отнести пациента к категории здоровых или практически здоровых лиц, несмотря на наличие факторов риска. В концепции профилактической медицины лабораторные методы незаслуженно занимают второе место после функционального и аппаратного обследования, хотя молекулярные изменения предшествуют появлению морфофункциональных расстройств. Для выявления слабо выраженных изменений гомеостаза, формирующихся в организме при постоянном воздействии малых доз вредных факторов окружающей среды, проведен объемный сравнительный анализ результативности 28 традиционных и дополнительных лабораторных показателей, включенных в оригинальный протокол. Для комплексной оценки воздействия региональных природно-антропогенных геосистем на организм человека при профилактическом обследовании детского и взрослого населения АО проводили анализ статистических данных, а также использовали современные информационные технологии медицинской географии. По результатам врачебного осмотра и лабораторных анализов составляли заключение по каждому из обследованных, формировали характеристику общих тенденций или устойчивых изменений здоровья в данной группе. Показано, что лабораторный скрининг позволяет выявить скрытые вялотекущие формы воспаления, иммунодефицитные состояния, готовность организма к формированию аллергических реакций, скрытую анемию и гипоксию. Достоверные отклонения от референс величин информативных показателей гомеостаза у практически здоровых лиц при отсутствии жалоб и симптомов заболеваний свидетельствуют об истощении резервов адаптации или о напряжении адекватного функционального звена и готовности организма к развитию заболеваний, связанных с нарушением этой функции.

### **ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНОВОЙ КОРРЕКЦИИ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ МЛАДШИХ КУРСОВ ВУЗА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ**

**А.В. Никулина, А.А. Шуканов** *Чувашская государственная сельскохозяйственная академия, Филиал Санкт-Петербургского государственного экономического университета в г. Чебоксары, Чебоксары, Россия*

Цель работы – оценить воздействие препарата «Селенес+» на характер изменений гемодинамической системы студентов 1-2 курсов. В лонгитюдном исследовании приняли участие 30 студентов высшей школы технической специальности, разделенные на три группы. Студентам на 1 и 2 курсах дважды в год за месяц до экзаменационной сессии назначали плацебо (II группа) и биогенное соединение «Селенес+» (III группа) согласно рекомендациям Министерства здравоохранения и социального развития РФ перорально по 1 драже ежедневно; юноши I группы являлись группой контроля. На протяжении 1-2 курсов, приходящихся на периоды срочной и долговременной адаптации организма к условиям обучения в вузе, у студентов определяли фундаментальные гемодинамические параметры – АДс, АДд, ЧСС, с последующим расчетом индекса типа саморегуляции кровообращения (ТСК, у.е.) и коэффициента экономичности кровообращения (КЭК, у.е.). В период исследований показатели АДс, АДд, ЧСС студентов сравниваемых групп находились в пределах колебаний возрастной физиологической нормы. По величине ТСК юноши были отнесены к группе индивидуумов с сердечно-сосудистым типом саморегуляции кровообращения ( $92,93 \pm 3,14 - 109,52 \pm 3,23$  у.е.). В периоды экзаменационных сессий была выявлена тенденция снижения данного параметра, что свидетельствует об усилении роли сердечной регуляции функций во время учебного стресса и угнетении функциональных резервов организма изучаемой студенческой молодежи. Для студентов исследуемых групп был характерен рост КЭК во время экзаменационных сессий с дальнейшим снижением в течение теоретического обучения. При этом относительно высокий уровень эффективности кровообращения был обнаружен только у юношей, принимавших «Селенес+», особенно между сессиями. У испытуемых остальных групп зафиксировано выраженное превышение существующей нормы (2500-3000 у.е.) до  $4578,50 \pm 338,24 - 5387,50 \pm 353,88$  у.е., подтверждающее снижение эффективности гемодинамических функций и адаптивных возможностей системы кровообращения организма в целом. Таким образом, выявлена взаимосвязь между использованием студентами младших курсов испытываемого селенорганического соединения и особенностями динамики функционального состояния системы кровообращения как важного компонента обеспечения гомеостаза.

### **ТИПЫ ВНД И ТРЕВОЖНОСТЬ СТУДЕНТОВ ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**

**А. Ганиева, З. Мирзоева** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Целью исследования явилось провести сравнительный анализ между типами ВНД, видами тревожности у студентов в процессе их обучения и при эмоциональном стрессе. Нами было обследовано 395 студентов в процессе их обучения. Типы ВНД определяли при помощи теста Айзенка, а тревожность – при помощи цветового теста Люшера и Тейлор, при помощи которого можно выделить виды тревожности: социальная, нервная и соматическая. Наши исследования показывают, что у каждого четвертого из обследованных (23,3%) не удалось определить тип ВНД, так как у них либо по шкале экстраверсии, либо по шкале нейротизма было 12 баллов. Каждый третий из обследованных (35,3%) был нестабильным интровертом (меланхолик по Гиппократу, слабый тип по И.П. Павлову). Каждый четвертый из обследованных (23,3%) был нестабильным экстравертом (холерик по Гиппократу, сильный, подвижный и неуравновешенный по И.П. Павлову). Каждый десятый из обследованных был сильным, уравновешенным и малоподвижным (флегматик по Гиппократу, сильный, малоподвижный и уравновешенный по И.П. Павлову). Лишь каждый 16-й из обследованных (6,1%) были стабильными экстравертами (сангвиник по Гиппократу, сильный, подвижный и уравновешенный по И.П. Павлову). У всех студентов перед итоговым занятием (эмоциональном стрессе) определяли виды тревожности. Обнаружено, что нормальная тревожность присутствует лишь у 2,5% студентов; повышенная – у 19,2%; высокая – у 78%, из них 13,3% проявляют очень высокую тревожность от 30 до 36 баллов.

У студентов с повышенной тревожностью 80% за счет нервного компонента и 20% – за счет социального, с высокой тревожностью 89% за счет нервного компонента и у 11% – за счет социального компонента, с очень высокой тревожностью 64% за счет нервного компонента и у 36% – за счет социального компонента. Превалирование нервного компонента тревожности можно объяснить тем, что при эмоциональном стрессе под влиянием многочисленных социальных, психогенных, психологических факторов равновесие душевного состояния человека может нарушиться. И в связи с этим возникает тревожное состояние, дискомфорт, настороженность без признаков угрозы. Следует отметить, что у студентов с высокой и очень высокой тревожностью очень велика доля неадекватной самооценки. Сравнительный анализ тревожности со средними значениями экстраверсии-интроверсии (Э), нейротизма (Н) и отношения Э/Н показывает, что у студентов с нормальной тревожностью по-

казатель экстраверсии является наиболее выраженным – 19 баллов, а у студентов с очень высокой тревожностью этот показатель самый низкий и составляет 9,7 балла. Динамика отношения Э/Н наиболее выражена у студентов с нормальной тревожностью – 1,68 и наименьшее значение этого показателя обнаружено у студентов с очень высокой тревожностью – 0,68.

Таким образом, у обследованных лиц устойчивых к эмоциональному стрессу отношение Э/Н больше 1 и они являются наиболее адаптируемыми к новым условиям жизни. Анализ структуры повышенной, высокой и очень высокой тревожности показывает, что ведущим компонентом является нервная тревожность. При этом отсутствуют студенты, у которых проявление тревожности происходит за счет соматического компонента.

## **ПСИХОВЕГЕТАТИВНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРЕССА И АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СТУДЕНТОВ**

**Г. Гулова**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Непрерывный рост научной информации, ограниченное время на ее переработку, несовершенный режим и методы обучения, ориентированные на заучивание огромного материала, порождают дисгармонию в развитии личности. Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного анализа психовегетативной характеристики стресса, адаптационных возможностей студентов с их успеваемостью. Обследовано 173 студента. Психологическую характеристику эмоционального стресса определяли по уровню тревожности при помощи теста Люшера. Вегетативную характеристику оценивали по выраженности тахикардии путем автоматической регистрации пульса. Для оценки адаптационных возможностей обследовано 40 студентов в условиях низкогогорья (Душанбе, высота 840 м над уровнем моря) и высокогорья (озеро Искандеркуль, высота 2400 м над ур. моря). Определяли основные статистические показатели вариабельности сердечного ритма. В результате исследования нами выделено четыре степени стресса: 1) по психическому статусу (выраженности тревожности): I ст. (нормальная тревожность) – 0-2 балла; II ст. (умеренная тревожность) – 3-4б; III ст. (повышенная тревожность) – 5-7б; IV ст. (высокая тревожность) – 8 и более; 2) по вегетативному статусу (выраженности тахикардии): I ст. – до 60 уд/мин; II ст. – 61-80; III ст. – 81-100; IV ст. – 100 и более. Сравнительный анализ тревожности с выраженностью тахикардии показывает, что у большинства лиц с нормальной тревожностью отмечается выраженная тахикардия (46% с ЧСС 81-100 уд/мин; 38% – с ЧСС более 100 уд/мин) и лишь у 16% обследованных ЧСС до 80 уд/мин (2% до 60 уд/мин и 14% 61–80 уд/мин). С увеличением степени тревожности увеличивается количество лиц с ЧСС более 80 уд/мин. У лиц с умеренной тревожностью с ЧСС более 80 уд/мин 90% (43% с ЧСС 81–100 уд/мин; 47% – с ЧСС более 100 уд/мин). У 89% обследованных лиц с повышенной тревожностью ЧСС более 80 уд/мин (44% с ЧСС 81–100 уд/мин; 45% с ЧСС более 100 уд/мин). У всех обследованных с высокой тревожностью ЧСС более 80 уд/мин (33% с ЧСС 81-100 уд/мин; 67% с ЧСС более 100 уд/мин). Отмечается четкая зависимость между статистическими показателями и адаптационными возможностями организма. Сравнительный анализ статистических показателей у студентов с адаптационными возможностями в условиях высокогорья показывает, что «плата» за адаптацию достаточно низкая у лиц с высоким значением коэффициента корреляции между последующими и предыдущими кардиоинтервалами, вариационного разброса, моды и низким значением амплитуды моды: они достаточно легко справились с пешим походом в окрестностях Искандеркуля протяженностью в 12 км. Таким образом, наши исследования показывают, что статистические показатели сердечного ритма можно успешно использовать для количественной и качественной характеристики адаптационных возможностей организма при действии стресса и своевременно диагностировать донозологические состояния организма в случае несоответствия степени стресса с его функциональным резервом. Установлено, что лица с нормальной тревожностью, но с выраженной тахикардией не адаптированы к стрессу. У лиц с повышенной и высокой тревожностью и выраженной тахикардией отмечается высокая степень напряжения регуляторных механизмов

## **ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ УСИЛЕНИИ СОЦИАЛЬНОЙ И КЛИМАТОГЕОГРАФИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИОННЫХ НАГРУЗОК**

**И.В. Муравьева**

*Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия*

Усиление процессов международного сотрудничества, повышение академической мобильности и престижность российского образования привели к существенному приросту доли иностранных граждан, обучающихся в российских вузах. В процессе обучения в другой стране студенты находятся под влиянием ряда стрессорных факторов, вызывающих колоссальное напряжение функциональных систем. Целью исследования являлось выявление особенностей адаптационных реакций и функционального состояния центральной нервной системы студентов при влиянии социальной и климатогеографической адаптационной нагрузки разной степени на начальных курсах обучения.

В ходе работы обследовались студенты ТГУ им. Г.Р. Державина (126 российских и 76 иностранных). С помощью пакета тестов «Ягуар» («Effecton», Москва) регистрировали время и ошибки сенсомоторных реакций (СМР) в различных условиях их реализации. Для оценки психоэмоционального состояния использовали показатели уровня агрессии; уровня самочувствия, активности, настроения. Индикатором адаптационного напряжения считали уровень саливарного кортизола. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ «Statistica 10.0». Установлено, иностранные студенты отличались меньшей скоростью простых СМР, что говорит о негативных сдвигах в сфере активации структур мозга. Различия в характеристиках сложных реакций свидетельствуют о меньшей скорости и точности процессов анализа сенсорных стимулов, эффективности обработки поступившей информации в группе иностранных студентов. Получены различия в психоэмоциональной сфере, так у иностранных студентов показателей самочувствия, активности, настроения были более высокими, а уровень агрессии – низким, что на фоне повышенных концентраций кортизола, вероятно, свидетельствуют об активации стресслимитирующих систем организма.

Таким образом, сочетанное влияние социальных и климатогеографических адаптогенных факторов способствует снижению эффективности сенсомоторного взаимодействия и устойчивости к дефициту времени, а также повышению уровня кортизола у иностранных студентов, что в целом отражает напряжение функционального состояния центральной нервной системы.

**ОЦЕНКА ХАРАКТЕРА ПИТАНИЯ СТУДЕНТОВ МЛАДШИХ КУРСОВ****Е.В. Елисеева, Л.Д. Цатурян, В.Д. Перхурова, В.А. Смирнова***Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия*

Адаптация человека к новым условиям после поступления в вуз – многофакторный процесс, одним из аспектов которого является пищевая адаптация. Рациональное питание представляет собой максимально сбалансированное сочетание в рационе человека белков, жиров, углеводов и оптимальный уровень калорийности. Питание имеет не только биологическое и медицинское, но и большое социально-экономическое значение. От того, насколько правильно питается человек, зависит его физическая и умственная деятельность, определяются возможности адаптации, зависит продолжительность и качество жизни. Целью работы явилась оценка характера, качества и энергетической ценности питания студентов после поступления в вуз. На основании разработанных анкет проведен анализ характера и качества питания студентов медицинского университета. В анкетировании приняли участие 48 студентов в возрасте от 18 лет до 21 года. После поступления у трети студентов отмечено снижение веса в среднем на 2 кг, у 40% опрошенных вес увеличился в среднем на 5 кг, у остальных вес не изменился. Все студенты отметили снижение своей физической активности в связи с высокой учебной нагрузкой. Кратность приема пищи у анкетированных студентов варьирует от 2 до 4 раз в сутки, при этом после поступления данный показатель уменьшился, респонденты отмечают не соблюдение ими норм рационального питания. При расчетах пищевых рационов выявлено повышение калорийности блюд при одновременном снижении содержания белков и жиров (белков до 40–50 г, жиров – 34–55 г). Калорийность блюд составила 880–1300 ккал (при норме в соответствии с уровнем активности 2000–2450 ккал). На основании полученных результатов можно заключить, что характер, качество и ценность питания студентов после поступления в вуз ухудшилось, отмечен дисбаланс основных пищевых ингредиентов. В целях лучшей адаптации к учебному процессу студенты младших курсов нуждаются в рекомендациях по организации рационального питания.

**ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РЕАКЦИИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ У СТАРЫХ ОБЕЗЬЯН В ОТВЕТ НА ПОВТОРЯЮЩЕЕСЯ МЯГКОЕ СТРЕССОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ****О.А. Чигарова, Н.Д. Гончарова** *НИИ медицинской приматологии, Сочи, Россия*

Известна неодинаковая чувствительность индивидов к стрессовым факторам и стресс-зависимой патологии. Чрезвычайно актуальны исследования, изучающие индивидуальные особенности реакции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС), ключевой нейроэндокринной адаптивной системы, на стрессовые воздействия (с.в.). Цель – изучение особенностей реакции ГГАС на повторяющееся мягкое психоэмоциональное с.в. в эксперименте на лабораторных приматах, различающихся по типу адаптивного поведения. В эксперименте участвовало 12 старых (23–28 лет) самок макак резус: 6 животных со здоровым контрольным (стандартным, SB) и 6 животных с депрессивноподобным и беспокойным поведением (DAB). Животных подвергали ограничению подвижности (нежесткая иммобилизация на 2 ч в сутки в 15–00) в течение 10 последовательных дней. Образцы крови брали до (0 мин), через 30, 60, 120, 240 мин после начала воздействия на 1-е и 10-е сутки. В плазме крови измеряли содержание кортизола (F) и дегидроэпиандростерона сульфата (DHEAS) иммуноферментными методами. В ответ на с.в. на 1-е сутки концентрация F и DHEAS возрастала у животных обеих групп. На 1-е сутки с.в. отмечались межгрупповые различия в базальных уровнях (б.у.) и площади ответа DHEAS, с более низкими значениями у животных с DAB. На 1-е сутки с.в. наблюдались межгрупповые различия в соотношении молярных концентраций F и DHEAS (F/DHEAS) как в б.у., так и в ответ на с.в., с минимальными значениями у животных со SB. На 10-е сутки с.в. у животных обеих групп выявлялась тенденция к ускоренной реакции коры надпочечников по сравнению с её стресс-реакцией на 1-е сутки. На 10-е сутки с.в. у животных с DAB величина подъема концентрации F была ниже через 120 и 240 мин после начала с.в. по сравнению с величиной подъема концентрации F на 1-е сутки. На 10-е сутки исчезли межгрупповые различия в уровне DHEAS, как в б.у., так и в ответ на с.в.. F/DHEAS на 10-е сутки с.в. проявлял тенденцию к снижению у животных обеих групп, как в б.у., так и в ответ на с.в., причем наиболее значимым данное снижение было у животных с DAB. Таким образом, в ответ на мягкое повторяющееся с.в. кортикостероидный дисбаланс улучшается у животных обеих групп. Наиболее выраженное улучшение наступало для животных с DAB, хотя показатели функции коры надпочечников оставались оптимальными у животных со SB.

**ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА НА РАЗЛИЧНЫЕ ПО ПРИРОДЕ И ПАРАМЕТРАМ СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ****В.И. Киселёв<sup>1,2</sup>, А.А. Блажко<sup>1</sup>, С.В. Москаленко<sup>1</sup>, О.В. Алексеева<sup>1</sup>, Ю.А. Бондарчук<sup>1</sup>, В.М. Вдовин<sup>1,2</sup>, Н.А. Лычёва<sup>1,2</sup>, Т.Г. Моисеева<sup>1</sup>, В.Ю. Николаев<sup>1,2</sup>, М.Н. Носова<sup>1</sup>, О.М. Улитина<sup>1</sup>, Г.Ю. Шатило<sup>1</sup>, И.И. Шахматов<sup>1,2</sup>** *<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул; <sup>2</sup>НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

В работе представлены результаты комплексных исследований по выявлению особенностей адаптивных реакций системы гемостаза в ходе приспособления к различным по своей природе стрессорам: психоэмоциональное напряжение, физическая нагрузка, иммобилизация, гипо- и гипертермическое воздействие, гиперкапническая и гипобарическая гипоксия различной интенсивности и длительности в ответ как на однократное, так и на повторяющиеся стрессорные воздействия. Эксперименты выполнены на крысах линии Wistar. Все исследования проведены с учётом биоэтических правил. Были выявлены общие закономерности реагирования системы гемостаза на различные по своей природе стрессоры, характерные для «срочной», «долговременной» адаптации, а также для дизадаптивных проявлений, развивающихся в ответ на различные стрессорные воздействия. Установлено, что кратковременные стрессорные воздействия, находящиеся в рамках эустресса, характеризуются такими проявлениями «срочной» адаптации, как содружественное повышение свёртывающей и фибринолитической активности плазмы крови. Гемостазиологическими критериями дистресса следует считать рассогласованность в ответной реакции со стороны отдельных её звеньев (угнетение противосвёртывающей и фибринолитической активности на фоне тромбинемии и признаков внутрисосудистого свертывания). «Долговременная» адаптация системы гемостаза к действию стрессора характеризуется восстановлением содружественной активации свёртывающей и фибринолитической систем крови при исчезновении признаков угрозы развития тромбоза, наблюдавшихся как при однократном действии дистрессора. Предварительный курсовой приём пантогематогена и элеутерококка, равно как и предшествующий 30-дневный курс физических тренировок, устраняют проявления состояния тромботической готовности, формирующегося при действии однократных сверхпороговых стрессоров.

**РОЛЬ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ СЕНСОРНЫХ ПОТОКОВ В КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССА АДАПТАЦИИ У СТУДЕНТОВ****Э.С. Геворкян, С.М. Минасян, Ц.И. Адамян, Н.Н. Ксаджикян** *Ереванский государственный университет, Ереван, Армения*

В последние годы в научной литературе широко обсуждаются вопросы, касающиеся механизмов адаптации функциональных систем организма студентов к комплексу специфических для учебного процесса факторов. Гигиенисты и физиологи располагают целым арсеналом методов по немедикаментозной оптимизации функционального состояния организма. Среди них особое место занимает метод ароматерапии. В связи с этим нами изучено влияние ингаляции маслом лаванды на психофизиологические показатели и активность регуляторных механизмов ритма сердца студентов Ереванского госуниверситета в процессе учебной деятельности. Каждый испытуемый обследовался до и после ароматерапии. Оценка вегетативной регуляции ритма сердца осуществлялась кардиоритмографической программой в соответствии с международными стандартами. Показатели спектральной мощности волн оценивались в диапазоне VLF%, LF%, HF%. При исходном обследовании было установлено, что большинству испытуемых были свойственны признаки функционального напряжения. После 15-минутной экспозиции маслом лаванды у испытуемых наблюдалось понижение степени психоэмоционального напряжения, улучшалось самочувствие, повышалась работоспособность. Анализ динамики спектральных показателей сердечного ритма в этот период выявил достоверное повышение суммарной мощности общего спектра ритма сердца (TP) на 47,7%, незначительное увеличение спектра волн низко- и очень низкочастотного диапазона (LF и VLF), повышение в общей структуре на 87,5% спектра высокочастотного компонента (HF) и смещение симпатно-вагусного (LF/HF) баланса в сторону нормотонии. Наблюдаемые сдвиги свидетельствуют об уменьшении централизации управления сердечным ритмом, а также повышении роли вагуса на регуляторные процессы сердечного ритма под воздействием масла лаванды. Таким образом, превентивное применение масла лаванды приводит к расширению адаптивных возможностей, оптимизации регуляторных механизмов, повышению толерантности организма студентов к учебным нагрузкам. При этом адаптация осуществляется по парасимпатическому (более экономичному) типу регуляции ССС.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ АППАРАТНОЙ КОРРЕКЦИИ****Д.У. Черкесова, А.И. Рабаданова, А.Н. Джабраилов** *Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия*

Ценой адаптации человека к современной среде обитания, изобилующей стрессогенными факторами, являются физиологические и психосоматические нарушения и различные заболевания. В этой связи одной из приоритетных задач общества представляется сбережение здоровья людей, оказание своевременной помощи в профилактике возможных соматических расстройств. Решение этой проблемы связано со своевременным прогнозированием функционального состояния, незамедлительным выделением групп риска и проведением коррекционных мероприятий. Высокая степень сенситивности юношеского возраста делает этот период жизни человека наиболее чувствительным к негативным воздействиям. Исследования функционального статуса первокурсников по показателям тревожности, стрессустойчивости, вегетативным проявлениям реакции на стрессовую ситуацию, суммарной электрической активности мозга, кожно-гальванической реакции, позволили выявить группы риска. Проведенная в дальнейшем реабилитационная работа с использованием аппаратных методов на основе биологической обратной связи (БОС) с применением «Реакор», комплекса для антистрессовой терапии «Амблиокор-01-Р», видеоконピューтерного аутотренинга «Ауторелакс» позволили скорректировать основные типы дисфункций организма и оптимизировать функциональное состояние.

**АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КУРСАНТОВ МОРСКОГО ВУЗА****Л.Д. Маркина, Е.В. Рыбина** *Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия*

Имеются данные об ухудшении функционального состояния курсантов, поступивших в высшие военные и полувоспитательные учебные заведения (Маркина Л.Д. и др., 2006; Аксенов П.Ю., 2010). В настоящее время важную роль в оценке функционального состояния организма человека на донозологических этапах исследования принадлежит анализу адаптационного статуса. С этой целью нами обследовано 105 курсантов 3 курса судоводительского (СФ), 100 курсантов 3 курса механического факультетов (МФ) в возрасте 20–21 года, 37 курсантов 6 курса СФ и 69 курсантов 6 курса МФ в возрасте 22–24 года. Обследование проводилось в специальной лаборатории между 25.11.03г. - 10.12.03г. курсантов 3 курса и между 29.11.11–22.12.11 курсантов 6 курса. Уровень здоровья (УЗ) оценивался на основе клинических анализов крови, с применением компьютерной программы «Антистресс» (Гаркави Л.Х. и др., 1998), позволяющей определить адаптационное состояние организма, и выражался в баллах. К I УЗ относили лиц, имеющих адаптационный статус, соответствующий отличному и хорошему состоянию (1680–4960 баллов); к II УЗ – обладающих удовлетворительным состоянием (920–1679 баллов); к III УЗ – лиц с легким и умеренным нарушением здоровья (320–919 баллов); к IV УЗ – находящимся в плохом состоянии (10–319 баллов). Полученные результаты показали, что у курсантов 3 курса СФ самой многочисленной (69,4%) была группа с I УЗ (4065,3 + 987,4 балла). Далее следовали лица с III УЗ (13,3%; 507,69 ± 11,22 балла), со II УЗ (11,2%; 1123 ± 178,4 балла) и самой малочисленной (6,1%) была группа с IV УЗ (213,33 ± 32,66 баллов). У курсантов 3 курса МФ самой малочисленной (5%) также была группа с IV УЗ (225,0 ± 32,79 балла). Остальные группы по количеству мало отличались друг от друга. На 6 курсе самой многочисленной (67,6%) была группа с I УЗ (2993,60 ± 1175,56 балла) на СФ и 49,3% с I УЗ (3437,06 ± 1258,20 балла) на МФ. Самой малочисленной (2,7%) была группа с IV УЗ на СФ и (5%) на МФ. Полученные данные свидетельствуют о незавершенности процесса адаптации курсантов 3 курса к учебному процессу в морском ВУЗе, который у большинства лиц завершается к 6 курсу.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАПРЯЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ****Н.К. Смагулов, А.А. Адилбекова** *Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан*

Обучение в системе высшего образования на современном этапе является напряжённой и сложной умственной и практической работой по приобретению знаний и получения в дальнейшем определенной специальности. При этом успешная учёба в нём обуславливается основательной подготовкой в средней школе, напряжённым трудом и т. д. Цель работы: сравнительная оценка уровня функционального напряжения организма студентов в процессе обучения. Объект исследования – студенты

КГМУ в возрасте 20–22 года. Всего было обследовано 143 студента. Физиологические исследования включали измерение показателей сердечно-сосудистой системы, ЦНС и оценка нервно-эмоциональной активности. Математическая обработка проводилась при помощи стандартного пакета программ статистики. В процессе обучения отмечались существенные изменения со стороны нервно-психической активности – адаптация к учебному процессу у казахстанских студентов протекает на фоне снижения показателей нервно-психической активности, в то время как у иностранных студентов отмечается увеличение ее активности. У юношей более высокими значениями отмечались только на третьем курсе, у девушек на втором и третьем курсах. У иностранных студентов динамика показателей была схожей, однако значения были выше. Процесс адаптации со стороны умственной работоспособности наиболее оптимально протекал у казахстанских юношей – отмечалось увеличение умственной работоспособности. У иностранных студентов существенной динамики не отмечалось. Со стороны показателей, характеризующих состояние сердечно-сосудистой системы, существенных изменений в динамике образовательного процесса у казахстанских студентов не отмечалось. Исключение составлял индекс Руфье–Диксона. Напряжение со стороны адаптационных механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы у юношей было ниже, чем у девушек. Уровень работоспособности у юношей на 1 и 3 курсе соответствовал критерию «удовлетворительная работоспособность», а на 2 курсе – «хорошая работоспособность», у девушек – «удовлетворительная работоспособность». У иностранных студентов отмечалось незначительное напряжение в процессе адаптации к образовательной деятельности со стороны сердечно-сосудистой системы. Уровень работоспособности соответствовал критерию «удовлетворительно».

### **АДАПТАЦИЯ БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ К УСЛОВИЯМ КУОРТА**

**Е.Ю. Шишко, П.Н. Колбасин, Н.А. Землянская** *Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия*

На санаторно-курортном этапе лечения различных заболеваний, учитывается длительность адаптации, которая определяется нарушением биоритмов (десинхронозом), сменой климата, часового пояса, особенностями патологического процесса и т. д. Это относится к сердечно-сосудистым заболеваниям и к гипертонической болезни (ГБ), сопровождающейся рассогласованием суточных ритмов гемодинамических параметров, экскреции вазоактивных веществ, участвующих в регуляции АД, как во времени, так и между собой. Целесообразно для оценки уровня функционирования системы кровообращения определять ее адаптационный потенциал (АП). Целью работы является оптимизация адаптационного периода на санаторном этапе реабилитации больных ГБ посредством воздействия мелатонина на процессы десинхроноза. Исследования проводились на базе клинического санатория «Украина» (Ялта) и Медицинской академии КФУ им. В.И. Вернадского (Симферополь). Были сформированы 4 группы обследуемых: первая и вторая группа – пациенты мужского и женского пола с ГБ 2 стадии и 2 контрольные группы – 15 и 14 практически здоровых людей мужского и женского пола. Для оценки уровня функционирования системы кровообращения определялся адаптационный потенциал (баллы) по Баевскому. Исследования проводились до и после курсового приема пациентами препарата (Вита-мелатонин) в суточной дозе 3 мг (в 21.00 однократно в течение 14 дней). Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи прикладного пакета Medstat. При определении АП у больных после прибытия на санаторно-курортное лечение выявлены значительные различия по сравнению с контрольными: в первой группе АП был равен  $3,07 \pm 0,13$  баллов, во второй –  $3,26 \pm 0,12$  баллов ( $p < 0,001$ ) в обоих случаях. Различия в показателях между исследуемыми группами носили недостоверный характер ( $p > 0,05$ ). После 14-дневного курса приема препарата обнаружено улучшение АП на 16,3% и 16,1% по группам соответственно, однако различия с контрольными группами остались достоверными. Так АП в первой группе был равен  $2,57 \pm 0,1$  баллов ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольными группами, во второй –  $2,74 \pm 0,07$  баллов ( $p < 0,05$ ) соответственно. Таким образом, наблюдаемая в исследовании положительная динамика адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы говорит в пользу назначения мелатонина.

### **АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОРГАНИЗМА ШКОЛЬНИЦ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ГЕМОДИНАМИКИ**

**Н.Н. Тятенкова, А.П. Кузнецова, Л.Г. Букина** *Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

Тип кровообращения – это генетически детерминированная функциональная особенность сердца. Впервые на типологические особенности кровообращения обратил внимание Н.Н. Савицкий (1974), выделив три типа кровообращения. Согласно данным литературы представители различных типов кровообращения отличаются по физиологическим механизмам гемодинамического обеспечения организма и вследствие этого имеют разные адаптационные возможности к факторам внешней среды. Цель работы состояла в изучении адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы девочек с различным типом гемодинамики. Обследованы 243 школьницы, в возрасте 12 лет. Измерены основные соматометрические и функциональные показатели с последующим расчетом адаптационного потенциала (АП) по Р.М. Баевскому (1987). Типы кровообращения определяли по методу И.К. Шхвацабая с соавт. (1981). В обследуемой группе у большинства девочек (53,5%) отмечен гипокинетический тип кровообращения, у 25,5% – эукинетический, у 21,0% – гиперкинетический. Среднее значение АП во всей выборке обследованных девочек составило  $1,88 \pm 0,22$ , что характеризует адаптационные возможности организма как удовлетворительные. Средние значения АП в группах девочек с разным типом кровообращения следующие:  $1,81 \pm 0,20$  (гипокинетический тип),  $1,92 \pm 0,22$  (эукинетический тип),  $1,99 \pm 0,20$  (гиперкинетический тип). Удовлетворительную адаптацию в группе с гипокинетическим типом кровообращения имеют 73,1% девочек, с эукинетическим и гиперкинетическим типом – 45,2% и 33,3% соответственно. Наибольшее количество девочек (11,8%) со срывом адаптации наблюдается в группе с гиперкинетическим типом кровообращения. Таким образом, наиболее удовлетворительные адаптационные возможности организма к факторам внешней среды характерны для девочек с гипокинетическим типом кровообращения.

### **ДИНАМИКА ВЕГЕТАТИВНОГО СТАТУСА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ СЕРДЕЧНО-ДЫХАТЕЛЬНОГО СИНХРОНИЗМА**

**Л.В. Полищук, А.А. Схинас** *Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Краснодар, Россия*

Оценка регуляторно-адаптивных возможностей организма методом сердечно-дыхательного синхронизма (СДС) нашла достойное место в характеристике функционального состояния организма человека при стрессе и заболеваниях. При этом влияние самой пробы СДС на состояние тонуса вегетативной нервной системы (ВНС) не изучалось, в то же время сочетанная реакция функций дыхания и сердечбиения при развитии СДС не может протекать без влияния на вегетативный статус. В связи

с чем было предпринято данное исследование. С помощью индекса Кердо была проанализирована динамика вегетативного статуса во время оценки регуляторно-адаптивных возможностей методом СДС у 27 юношей в возрасте 18–20 лет.

Метод СДС основан на тесной функциональной взаимосвязи центров ритмогенеза дыхания и сердца, а также возможности произвольного управления ритмом дыхания. Методика получения СДС состоит в том, что испытуемый выполняет последовательность кратковременных проб с воспроизведением задаваемого стимулятором ритма дыхания, частота которого превышает исходную частоту сердцебиения. При этом в определенном для каждого испытуемого диапазоне частот развивается синхронизация учащенного произвольного дыхания и сердечного ритма, которая характеризуется рядом количественных параметров, позволяющих объективно судить о функциональном состоянии организма в целом.

Измерение артериального давления и ЧСС выполнялось в исходном состоянии, после пробы на минимальной частоте диапазона синхронизации и по окончании исследования СДС, по этим данным рассчитывался индекс Кердо. Полученные результаты были статистически обработаны. В результате обнаружено достоверное изменение индекса Кердо под влиянием проб СДС. В исходном состоянии индекс Кердо составлял  $0,99 \pm 12,36$  ( $M \pm SD$ ), после пробы на минимальной частоте диапазона синхронизации индекс сместился в сторону ваготонии в сравнении с исходной величиной ( $p=0,95$ ) и оказался равным  $-4,96 \pm 13,71$  ( $M \pm SD$ ), после исследования СДС индекс Кердо составил  $-5,03 \pm 17,57$  ( $M \pm SD$ ) ( $p=0,98$ ).

Таким образом, под влиянием исследования СДС происходит перераспределение тонуса ВНС в сторону преобладания парасимпатических влияний, что согласуется с представлениями о СДС как звене доказательств формирования ритма сердца в головном мозге и передаче этого ритма к синоатриальному узлу по вагусным нервам.

### **ОСОБЕННОСТИ СТРЕСС-РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЧАСТОТЫ СЕРДЦЕБИЕНИЙ, АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА КРОВИ ПРИ БЛОКАДЕ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ И М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ**

**Е.В. Курьянова, А.В. Трясучев, В.О. Ступин, Т.С. Остроушко, В.Ф. Дьяконова**  
*Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия*

Изучали особенности стресс-индуцированных изменений ЧСС, адренореактивности эритроцитов (АРЭ) и некоторых параметров свободнорадикального гомеостаза крови у самцов нелинейных крыс ( $n=40$ ) при блокаде  $\beta$ -адренорецепторов –  $\beta$ -АР (анаприлин, 2 мг/кг м.т.) и М-холинорецепторов – М-ХР (атропин, 1 мг/кг м.т.). У крыс контрольной группы острый стресс вызвал рост ЧСС (на 30%,  $p \leq 0,001$ ) и каталазной активности эритроцитов (КАТ эритроцитов, на 20%,  $p \leq 0,001$ ), тренд к снижению АРЭ (на 8 отн.ед.) и каталазной активности плазмы крови (КАТ плазмы) без существенных изменений в ней уровня ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП). У крыс с блокадой  $\beta$ -АР в покое ЧСС и АРЭ были ниже контрольных значений в 1,3 и в 2 раза ( $p \leq 0,01$ ). При стрессе ЧСС увеличилась на 50% ( $p \leq 0,01$ ), АРЭ снизилась (на 4 отн.ед.), величины показателей оставались ниже контрольных. На фоне анаприлина, как и в контроле, КАТ эритроцитов при стрессе выросла на 11% ( $p \leq 0,01$ ), но КАТ плазмы проявила тренд к росту, уровень ТБК-РП оставался стабильно высоким ( $p \leq 0,001$ ). У крыс с блокадой М-ХР в покое ЧСС была выше контрольной (на 32%,  $p \leq 0,01$ ) и в условиях стресса не прирастала. На фоне атропина, как и на фоне анаприлина, АРЭ в покое была ниже контрольной ( $p \leq 0,001$ ) и проявила аналогичный тренд к снижению при стрессе. При блокаде М-ХР в покое КАТ эритроцитов и плазмы превышала контроль, при стрессе снизилась на 8,5% и 53% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно, без изменения в уровне ТБК-РП в плазме. Таким образом, наиболее реактивный на стресс показатель – ЧСС при блокаде  $\beta$ -АР изменяется еще более значительно на фоне своих низких величин, при блокаде М-ХР ареактивен на фоне высоких величин. Основным стрессорным изменением АРЭ является тренд к снижению, и эта направленность сохраняется, но степень отклонения сокращается вдвое при блокаде и  $\beta$ -АР, и М-ХР. Во всех группах при стрессе преимущественно изменяется КАТ крови, нежели уровень ТБК-РП, на фоне анаприлина стресс способствует нарастанию КАТ крови, на фоне атропина – ее снижению. В целом, блокада  $\beta$ -АР и М-ХР оказывает разнонаправленное влияние на стресс-реактивные изменения ЧСС и КАТ крови, естественная направленность стрессорных изменений особенно резко модифицируется на фоне атропина. В отношении стресс-индуцированных изменений АРЭ эффекты блокады  $\beta$ -АР и М-ХР однонаправлены.

### **СПОСОБ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ВЕГЕТАТИВНОГО ТОНУСА И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА ПРИ СИНДРОМЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ ДИСТОНИИ (СВД)**

**Е.В. Дорохов, А.В. Карпова, Л.А. Киреева, Н.А. Польшцева**  
*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия*

В медицинской практике среди немедикаментозных методов лечения для восстановления нарушенных функций широко используется воздействие различных частот, резонирующих с органами или системами. Учеными Калифорнийского университета (1995) были получены удивительные положительные результаты после прослушивания музыки Моцарта, частота звуков которой резонировала с альфа-ритмом энцефалограммы, активируя все участки головного мозга. Результаты наших исследований, проводимых в течение последних 7 лет показали, что 20-минутное прослушивание сороковой симфонии Моцарта студентами с синдромом вегетативной дистонии достоверно снижало функциональную асимметрию мозга (по теппинг тесту), нормализовала ВИК, гемодинамические показатели и достоверно улучшала психофизиологические (память и внимание). Исследование влияния музыки Моцарта на биоэлектрическую активность миокарда у студентов с ВСД было выявлено, что сразу после физической нагрузки (20 приседаний за 30 секунд) показали, что прослушивание музыки перед приседанием препятствовало возникновению нарушений процессов реполяризации сердца: увеличению амплитуды Т2-3, регистрации двугорбого зубца Т2-3 или девиации сегмента ST 2-3, а также развитию синусовой тахикардии. Таким образом, музыка Моцарта – как одна из форм частотного воздействия на мозг – является наиболее оптимальным немедикаментозным методом в восстановлении физиологических систем при ВСД.

### **ВЛИЯНИЕ ЭКЗАМЕНАЦИОННОЙ СЕССИИ НА СОСТОЯНИЕ СТУДЕНТОВ**

**И.Н. Малинина А.С. Алексеева** *Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия*

Новая система обучения при поступлении в ВУЗ, вместе с новым кругом общения, режимом дня и др. может стать причиной психофизиологической стресс-реакции у студентов. Экзаменационные сессии – наиболее значимые события в учебном



году, их результат оказывает влияние на дальнейшую жизнь студента. Таким образом, экзамены могут являться ведущим эмоциогенным и стрессогенным фактором и значимо изменять его психофизиологический статус учащегося. Данное исследование направлено на изучение влияния сессии на состояние студентов. Первая выборка составила 20 студентов 1–2 курса обучения в возрасте 17–19 лет (12 женщин и 8 мужчин). Из них десять обучаются на факультете психологии и десять – студенты других специальностей (экономика, журналистика и др.) Вторая выборка включала в себя 18 студентов факультета психологии 3–4 курса от 19–22 лет, пол – женский. В работе использовались опросник нервно-психического напряжения Т.А. Немчина и опросник ситуативной и личностной тревожности Ч.Д. Спилберга. Исследование проводилось двукратно во время сессии и вне ее. Полученные результаты исследования были обработаны с помощью математической статистики. При сравнении изучаемых показателей по выборке 1–2 курсов были выявлены статистически значимые изменения показателей ситуативной и личностной тревожности, а также нервно-психического напряжения во время экзаменационной сессии. Критерий Вилкоксона показал, что во время сессии ситуативная тревожность и нервно-психическое напряжение студентов 1–2 курсов обучения увеличиваются ( $T < T_{\text{крит}}, p < 0,05$ ). Данная тенденция прослеживается и у студентов-психологов, и у студентов других специальностей. При этом достоверных различий между этими выборками студентов не наблюдается. Сравнение изучаемых показателей по выборке 3–4 курсов не показало достоверного влияния сессии на состоянии испытуемых. При этом общий уровень ситуативной тревожности достоверно различается с 1–2 по 3–4 курсе ( $U < U_{\text{кр}}, p < 0,05$ ). Таким образом, во время экзаменационной сессии происходит увеличение показателей ситуативной тревожности нервно психического напряжения студентов 1–2 курсов любых специализаций, в отличие от студентов 3–4 курсов, значимо отличающихся от них по уровню ситуативной тревожности.

### **СТЕПЕНЬ АКТИВНОСТИ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ В ОЦЕНКЕ ДОНОЗОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**

**С.Н. Арабзода** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Известно, что по статистическим показателям математического анализа сердечного ритма (среднеквадратичное отклонение, мода, амплитуда моды, индекс напряжения и корреляционные ритмограммы) можно количественно оценить степень активности симпатoadреналовой системы и своевременно диагностировать донозологическое состояние при действии стрессорных факторов с учетом индивидуальных особенностей организма (Баевский Р.М., 1979; Шукуров Ф.А., 1991, 1996, 2014). Целью исследования явилось изучение количественной характеристики степени активности симпатoadреналовой системы при действии эмоционального стресса. Нами обследовано 320 студентов второго курса в процессе обучения и перед экзаменами (эмоциональный стресс). Для оценки степени активности симпатoadреналовой системы изучали следующие статистические показатели: среднеквадратичное отклонение –  $\sigma$ , моду ( $M_0$ ), амплитуду моды ( $AM_0$ ), индекс напряжения (ИН), с построением корреляционных ритмограмм (КРГ). С точки зрения адаптационных возможностей организма увеличение  $\sigma$  и  $M_0$  с уменьшением  $AM_0$  и ИН является благоприятным фактором. Наш анализ показывает, что численность студентов со значением  $\sigma$  0,08 уменьшается с 20,0% на фоне учебы до 5,8% при эмоциональном стрессе. Более чем в 2 раза (с 10% до 26,6%) увеличивается количество студентов с минимальным значением среднеквадратичного отклонения (0,03 и менее). При эмоциональном стрессе в 8 раз уменьшается количество студентов с наибольшим значением  $M_0$  (1,0 с и более): с 10% до 1,3%. Также резко уменьшается количество студентов со значением  $M_0$  0,86–0,99с: с 26,7% на фоне обучения до 2,6% при эмоциональном стрессе. Аналогичная динамика отмечается в изменении  $AM_0$  и ИН: при эмоциональном стрессе увеличивается количество лиц с высоким значением этих показателей. Анализ КРГ позволил выделить четыре типа: чем ближе к IV типу, тем больше степень напряжения регуляторных механизмов организма, уменьшаются резервные возможности, наступает дискоординация в отделах АНС с превалированием симпатического влияния. Таким образом, по основным статистическим показателям математического анализа сердечного ритма установлены количественные градации оценки степени активности симпатoadреналовой системы, которые могут быть использованы для своевременной диагностики донозологического состояния при эмоциональном стрессе.

### **СОСТОЯНИЕ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**

**Б. Курбанов, М. Шехова** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Целью исследования явилось изучить степень выраженности симпатoadреналовой системы при эмоциональном стрессе. Нами обследовано 111 студентов второго курса в процессе обучения и при эмоциональном стрессе. Для оценки симпатoadреналовой системы мы непрерывно регистрировали ЭКГ в I отведении в течение 1,5–2 мин в состоянии покоя и перед итоговыми занятиями с последующим определением следующих статистических показателей сердечного ритма: среднеквадратичное отклонение –  $\sigma$ , моду ( $M_0$ ), амплитуду моды ( $AM_0$ ) и индекс напряжения (ИН). Кроме того, методом последовательного попарного анализа интервалов RR автоматически строили корреляционные ритмограммы. Результаты исследования показывают, что численность студентов со значением  $\sigma$  0,08 и более заметно уменьшается с 20,0% на фоне до 5,8% при эмоциональном стрессе; со значением  $\sigma$  0,06–0,07 с 26,7% на фоне снижается до 16,9% на экзамене. При эмоциональном стрессе увеличивается (в 20 раз) количество студентов с минимальным значением моды – менее 0,6 с. Существенно увеличивается количество студентов со значением моды 0,6–0,66 с: с 10,0% на фоне обучения до 31,8% на итоговом занятии. Анализ ИН показывает, что его значение в пределах 51–100 единиц – 33,3%, в процессе обучения, а на итоговом занятии наибольшее число студентов – со значением 101–200 единиц – 31,2%. Студентов с ИН 400 единиц и более на фоне обучения не обнаружено и выявляется только во время итогового занятия (6,5%). Численность студентов с наименьшими значениями ИН (50 и менее) на фоне обучения составляет 30,0%, в то время как на итоговом занятии – всего 7,8%. Полученные корреляционные ритмограммы (КРГ) мы разделили на 4 типа, каждый из которых отражает тип взаимодействия отделов АНС, степень активности симпатoadреналовой системы и функциональный резерв организма. I тип КРГ отражает слабую степень напряжения, нормотонический тип взаимодействия отделов АНС и достаточно высокий функциональный резерв; II тип КРГ отражает умеренную степень уменьшения функционального резерва; III тип КРГ отражает выраженную степень активности симпатoadреналовой системы, симпатикотонический тип взаимодействия АНС; IV тип КРГ отражает резко выраженную степень активности симпатoadреналовой системы с явно выраженными явлениями симпатикотонии. Наш анализ типов КРГ показывает, что самой многочисленной на фоне обучения и на итоговом занятии остается группа студентов с КРГ III типа: 48,3% и 42,3% соответственно. I тип КРГ на

фоне обучения встречаются почти втрое чаще, чем на итоговом занятии – 18,4% и 5,8%. Численность студентов с КРГ II типа на итоговом занятии практически не отличается от такового на фоне обучения – 13,3 и 13,6% соответственно III тип КРГ на фоне обучения встречается чаще, чем на итоговом занятии: 48,3% и 40,4%. IV тип КРГ – самый напряженный на итоговом занятии встречается в два раза чаще, чем на фоне обучения: 20% и 38,3% соответственно. Таким образом, по динамике типов КРГ и статистических показателей вариативности сердечного ритма можно оценить функциональные резервы организма: наибольший функциональный резерв отмечается у лиц с I типом и по мере приближения к IV типу уменьшается функциональный резерв организма и увеличивается степень активности симпатoadреналовой системы.

### **МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ-МЕДИКОВ**

**Н.К. Смагулов, А.А. Адилбекова** *Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан*

Специфика вузовского обучения приводит к тому, что студент оказывается в новых социальных и психофизиологических условиях. К комплексу новых факторов неизбежно подключаются сложные механизмы адаптации организма. В данном случае это сложный многоуровневый психологический, физиологический и социальный комплексный процесс, определяющий здоровье и успешность обучения студентов. Цель работы: математическая оценка влияния факторов учебного процесса на показатели функционального состояния организма студентов-медиков. Объект исследования – студенты КГМУ в возрасте 20–22 года. Всего было обследовано 143 студента. Физиологические исследования включали: измерение показателей сердечно-сосудистой системы, ЦНС и оценка нервно-эмоциональной активности. Математическая обработка проводилась при помощи стандартного пакета программ статистики. Применение многофакторного математического анализа выявило существенные различия в адаптации студентов к образовательной деятельности в зависимости от пола. Об этом свидетельствует вклад комплекса факторов в общую дисперсию наблюдаемых факторов (своеобразная величина, определяющая весомость воздействующего фактора, его значимость в формировании уровня функционального напряжения организма) – у юношей он составлял 11,65 и девушек 17,63 соответственно. Основным фактором, влияющим на уровень функционального состояния организма, у студентов является индекс физического состояния. Вторым по значимости был фактор – адаптационный потенциал. На третьем месте – «время», характеризующий уровень функционирования систем организма в динамике учебного дня. У остальных факторов дисперсия была ниже единицы. Анализ соотношения числа линейных и нелинейных коэффициентов корреляций выявил, что высокая активность функциональных систем организма студентов в большей степени проявлялась нелинейными реакциями физиологических показателей. Что свидетельствует о менее активном прямом воздействии конкретного фактора, скорее речь идет о комбинированном и сочетанном влиянии дополнительных, сопутствующих факторов. Проведенный в дальнейшем многофакторный регрессионный анализ полученных результатов физиологических исследований позволил описать выявленные корреляционные зависимости в виде уравнений регрессий.

### **ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ В ВОСПРИЯТИИ ЭКЗАМЕНА КАК СТРЕССА У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ: ВАРИАбельность СЕРДЕЧНОГО РИТМА И ТРОМБОДИНАМИКА**

**Р.И. Жданов, В.Г. Двоеносов, В.Ю. Сыромятникова**

*Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Цель исследования – оценка корреляции тонуса вегетативной нервной системы, уровня реактивности сердечно-сосудистой системы и системы гемостаза в условиях экзаменационного стресса в зависимости от пола студентов. В работе на основе информированного согласия обследованы 97 здоровых добровольцев-студентов обоего пола, у которых проводился забор венозной крови утром натощак. Были исследованы вариабельность сердечного ритма (прибор «Валента», высокочастотная составляющая ритма HF-HRV, индикатор активности блуждающего нерва) при ортостатической пробе (изменение позы), изменение количества тромбоцитов, среднего объема тромбоцитов. Методом тромбодинамики определены значения начальной и стационарной скорости тромбообразования, время начала тромбообразования. Установлено, что студенты на экзамене отличаются высокими значениями частоты дыхания и более низкими – дыхательного объема. Величина минутного объема дыхания снижается у студентов-мужчин за счет бронхоконстрикторных влияний стресса на трахеобронхиальное дерево. Это подтверждает статистически значимое снижение потока в малых, средних и крупных бронхах, свидетельствующее о повышенном тоне парасимпатической нервной системы. Статистически значимое повышение мощности быстрых волн при определении вариабельности сердечного ритма у студентов обоих полов во время экзамена также свидетельствует об активации вагуса и может быть использовано как маркер экзаменационного стресса. При экзаменационном стрессе происходит снижение тромбоцита, и только у женщин – статистически значимое снижение числа тромбоцитов и увеличения их объема. Установлена тенденция к усилению тромбообразования при экзаменационном стрессе, достигающая статистически значимых отличий у женщин – увеличение значений начальной скорости тромбообразования. У мужчин при экзаменационном стрессе отмечается увеличение протромбинового времени. Обнаружено, что у женщин по сравнению с мужчинами во время экзамена повышается ситуативная тревожность по Спилбергеру и статистически значимо изменяются биохимические показатели системы гемостаза (количество тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, начальная скорость тромбообразования). Сделан вывод, что для женщин экзаменационная сессия является более стрессогенным фактором, чем для мужчин.

### **НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПОПУЛЯЦИЙ С ВЫСОКИМ ИНДЕКСОМ ДОЛГОЛЕТИЯ**

**У.Ф. Гашимова<sup>1</sup>, Н.М. Камилова<sup>2</sup>, Р.Ф. Ибрагимбекова<sup>3</sup>, С.А. Гусейнова<sup>1</sup>, Е.О. Байрамова<sup>1</sup>, Ч.Ю. Касумов<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана; <sup>2</sup>Азербайджанский медицинский университет; <sup>3</sup>Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

В последние годы проблема группового или популяционного долгожительства привлекает возрастающее внимание специалистов. Наличие в отдельных районах относительно высокой концентрации лиц, достигших 90 и более лет естественным путем, открывает уникальные возможности для комплексного изучения сложных биологических и социально-культурных процессов, определяющих феномен долгожительства, как модели естественного или физиологического старения. Настоящая

работа представляет некоторые итоги одного из таких исследований, которое проводилась в традиционно долгожительской зоне Тальшских гор на юго-востоке Азербайджана.

Исследование проводилось в трех выборках сельского населения, которые включали самих долгожителей, их ближайших родственников, и представителей семей, в которых не отмечено случая долгожительства. Программа исследования включала сбор анамнестических данных, комплексную оценку статуса здоровья и определение ряда биохимических показателей, включая общий и биохимический анализ крови и определение гормонального статуса. Всего было обследовано 82 человека, включая 24 долгожителя (10 мужчин и 14 женщин). Результаты исследования выявили наличие семейного фона у долгожителей в 66% случаев. Все они без исключения жили в семье, были окружены заботой и уходом со стороны близких. Это хорошо согласуется с данными психофизиологических исследований, согласно которым долгожительство в азербайджанском обществе является социально одобряемым явлением. Они также свидетельствуют о том, что внутрисемейные отношения влияют на продолжительность жизни. Психологические исследования также выявили наличие обратно-пропорциональной связи между параметром ранимости и возрастом испытуемых, не зависимо от их пола. Анализ структуры питания у долгожителей показал регулярность и сбалансированность пищевого рациона, при высоком удельном весе в рационе фруктов и овощей. Изучение гормонального статуса у долгожителей-женщин выявил достоверное снижение абсолютных показателей эстрадиола и прогестерона в периферической крови; при этом содержание тестостерона было повышено, за исключением трех случаев. Что касается мужчин-долгожителей, то при содержании гормонов гипоталамо-гипофизарной системы в пределах нормы, уровни прогестерона были повышены в 2-2,5 раза по сравнению с нормой, а уровни тестостерона были в пределах нормы, характерной для возраста 50-60 лет. При сравнительной оценке состояния здоровья долгожителей оказалось, что проявления возрастной патологии сердечно-сосудистой системы чаще встречаются среди лиц старческого возраста, чем у долгожителей, что в целом согласуется с имеющимися литературными данными по кардиологическому статусу этой категории людей. При сопоставлении показателей биоэлектрической активности мозга у родственников долгожителей и контрольной выборки были выявлены особенности, которые предположительно могут способствовать лучшей адаптации представителей "долгожительской" линии к влияниям окружающей среды.

### **ЦИРКАДИАНЫЙ ДЕСИНХРОНОЗ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА**

**К.А. Шемеровский** *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

Актуальность исследования циркадианных ритмов обусловлена тем, что нарушения суточных ритмов носят универсальный характер, касаясь и мозга, и кишечника. Типичным нарушением циркадианного ритма кишечника является констипация, считающаяся «скрытой национальной проблемой» и повышающая риск колоректального рака (КРР) в 2,5 раза. В Санкт-Петербурге регистрируется ежегодно около 3000 новых случаев КРР – лидера в онкологии. Однако хронофизиологические механизмы констипации недостаточно исследованы, нет данных о временной структуре циркадианного ритма кишечника. Нами разработана новая технология – «Хроноэнтерография», с помощью которой удалось открыть новый феномен – «Циркадианная Брадиэнтерия» (ЦБ) – замедление циркадианного ритма энтеральной активности. Определена временная фазовая структура ЦРК с оптимальным значением регулярной частоты этого ритма – не ниже 7 раз в неделю – и оптимальным положением его акрофазы – в период от пробуждения до полудня. Доказана закономерная зависимость регулярности ЦРК от акрофазы этого ритма: при наличии утренней акрофазы – доминирует регулярный ритм кишечника, а при отсутствии утренней акрофазы – возникает ЦБ. Предложена хронофизиологическая классификация стадий тяжести ЦБ: I стадия при частоте ритма 5-6 раз в неделю, II стадия при частоте 3-4 р/нд, III стадия при частоте 1-2 р/нд. Скрининг ЦБ у 2501 работающих лиц показал, что ЦБ I стадии имела место у 27%, II ст. у 13%, а III ст. у 4% лиц. Клинически значимая депрессия (по тесту «HADS») у лиц с отсутствием ЦБ не обнаружена, а при I, II и III ст. ЦБ – была диагностирована у 12%, 17% и 43% больных с метаболическим синдромом. Исследование 4 основных факторов риска ЦБ (неадекватное питание, гиподинамия, недосыпание, отсутствие утренней акрофазы ЦРК) показало, что значимость акрофазы для генеза ЦБ (48%) соизмерима с совокупной значимостью первых трех факторов (52%). Доказано, что встречаемость симптомов циркадианного десинхроноза (бессонница, тревога и депрессия) у больных рассеянным склерозом при наличии ЦБ была в 1,5, 2,1 и 3,2 раза соответственно выше, чем при отсутствии ЦБ. Таким образом, здоровье человека существенно зависит от циркадианного десинхроноза.

### **КОНЦЕПЦИЯ «ЛИЦ» И ПРОЦЕССЫ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ**

**И.Д. Кароматов** *Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан*

Человека нельзя представить без учета его взаимодействия с другими людьми, того социума, в котором рождается, растет, живет. Для обозначения таких взаимодействий, нами была предложена концепция «лиц» (И. Кароматов 1990, 2006). «Лица» представляют статусы взаимодействия и оценки каждого индивидуума: «Физическое лицо» (ФЛ) – физические, физиологические особенности человека; «Психологическое лицо» (ПсЛ) – врожденные и приобретенные психические, психологические особенности человека; «Семейное лицо» (Сел) – место, статус человека в семье, типы семейных взаимоотношений; «Групповое лицо» (ГрЛ) – роль и место человека в группах, у лице, по месту жительства и др.; «Коллективное лицо» (КолЛ) – роль и место человека в коллективах. Здоровье и болезнь являются состоянием устоявшегося равновесия «лиц». Современные методы лечения направлены на изменение только одного или двух «лиц» – ФЛ и иногда ПсЛ. Все остальные «лица» остаются на уровне прежнего «больного» состояния. Нарушенное равновесие вносит свои коррективы на катамнез. Прессинг Сел, КолЛ, ГрЛ приводит к тому, что болезнь чаще всего возвращается. Проведенные нами исследования с больными гипертонической болезнью (И. Кароматов 2006) показывают, что по мере улучшения общего состояния больных, в процессе лечения отмечается ухудшение атмосферы в семье, на работе и увеличение количества конфликтов, по сравнению с данными до начала лечения. Это состояние имело тенденцию к увеличению начавшейся с началом медикаментозного лечения некоторой стабилизацией на 20 день после окончания медикаментозного лечения. В последующем это приводило у части больных к ремиссии. Тенденция ухудшения клинических показателей, после основного лечения на фоне поддерживающей терапии была прямо противоположна динамике ухудшения психологической атмосферы, то есть изменений Сел, КолЛ, ГрЛ. Эти явления стабилизировались на 30 дни наблюдения. У больных, у которых не было значительного улучшения, в процессе основного лечения, таких явлений не наблюдалось. Такие парадоксальные результаты объясняются прессингом Сел, КолЛ, ГрЛ на измененные ФЛ и

ПсЛ и стремлением системы к равновесию. Прессинг, произведенный этими «лицами», очевидно, находится в сфере подзонального. Таким образом, отмечается значительное влияние СеЛ, КоЛ и ГрЛ в патогенезе болезней и в процессе выздоровления. Необходимо при лечении заболеваний семейным врачам использовать методику коррекции «лиц».

**ПСИХОСАНОКРЕАТОЛОГИЯ. СОСТАВЛЯЮЩИЕ ЕЕ ПСИХИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ**

**Ф.И. Фурдуй, В.К. Чокинэ, В.Ф. Фурдуй, А.Г. Глижин, В.Г. Врабие, В.М. Дуб, А.М. Куцулаб**  
*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Развитие психосанокреатологии (Фурдуй Ф.И. и др., 2011-2016), как нового направления в санокреатологии, предполагало, наряду с определением задач, методологических принципов, основных понятий, разработку основополагающей концепции о формировании и поддержании психического здоровья, базирующейся на генетической программе развития организма, структурной цельности ЦНС, ее функциональности и интегрированности и на взаимодействии организма с психосоциальной средой в процессе ознакомления с окружающим миром и ассимиляцией знаний в ходе научения, работы и творческой деятельности за счет модуляции функций интегральной нейрофизиологической и нейрохимической систем мозга. Было установлено, что психогенными факторами и условиями являются таковые, которые человеком признаются значимыми для себя, другого или общества и вызывают психическое напряжение и формирование долговременного следа в памяти. Они классифицированы и идентифицированы по характеру влияния на здоровье как саногенные, диссаногенные и протекторные. Изучение феноменологии экстернизации психического здоровья в зависимости от специфики рефлексирования конкретных нейропсихических процессов, позволило ее структурировать в соответствии с нейро-психическими блоками (нейрофизиологический, когнитивный, эмоционально-чувственный, поведенческий, коммуникативный и личностно-смысловой), участвующими в формировании психического здоровья. В связи с тем, что психическое здоровье предопределяется не общей функциональной активностью этих блоков, а их саногенной деятельностью, необходимо было определить, какие нейропсихические процессы следует признать таковыми. Установлено, что саногенными являются те нейропсихические процессы, которые адекватно, реально отражают психическое состояние внутренней среды организма через потребности, ощущения удовольствия/неудовольствия, боли и внешней среды – через «совершенные» чувственные образы объективной реальности, когнитивные процессы, отражающие реальный мир, понятия, навыки, представления и ориентацию во времени и пространстве, коммуникабельность и креативность, уравновешенность эмоционально-волевой сферы, способность к произвольной регуляции психических процессов. Определены характеристики и особенности проявления саногенных мышления, памяти, сознания, эмоций, коммуникаций, поведения.

**НАПРАВЛЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМ ТРАНСПОРТА  
МОНОСАХАРИДОВ В ТОНКОЙ КИШКЕ ПУТЕМ РЕГУЛИРОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В ДИЕТЕ НА РАННЕМ  
ЭТАПЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ**

**Ф.И. Фурдуй, В.А. Шептицкий, Л.Н. Чебан**  
*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Исследования выполнены на белых крысах-самцах, которые после отъема находились в течение 6 недель на диетах с высоким (59% от массы корма и 78,2% от количества энергии), низким (20% от массы корма и 27,9% энергии) содержанием углеводов, либо на безуглеводной диете, затем часть животных была переведена на стандартный рацион питания (AIN-93G). Контролем служили крысы, содержащиеся после отъема на стандартной диете. Использовали метод перфузии изолированного сегмента тонкой кишки *in situ* (single-pass intestinal perfusion). Установлено, что содержание углеводов в диете в раннем постнатальном онтогенезе, а, следовательно, их концентрация в полости кишки оказывает непосредственное влияние на уровень всасывания моносахаридов (12,5–75 мМ) как транспортируемых, в основном, активно, так и пассивно. В условиях диеты с высоким содержанием углеводов (концентрация сахаров в полости кишки при приеме пищи – 70–75 мМ) всасывание глюкозы на 31–42%, а фруктозы – на 53–60% выше, чем в условиях стандартной диеты (концентрация сахаров в полости кишки – 50–55 мМ). Низкоуглеводная диета (концентрация сахаров в полости кишки – около 25 мМ), напротив, вызывает понижение всасывания моносахаридов в 1,3–1,5 раза по сравнению со стандартной диетой. В условиях безуглеводной диеты происходит резкое снижение всасывания глюкозы (в 3 и более раз), а всасывание фруктозы практически отсутствует. Под влиянием диет с различным содержанием углеводов наблюдаются значимые сдвиги кинетических констант активного транспорта глюкозы ( $J_{max}$ ,  $K_t$ ) и константы пассивной диффузии ( $K_d$ ), а изменения всасывания глюкозы происходят, в основном, за счет компонента ее транспорта, опосредуемого транспортером SGLT1. Перевод животных с низкоуглеводной диеты на стандартную приводит к нормализации всасывания моносахаридов спустя 3 суток. В отличие от этого, даже спустя 6 недель после перевода животных с высокоуглеводной либо безуглеводной диет на стандартную, уровень всасывания моносахаридов остается, соответственно, значительно выше или ниже, чем у контрольных животных, т.е. возникают стойкие изменения всасывания у взрослых животных. Полученные результаты раскрывают перспективы разработки саногенных методов воздействия на становление и поддержание абсорбционной функции тонкой кишки с помощью диетических средств.

**КОРРЕКЦИЯ КИСЛОТООБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ЖЕЛУДКА С ПОМОЩЬЮ АКУПUNKТУРЫ**

**А.Н. Орган, Ф.А. Струтинский, В.В. Федаш, Л.Д. Полякова, М.С. Чокинэ, А.И. Мантоптин, С.Г. Сандуца, Н.Н. Таку, И.Д. Порнялэ**  
*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Республика Молдова*

Дискутабельным остается вопрос о выборе методов оперативного вмешательства по поводу гиперацидности при различных кислотозависимых заболеваниях желудка – методы резекции или различные варианты ваготомий. Обычно для определения преобладания рефлексорного или гуморального звена регуляции процесса кислотообразования в предоперационном периоде проводят однократное исследование атропинового теста с помощью рН-метрии желудка. При использовании атропинового теста имеется возможность дифференцировать базальное кислотообразование гуморальной и рефлексорной природы. Наши исследования показывают, что однократное проведение атропинового теста является недостаточным. Нами разработан метод двукратного определения состояния кислотообразующей функции с проведением комбинированной коррекции с использованием акупунктуры, который позволяет выявить истинный тип регуляции процесса кислотообразования. Обследовали

37 пациентов (100%) с язвай двенадцатиперстной кишки и гиперацидностью в исходном состоянии (рН тела желудка – 1,0 – 2,0). Атропиновый тест отрицательный. Болевой синдром средней интенсивности. Содержание кортизола – 566,27 нмоль/л, гастрин – 48,45±7,05 мкЕД/мл. Провели 14 сеансов акупунктуры и повторный атропиновый тест, что позволило разделить больных на две группы. В первую группу вошли 24 пациента (64,9%) у которых выявлялся рефлекторный или нервный (п. vagus, ацетилхолин) тип регуляции процесса кислотообразования. Атропиновый тест становился положительным. Болевой синдром не проявлялся. Содержание кортизола снизилось до 421,5 нмоль/л ( $p>0,05$ ), а гастрин – до 42,90±4,22 мкЕД/мл ( $p>0,05$ ). Во вторую группу вошли 13 пациентов (35,11%), у которых выявлялся антральный или гуморальный (гастрин, гистамин) тип регуляции процесса кислотообразования. Отрицательный атропиновый тест сохранялся. Болевой синдром незначительно уменьшался. Содержание кортизола снизилось до 615,88 нмоль/л ( $p>0,05$ ), а гастрин – увеличивалось до 49,38±9,20 мкЕД/мл ( $p>0,05$ ). Таким образом, у пациентов с гиперацидностью, атропинареактивностью и болевым синдромом в исходном состоянии для выявления истинного типа секреции необходима комбинированная коррекция с использованием акупунктуры и последующим рН-контролем динамики атропинового теста, что будет способствовать правильной ориентации для выбора методов оперативного вмешательства при различных кислотозависимых заболеваниях желудка.

### **ВЛИЯНИЕ УПРАВЛЯЕМОГО ДИАФРАГМАЛЬНОГО ДЫХАНИЯ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА И ПОКАЗАТЕЛИ НОЧНОГО БРУКСИЗМА**

**В.Н. Лакуста<sup>1,2</sup>, В.Д. Фала<sup>2</sup>, Д.Н. Романюк<sup>2</sup>** <sup>1</sup>*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, 2*Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемциану, Кишинэу, Молдова

Цель исследования – изучить динамику эмоционального стресса и количественных проявлений патологических двигательных эпизодов бруксизма под влиянием управляемого диафрагмального дыхания (УДД). Материалы и методы. Исследовали 30 больных мужского и женского пола, в возрасте от 18 до 50 лет, с ночным первичным бруксизмом без сопутствующих заболеваний внутренних органов и нервной системы. Для объективной регистрации двигательных расстройств бруксизма использовали диагностический комплекс Sleep Guard 5, США (TNC – общее количество сжатия/скрежетания зубов в течении ночи; TCT – общая продолжительность сжатия/скрежетания в течении ночи, сек; VAS – самооценка выраженности эмоционального стресса, баллы). Всех пациентов обучали технике УДД (оптимальный уровень частоты дыхания до 10 раз в минуту). Результаты и обсуждения. Применение одного сеанса УДД вызвало снижение частоты и длительности двигательных расстройств и позитивные изменения психоэмоционального состояния. До первого сеанса показатель TNC составил 66,9 ±10,5; TCT – 103,7 ±7,8; VAS- стресс – 5,7 ±0,12, а после сеанса: TNC – 65,4 ±13,5; TCT – 98,8 ±7,3; VAS-стресс – 5,3 ±0,13. Спустя 30 дней применения УДД были получены более выраженные положительные результаты – до 30-го сеанса: TNC – 55,2 ±8,79; TCT – 78,4 ±8,51\*; VAS-стресс – 5,0 ±0,15\*\*\*; после сеанса: TNC – 48,6 ±7,32; TCT – 67,6 ±7,7\*\*; VAS-стресс – 4,6 ±0,21\*\*\* (\* – статистические различия в сравнении с фоном первого дня, до начала УДД). Применение УДД вызывает положительные изменения в деятельности stomatognathной системы у больных с ночным первичным бруксизмом, в основном, за счет уменьшения выраженности длительности патологического двигательного эпизода (TCT,  $p<0,01$ ) и тенденции к уменьшению их количества (TNC > 0,05). Выводы. УДД уменьшает выраженность психоэмоционального напряжения, связанного с психоэмоциональным стрессом и общую длительность в течении ночи патологических двигательных эпизодов. УДД может применяться в комплексном лечении больных с ночным первичным бруксизмом.

### **ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ БРУКСИЗМОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ АЛКОГОЛЯ, НИКОТИНА И КОФЕИНА**

**Д.Н. Романюк<sup>2</sup>, В.Н. Лакуста<sup>1,2</sup>, В.Д. Фала<sup>2</sup>** <sup>1</sup>*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, 2*Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемциану, Кишинэу, Молдова

Изучены особенности вегетативной регуляции в stomatognathной системе у больных бруксизмом под влиянием употребления алкоголя, кофеина и никотина. Исследовали 78 больных мужского и женского пола, в возрасте от 18 до 50 лет, с ночным первичным бруксизмом без сопутствующих заболеваний внутренних органов и нервной системы. Для объективной регистрации двигательных расстройств бруксизма использовали диагностический комплекс Sleep Guard 5 (USA). Исследование вегетативной регуляции проводили с использованием комплекса Нейро МВП Микро (Нейрософт, Россия). Определяли амплитуду (A2) вызванного кожного симпатического потенциала в трех вариантах: A2 – вызванный вегетативный потенциал при максимальном смыкании челюстей; A2R – вызванный потенциал при стандартизации исследования (смыкание челюстей с ватным валиком между зубами); A2O – вызванный вегетативный потенциал, соответствующий окклюзии (разница между A2 и A2R). Изучали влияние алкоголя (3 единицы за 24 часа) у 22 больных; употребление кофе (6 чашек за 24 часа) у 11 пациентов; курение (10 сигарет в сутки) у 45 пациентов. Результаты и обсуждения. Под влиянием изучаемых факторов выявлены существенные различия в вегетативной регуляции. Алкоголь: A2 – 4,2±0,49 ( $p > 0,05$ ); A2R – 2,2±0,19 ( $p<0,001$ ); A2O – 2,0±0,05 ( $p<0,001$ ). Кофеин: A2 – 4,6±0,38 ( $p < 0,05$ ); A2R – 3,5±0,38 ( $p<0,01$ ); A2O – 1,10±0,06 ( $p > 0,05$ ). Никотин: A2 – 4,2±0,42 ( $p > 0,05$ ); A2R – 2,9±0,27 ( $p > 0,05$ ); A2O – 1,3±0,06 ( $p<0,001$ ) (значения A2 указаны в мВ). Полученные результаты отражают различный спектр вегетативных изменений в stomatognathной системе, что расширяет диагностические возможности при бруксизме. У больных бруксизмом употребление алкоголя вызывает наиболее выраженные изменения A2R и A2O; употребление кофе существенно изменяет A2 и A2R; курение вызывает значительные нарушения A2O. В процессе диагностики и лечения бруксизма необходимо учитывать влияние кофакторов бруксизма на показатели вегетативной регуляции в stomatognathной системе.

### **АМИНОКИСЛОТЫ КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ СОМАТО-ВИСЦЕРАЛЬНОГО ЗДОРОВЬЯ**

**С.Н. Гараева, Г.В. Постолати, Н.В. Коварская, Г.И. Вармарь, А.И. Мантоптин**  
*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

После формулирования академиком Ф.И. Фурдуй понятия «здоровье» с позиции санокреатологии появилась необходимость выявить биологические маркеры состояния сомато-висцерального здоровья, и на основе этого разработать методы его укрепления и поддержания. основополагающим методологическим принципом санокреатологии является единый подход к

оценке морфофункционального состояния различных органов и систем, что предполагает использование для тестирования здоровья одних и тех же критериев и тестов. Концентрация свободных аминокислот (САК) в физиологических жидкостях и тканях является интегральным показателем и регулирующим фактором гомеостаза, характеризующим обмен веществ, объективно отражающим состояние метаболического баланса. Ранее нами было выявлено, что соотношение серосодержащих, медиаторных САК, индекс незаменимые/заменимые САК, показатели синтеза аммиака и мочевины в сыворотке крови детей 2-6 лет, как и баланса серосодержащих САК в моче достоверно изменены при нарушениях развития различных структурных компонентов психического здоровья, что позволяет их использовать в качестве неспецифического маркера саногенности его становления. Анализ литературы и собственные данные позволили составить условную классификацию использования показателей содержания САК в плазме крови и моче как биохимических маркеров сомато-висцерального здоровья организма и отдельных его органов и систем. неспецифические: – суммарное содержание САК; – коэффициент распределения аминного азота (соотношение САК плазма/эритроциты); – суммарное содержание и баланс серосодержащих САК, в том числе гомоцистеина; – конечные продукты азотистого обмена; широкого профиля: – индекс С (наличие воспалительных процессов); – баланс нейромедиаторных САК (процессы возбуждения-торможения в ЦНС) в плазме; – содержание иммуноактивных САК (состояние иммунитета); – незаменимые/заменимые САК (синтез белковых молекул); – индекс Фишера (функциональное состояние гепатоцитов); – отношение тирозин/фенилаланин (функциональная активность щитовидной железы); – пролин, оксипролин (функциональное состояние соединительной ткани); – индекс Р (функциональная активность поджелудочной железы). Данные показатели могут быть индикаторами состояния сомато-висцерального здоровья и использоваться санокреатологией.

### **ПРЕДПОСЫЛКИ ВОЗМОЖНОГО НАПРАВЛЕННОГО ВЛИЯНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ В ВОЗРАСТЕ 2,5-6 ЛЕТ**

**В.Ф. Фурдуй, А.И. Леорда, А.Я. Бачу, И.Д. Порнялэ**

*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Согласно психосанокреатологии, предпосылкой саногенного развития психического здоровья ребенка является структурная целостность и функциональность центральной нервной системы и генетическая программа развития, реализуемая в результате взаимодействия плода и организма матери во внутриутробном периоде и ребенка с социальной средой в постнатальном периоде, являющимся детерминирующим в становлении психического здоровья, особенно от 2,5 до 6 лет, когда ребенок воспринимает около 70% всей информации, которую он будет усваивать в течение жизни. Согласно данным Института физиологии и санокреатологии (Фурдуй Ф.И. и др., 1994), о саногенности развития когнитивной сферы можно говорить, только начиная с 2,5-летнего возраста, когда имеет место интенсивное умственное развитие, импринтирование эмоционально переживаемой информации, и начинают достаточно ярко проявляться различные виды долговременной памяти. Саногенная память формируется избирательно и в первую очередь, на те объекты, с которыми ребенок повседневно контактирует и которые представляют для него интерес. Саногенное развитие и перестройка образной произвольной памяти, преобладающей в младшем дошкольном возрасте, находятся в неразрывной связи с изменениями, происходящими в процессах восприятия и мышления, основной формой которого в 2,5-4-летнем возрастном периоде является наглядно-действенное эгоцентрическое, тогда как для 4-6-летнего возрастного периода характерно наглядно-образное мышление. Вербальная память, в отличие от образной, начинает проявляться с развитием сознания и формируется параллельно с быстрым развитием речи (ребенок осваивает до 100 новых слов ежемесячно). Таким образом, саногенное становление когнитивной и коммуникативной составляющих психического здоровья ребенка происходит постепенно и асинхронно, а необходимым условием для него служит создание адекватной физической и социальной среды для жизнедеятельности. Направленное формирование психического здоровья предполагает определение основных социогенных факторов санопсихогении для различных возрастных периодов постнатального развития с целью дальнейшего их использования в процессе воспитания детей, что и является нашей дальнейшей задачей.

### **АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЧЕЛИНЫХ ПРОДУКТОВ ОТКРЫВАЮТ ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ САНОГЕННЫХ СРЕДСТВ**

**В.Г. Врание, В.К. Чокинэ, А.Г. Глижин, В.В. Держански**

*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

Одной из задач санокреатологии – науки о целенаправленном формировании и поддержании здоровья человека, является разработка новых саногенных продуктов с заданными свойствами и с направленным действием на определенные функции организма. Создание этих саногенных препаратов должно опираться, в первую очередь, на исследование натуральных продуктов, которые уже используются в лечебных целях, путем моделирования содержания и свойств их активных компонентов в санокреатологическом аспекте. Продукты пчеловодства, такие как мед, прополис и пыльца являются лекарственными средствами, используемые человечеством на протяжении тысяч лет. Исследования, проведенные в последние десятилетия, показали, что их саногенные свойства во многом определяются содержанием веществ с антиоксидантной функцией, которые отличаются по содержанию и разнообразию и представлены ферментами, аминокислотами, органическими кислотами, полифенолами, флавоноидами и витаминами. Для того, чтобы выявить саногенные свойства продуктов пчеловодства, наиболее часто используемых (употребляемых) в Республике Молдове – прополиса, пыльца и меда (в исследовании были взяты три вида меда – акациевый, липовый и подсолнуховый), было исследовано общее содержание в них полифенолов, антирадикальная активность и содержание свободных аминокислот. Исследования показали высокую антирадикальную активность в прополисе и пыльце по сравнению с медом, что коррелирует с общим количеством полифенолов. Из исследованных образцов меда самые высокие значения антирадикальной активности были зарегистрированы в акациевом меде, что обусловлено не только присутствием полифенолов, но также и других веществ с антиоксидантной активностью, в частности, аминокислоты пролина. В то же время, была выявлена взаимосвязь между повышенным содержанием некоторых аминокислот исследованных продуктов пчеловодства с лечебными свойствами. Полученные данные об общем количестве полифенолов, антирадикальной активности и спектра аминокислот в продуктах пчеловодства позволяют рекомендовать их целевое использование для разработки новых саногенных средств с заданными свойствами и целенаправленным действием на определенные структуры и функции организма человека.

**ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ РАБОТНИКОВ МЕДИЦИНСКОЙ СЛУЖБЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ РАБОТЫ****Н.Л. Лила, Е.А. Благодаренко, Т.П. Тананакина, П.К. Бойченко** *Луганский государственный медицинский университет, Луганск*

Изучение особенностей посттравматического стрессового состояния среди медицинских работников, подвергающихся воздействию разных психосоциальных факторов, явилось **целью** данного исследования. Наличие экстремальных конфликтно-боевых условий жизни, как специалистов, так и пациентов влияет на специфику работы в отделении и взаимоотношения в коллективе, что воздействует на личность человека. С помощью субъективных методик (оценка индивидуальной минуты – ИМ, личностной и ситуативной тревожности – ЛТ и СТ, травматического события – ШОВТС) было обследовано по 20 сотрудников (женщины в возрасте 34,3±5,4 года) трех отделений больниц г. Луганска: интенсивной терапии, неврологии и кардиологии. Ускорение восприятия временных интервалов наблюдалось у сотрудников отделений интенсивной терапии (до 50 с) и неврологии (до 30 с), у них же были повышены уровни как ЛТ, так и СТ. У сотрудников кардиологического отделения был высоким только уровень СТ. Оценка травматического события показала, что у всех обследуемых суммарная оценка ШОВТС была повышена (42, 28±20,64 б), у 70% обследуемых была повышена оценка гипервозбудимости (15,25±8,37 б). Сотрудники неврологии отличались от других обследуемых наличием реакций вторжения (15,08±9,12 б), что, по-видимому, связано со спецификой патологии у пациентов этого отделения. Причиной госпитализации чаще всего были контузии, травмы и т. д. Профессиональная деятельность в экстремальных условиях обуславливает психофизиологические реакции организма, направленные на мобилизацию механизмов регуляции, с целью оптимизации физиологических функций для выполнения своих профессиональных навыков. Каждая деятельность реализуется определенной биосоциальной платой. Контроль состояния здоровья специалистов, работающих в условиях высокой стрессовой ситуации, необходимо проводить на индивидуальном уровне и предупреждать развитие психосоматических заболеваний, формируя группы риска на донологическом уровне.

**ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ПОСТМИГРАЦИОННОГО ПЕРИОДА НА СОСТОЯНИЕ РЕЗЕРВОВ ДЫХАНИЯ ЮНОШЕЙ КРЫМА****Н.С. Сафронова, А.В. Фоменко, Н.Н. Викулова***Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Таврическая академия, Симферополь, Россия*

Высокий функциональный резерв физиологической системы определяет более низкую «цену ее адаптации» к требованиям окружающей среды (Агаджанян Н.А., 2003). Изучение состояния резервов дыхательной системы мигрантов в условиях адаптации к новым климатогеографическим условиям на протяжении нескольких лет после смены постоянного местожительства позволяет оценить особенности формирующихся компенсаторно-приспособительных перестроек, определить факторы пульмонологического риска и выявить возникшие нарушения (Северин А.Е., 1996; Гудков А.Б., 2012). Цель данной работы – оценить влияние продолжительности постмиграционного периода на состояние резервов дыхательной системы юношей Крыма. В ходе когортного исследования были проанализированы показатели, характеризующие резервы мощности, мобилизации, экономичности и эффективности внешнего дыхания, зарегистрированные на протяжении 2000–2014 гг. у 170 крымско-татарских юношей 18–21 года. Они были разделены на пять групп: I включала лиц, срок проживания которых в Крыму после переезда из Средней Азии составил менее 10 лет; II – от 10 до 15 лет, III – от 15 до 20 лет, IV – свыше 20 лет и V составили юноши, родившиеся на полуострове. Полученные результаты свидетельствовали, что практически у всех обследуемых изучаемые параметры дыхательной системы соответствовали должным значениям и находились в пределах физиологической нормы, однако наблюдались отличия их величин между лицами выделенных групп. Так, у юношей I группы характеристики резервов дыхания оказались наименьшими по сравнению с остальными. С увеличением постмиграционного срока до 15 лет и более отчетливо прослеживалась тенденция к повышению потенциала респираторной системы. При этом наиболее высокие значения изучаемых показателей были характерны для лиц 5 группы. Таким образом, выявленное расширение резервов дыхания у крымско-татарских юношей с возрастанием продолжительности постмиграционного периода позволяет предположить, что процессы приспособления к климатогеографическим условиям полуострова, вероятно, реализовывались у них без истощения функциональных резервов в адекватном для организма режиме. Очевидно, что выявление особенностей и закономерностей в ходе адаптации человека к новым условиям проживания определяет необходимость дальнейшего изучения этого вопроса.

**ДИНАМИКА УРОВНЯ ЗДОРОВЬЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ СТУДЕНТОВ****С.В. Михайлова, Ю.Г. Кузмичев***Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Арзамас, Россия; Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия*

Изучение уровня функциональных резервов организма является составной частью в оценке здоровья. Исследование проведено по результатам проспективного наблюдения физического здоровья 190 студентов 17–22 лет в течение 2010–2016 гг. с применением «Дневника здоровья студента». Проанализировав динамику длины и массы тела у студентов 17–22 лет, сделали вывод, что полностью ростовые процессы у молодежи этого возраста не заканчиваются. По результатам исследования определили, что на 5 курсе обучения у 14,4% юношей и 2,7% девушек продолжается рост тела в длину, поступивших на обучение в вуз в 17 лет. У студентов, начавших обучение в вузе с 18 лет, на 5 курсе ростовые процессы продолжают только у 6,8% юношей. За время обучения в вузе увеличиваются показатели функциональных резервов, наиболее интенсивно на 2 курсе у студентов, поступивших в вуз в 18 лет и на 3 курсе у студентов, обучающихся с 17 лет. За 4 года обучения у 7,8% юношей и 16,4% девушек отмечается снижение показателей пробы Штанге, у 4,4% юношей и 11,5% девушек снижаются значения динамометрии правой кисти, у 11,2% юношей и 10,2% девушек уменьшилась жизненная емкость легких. Отмечается ежегодное увеличение численности студентов с высоким уровнем функциональных резервов среди молодежи, занимающейся спортом, но остается высокая вариабельность показателей физического развития. Показатели уровня физического здоровья студентов, рассчитанного по методу Г.Л. Апанасенко за период обучения в вузе, также претерпевают изменения: численность студентов с высоким и выше среднего уровнями здоровья от 1-го к 5-му курсу снижается с 6,3% до 2,3% и 27,5% до 15,9% соответственно. Численность студентов со средним уровнем здоровья возрастает с 44,1% до 68,2%. Также снижается доля студентов

с низким и ниже среднего уровнями здоровья – с 6,3% до 2,3% и с 13,1% до 5,7% соответственно. Следовательно, для корректной оценки физического развития студенческой молодежи должны быть разработаны нормативы с учетом выявленной динамики и соответствовать каждой возрастно-половой группе.

### **АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ В КОНТРАСТНЫХ УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ И ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СБАЛАНСИРОВАННОСТИ РАЦИОНОВ ПИТАНИЯ**

**И.Э. Есауленко, О.В. Клепиков, Т.А. Бережнова** *Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Основываясь на положении о том, что адаптационные функции организма являются одними из основных показателей здоровья, проведены исследования антиоксидантного статуса (АОС), включающие определение отношения показателей интенсивности индуцированной хемиллюминесценции (показатель интенсивности радикалообразования – ИР) и супероксидперехватывающей активности (СПА) проб конденсата альвеолярной влаги. Установлено, что снижение СПА (до 91,2%) у детей коррелирует с недостатком белкового компонента (78,5–96% от нормы) в суточных рационах организованных коллективов. Несмотря на близкое к норме потребление жиров (97,1–99,6%) существенные изменения липидной компоненты рациона, выражающиеся в уменьшении потребления сливочного масла, богатого витаминами А и Е и фосфолипидами, отсутствии употребления кукурузного масла, при одновременном увеличении потребления подсолнечного масла приводят к повышению интенсивности радикалообразования в группах детей с несбалансированным рационом питания (ИР=302,44±48,77; ИР=260,31±81,63). В промышленном районе города изменение характера питания также приводит к снижению резистентности организма у детей, в том числе за счет того, что неблагоприятная экологическая обстановка уже сама по себе оказывает негативное воздействие на организм. Таким образом, отклонения в антиоксидантном статусе организма оцениваются нами как состояние, требующее применения комплекса мер алиментарной, антиоксидантной и антигипоксической профилактики.

### **ОСОБЕННОСТИ ЭКГ СТУДЕНТОВ С ВЫРАЖЕННОЙ СИМПАТОТОНИЕЙ**

**В.А. Семилетова, А.Д. Осипова** *Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия*

Синдром вегето-сосудистой дистонии в настоящее время встречается у 80% населения, особенно часто – у молодежи. Он включает разнообразные по происхождению и проявлениям нарушения вегетативных функций, обусловленные расстройством их нервной регуляции. Данное нарушение может развиваться на фоне частых стрессовых ситуаций, ухудшающих наше здоровье, что следует учитывать при диагностике и лечении различных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Целью данной работы явилось выявление особенностей ЭКГ студентов с выраженной симпатикотонией. В исследовании принимали участие 30 студентов-добровольцев 2-го курса ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, Воронеж. Для достижения поставленной цели мы регистрировали АД и ЭКГ пациентов в трёх стандартных отведениях, в следующих функциональных состояниях: состоянии покоя, при задержке дыхания, после физической нагрузки. Отмечено, что ЭКГ обследуемых студентов в покое с высоким и нормальным вегетативным индексом в пределах возрастной нормы. Выявлены отличия между средними численными значениями ЭКГ при разных функциональных состояниях организма (разность в длительности сегментов, зубцов и комплексов). Выявлены отличия усредненных параметров ЭКГ при одинаковых состояниях у людей с разным вегетативным индексом (симпатотоники и нормотоники). Как мы полагаем, причиной разности в параметрах электрокардиограмм у симпато- и нормотоников является преобладание влияния симпатической нервной системы у симпатотоников, в связи с чем их сердечная деятельность быстрее подстраивается под влиянием функциональных нагрузок. Быстрое изменение раздражителей находит быстрый отклик в изменении ЧСС и числовых показателей зубцов, сегментов, интервалов и комплексов ЭКГ симпатотоников.

### **ИНДЕКС МАССЫ ТЕЛА (ИМТ) И БИОЛОГИЧЕСКИЙ ВОЗРАСТ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ**

**М. Орников, А. Сафаров** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Биологический возраст отражает рост, развитие, созревание и старение организма. Он определяется совокупностью структурных, функциональных, обменных, регуляторных особенностей и адаптационных возможностей организма. В связи с этим определение биологического возраста используется для интегральной оценки здоровья человека с учетом его индивидуальных особенностей. Значительное опережение или отставание биологического возраста по отношению к календарному может интерпретироваться как признак снижения уровня здоровья человека. Известно, что по динамике ИМТ можно совершенствовать профилактические мероприятия по укреплению здоровья студентов, улучшению их физической работоспособности, а также совершать контроль и оценку физического и функционального состояния студентов. Целью нашего исследования явилось изучение индекса массы тела и биологического возраста в оценке состояния здоровья студентов. Нами обследовано 721 студента. Для расчета биологического возраста использовали следующие показатели: массу тела (кг), пульсовое артериальное давление (мм. рт. ст.), продолжительность задержки дыхания после глубокого вдоха (сек), показатель статической балансировки (сек), индекс самооценки здоровья (баллы). Рост и масса тела измерялись в соответствии с общепринятыми требованиями антропометрии. Распределение обследованных студентов по полученным показателям ИМТ было осуществлено на основе международной классификации ИМТ. Наши исследования показывают о наличии признаков преждевременного старения во всех исследуемых группах студентов. Наибольший уровень старения был определен у юношей. При среднем календарном возрасте 19,1 лет их биологический возраст достигал 39,7 лет, что превышало календарный на 20,6 года или на 207%. Девушки имеют более низкий темп старения по сравнению с юношами. Их биологический возраст превышает календарный на 8,8 лет, что составляет 46%. Наши исследования показывают, что каждый шестой из обследованных (16%) по показателю ИМТ находится в донозологическом состоянии, то есть находится в пограничном состоянии между здоровьем и болезнью за счет нарушения обмена веществ. При этом у 11% обследованных (каждый десятый) отмечается умеренное или контролируемое ожирение. У 3,5% обследованных отмечается отрицательный энергетический баланс, что сопровождается недостаточным весом I и II степени. У 2% обследованных отмечается положительный энергетический баланс, что сопровождается ожирением I и II степени. В современной медицине низкие и высокие показатели индекса массы тела является одним из актуальных проблем, так как по этому показателю можно определить уровень здоровья и своевременно диагностировать донозологическое или преморбидное состояние. Таким образом, полученные результаты биологического возраста у юношей и девушек показали,



меньшую скорость (темпл) старения у девушек по сравнению с юношами. Это согласуется с общим мнением геронтологов, что женщины стареют медленнее и живут дольше на 6–8 лет, что отражает у первых более медленное снижение жизнеспособности по мере старения. По динамике изменения ИМТ можно своевременно принимать меры по регулированию массы тела путем оптимизации сочетания режима питания, труда, отдыха, физических и умственных нагрузок.

### **ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ ОРГАНИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С ГНОЙНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ С ПОМОЩЬЮ КОМПЬЮТЕРНОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ**

**И.С. Гуменюк, Т.В. Гайворонская, С.Е. Гуменюк** *Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Краснодар, Россия*

Цель исследования Лечение пациентов с острыми гнойными заболеваниями является одной из наиболее сложных задач во врачебной практике. Актуальной проблемой является быстрая оценка клинического состояния пациента для прогнозирования течения заболевания и назначения препаратов для коррекции гипоксических состояний. Целью исследования явилась разработка экспресс-метода оценки реактивности организма с помощью компьютерного анализа микрофотографий гнойного отделяемого. Материалы и методы исследования Для количественной оценки был произведен забор гнойного отделяемого по стандартной методике у пациента с флегмоной нижней челюсти. Мазки были нанесены на стерильные предметные стекла, с фиксацией термическим методом. Было проведено окрашивание образцов по Граму по стандартному протоколу. Полученные препараты были сфотографированы с помощью встроенной камеры микроскопа Olympus IX-51 (объектив  $\times 100$ , окуляр  $\times 10$ ). Для каждого мазка было получено 60 случайных полей зрения. Был разработан оригинальный алгоритм на языке Python с применением библиотеки OpenCV. Алгоритм заключается в выделении двух групп объектов, отличающихся формой и линейными размерами: микробных тел и лейкоцитов. Для сегментации применяется адаптивный вариант фильтра Otsu и watershed-алгоритм. Результаты сохраняются в текстовый файл в CSV-формате. Результаты Разработанный метод показал низкий процент ложноотрицательных и ложноположительных ошибок. Среднее время обработки одного изображения составило  $15,28 \pm 0,12$  с на ПК с процессором Intel Pentium G630, 2.70 ГГц. При этом анализ одного поля зрения по стандартной методике в камере Фукса-Розенталя сотрудником лаборатории составляет около 90 минут. Для 60 полей зрения суммарное количество идентифицированных микроорганизмов составило 88465, количество лейкоцитов составило 13268. Был получен эмпирический коэффициент иммунологического статуса, определяемый как отношение иммунокомпетентных клеток к количеству микробных тел. Для проведенного исследования коэффициент составил 6,68, что свидетельствует о выраженном иммунном ответе при высоком уровне бактериальной обсеменности. Данные, полученные экспресс-методом, соответствовали клиническому состоянию пациента.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПОЧЕК У СОБАК В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ**

**Р.С. Мираков, Х.М. Мираков, Н.Я. Шукурова**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Процесс реадaptации к высокогорью изучали в эксперименте на контрольных (интактных) собаках, которые в течение одного месяца находились в условиях высокогорья (перевал Анзоб, 3375 м над ур.м.), а затем были перемещены в долину (Душанбе, 820 м над ур. м.). На 3 сутки после спуска с гор отмечается резкое угнетение (в 1,3 раза) почечного плазмотока ( $313,7 \pm 25,8$  мл/мин.) по сравнению с 30-ми сутками исследования в высокогорье ( $396,3 \pm 23,3$  мл/мин.) и исходным показателем ( $416,6 \pm 14,2$  мл/мин.). Начиная с 10 суток реадaptации выявлялась тенденция к нормализации почечного плазмотока. Однако на 30 сутки его показатель все же оставался достоверно пониженным и составил лишь 86,6% от исходного уровня. Показатели клубочковой фильтрации на 3 сутки реадaptации свидетельствовали о нестабильности почечного плазмотока и функции клубочков. Отмечалось почти двукратное ( $p < 0,05$ ) снижение данного показателя ( $37,9 \pm 4,4$  мл/мин.) относительно исходного ( $70,6 \pm 4,9$  мл/мин.) и в 1,3 раза по сравнению с таковым на 30 сутки в высокогорье. В связи с этим, показатели остаточного азота и креатинина в крови сохранялись на высоком уровне. В последующие сроки исследования, вплоть до завершения опыта, показатели клубочковой фильтрации постепенно возрастали. Так, на 30 сутки клубочковая фильтрация увеличивалась до  $52,1 \pm 5,13$  мл/мин. и составляла 74,1% ( $p < 0,05$ ) от исходной. На 3 сутки после спуска с гор показатель канальцевой реабсорбции ( $97,4 \pm 0,6$  мл/мин.) был выше характерного для последнего дня пребывания в горах и исходного значения (соответственно:  $96,1 \pm 1,9\%$  и  $94,0 \pm 1,1\%$ ). Начиная с 10 суток реадaptации, уровень данной функции понижался. В результате этого на 30 сутки канальцевая реабсорбция практически не отличалась от таковой в долине. Можно предположить, что сохранение высокого уровня канальцевой реабсорбции связано с реадaptационной перестройкой органа, направленной на сохранение гомеостаза. Установлено, что на 3 сутки после спуска с гор фильтрационная фракция ( $11,6 \pm 1,8\%$ ) было меньше таковой на 30 сутки адаптации ( $13,0 \pm 0,8\%$ ) и почти в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) меньше по сравнению с исходным ( $17,3 \pm 2,1\%$ ). По мере увеличения срока реадaptации отмечалась явная тенденция к нормализации – цифры с каждым сроком возрастали и на 30 сутки этот показатель составил 85,5% от исходного значения.

### **ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ БАЛАНС ПОЧКИ У СОБАК В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ**

**Р.С. Мираков, Х.М. Мираков, М.Б. Фахридинов**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, г. Душанбе, Таджикистан*

Процесс реадaptации к высокогорью изучали в эксперименте на собаках, которые в течение одного месяца находились в условиях высокогорья (перевал Анзоб, 3375 м над ур.м.), а затем были перемещены в долину (Душанбе, 820 м над ур. м.). Нами установлено, что концентрация натрия в плазме на 3–10 сутки после спуска животных с гор незначительно, а в эритроцитах достоверно снижается. На 30 сутки концентрация внутриклеточного натрия приближается к исходному уровню. Вероятно, пониженное содержание натрия в плазме и эритроцитах крови в начальные сроки после спуска с гор связано с реадaptационной перестройкой коры надпочечников. На 3 сутки после спуска животных с гор концентрация калия в плазме крови увеличивалась ( $4,9 \pm 0,1$  ммоль/л) по сравнению с 30 сутками в высокогорье ( $4,0 \pm 0,1$  ммоль/л) и достигала исходного уровня ( $4,8 \pm 0,05$  ммоль/л). Одновременно с уменьшением содержания натрия в плазме и эритроцитах, значительно возрастала (в 1,2

раза,  $p < 0,05$ ) концентрация калия в эритроцитах по сравнению с 30 сутками адаптации, и в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) – относительно исходной. По мере увеличения сроков реадaptации показатели содержания калия постепенно снижались и приближались к нормальным значениям, характерным для долины. На 30 сутки данный показатель составил 106% относительно исходного значения. Концентрация калия в двухчасовой порции мочи на 3-10 день после спуска с гор была резко (почти в 3 раза,  $p < 0,05$ ) понижена относительно 30 суток адаптации к высокогорью и в 4 раза ( $p < 0,05$ ) – исходной. Снижение данного показателя продолжалось до конца эксперимента. На 30 сутки реадaptации выделение калия почками достигало минимального значения и составило лишь 16% ( $p < 0,05$ ) от исходного показателя. Для поддержания уровня натрия и калия в плазме повышалась реабсорбционная способность канальцевого эпителия. Об этом свидетельствовало достоверное снижение показателей клиренса и экскретируемой фракции калия, отмеченное с 3 суток реадaptации.

Таким образом, у собак после спуска с гор в долину отмечались выраженные изменения функциональной способности почек и водно-электролитного баланса, большинство показателей которых к концу эксперимента не возвращались к исходным значениям. Однако, по сравнению с адаптационным периодом к высокогорью, реадaptационный характеризуется более выраженным и ускоренным темпом (после 10 суток) нормализации функций почек.

### **АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОБМЕН ПРИ НЕВРОЗАХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

**М.Н. Нажмидинова, Э.Д. Шамсиев, М.А. Абдусатторова**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Неврозы отличаются обратимостью нервнопсихических расстройств и отсутствием выраженных патоморфологических изменений в нервной системе. Им обычно противопоставляются органические поражения нервной системы – инсульт, энцефалит, неврит. Это не означает, что неврозы лишены всякого материального субстрата – имеются тонкие преходящие изменения в структуре нервных клеток и в течении обменных процессов на разных уровнях нервной системы, прежде всего в коре и подкорке. Известно, что концентрация свободных аминокислот в сыворотке крови чувствительны к изменению функционального состояния организма. Изменения показателей аминокислотного обмена могут послужить объективным критерием в дифференциальной диагностике различных форм неврозов. Целью исследования явилось изучить взаимодействие комплекса клинической симптоматики, аминокислотного обмена у больных различной формой невроза, с установлением количественных и качественных критериев прогнозирования тяжести заболевания и эффективности лечения.

Нами был сделан анализ аминокислотного обмена 54 больным с различными формами невроза: 20 (37%) больных с неврастенией, 18 (33%) с неврозом навязчивых состояний и 16 (30%) с истерией. Нами отмечено следующие изменения в составе свободных аминокислот в сыворотке крови больных различной формы невроза: 1) тирозин в контрольной группе  $0,025 \pm 0,001$ ; при неврастении  $0,138 \pm 0,036$ ; при неврозе навязчивых состояний  $0,118 \pm 0,025$ ; при истерии –  $0,153 \pm 0,051$ . 2) фенилаланин в контрольной группе  $0,047 \pm 0,004$ ; при неврастении  $0,110 \pm 0,09$ ; при неврозе навязчивых состояний  $0,088 \pm 0,013$ ; при истерии  $0,150 \pm 0,046$ . Наши исследования показывают, что в всех формах отмечается достоверное увеличение концентрации тирозина и фенилаланина. При этом отмечается существенное увеличение концентрации тирозина и фенилаланина при неврастении и истерии. На втором месте при неврозах навязчивых состояний. Следует отметить, что после лечения концентрация тирозина и фенилаланина снижается незначительно и при всех формах невроза остается выше нормы. Из наших результатов следует, что более объективным критерием эффективности лечения является возвращение концентрации тирозина и фенилаланина до уровня, отмечаемого у здоровых людей. Аминокислотный обмен зависит не только от формы невроза, но и степени ее тяжести. Количество тирозина при I и III степени практически не отличается. Отмечается увеличение только при II степени. Количество фенилаланина зависит от тяжести заболевания: по мере тяжести уменьшается количество фенилаланина. Таким образом, динамика значений аминокислотного обмена показывает, что эти показатели можно использовать для дифференциальной диагностики, контроля эффективности лечения и оценки тяжести заболевания.

### **ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ СИСТЕМ ФАЦИАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ У БЕЛОЙ МЫШИ**

**И.В. Пронищев, Е.А. Мокрушина, Н.А. Худякова, С.А. Есаков** *Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия*

Формирование функционального комплекса лицевых мышц у млекопитающих приводит к установлению сложных взаимоотношений между отдельными его элементами. Эти взаимоотношения выражаются в чрезвычайном разнообразии лицевой мускулатуры в пределах не только крупных, но и мелких таксонов класса. Несомненно, что вместе с развитием и усложнением лицевой мускулатуры формировались и новые центральные системы управления данными мышцами. Однако сегодня очевидна слабая изученность этих систем. Проведенное нами исследование позволило выявить организацию двух основных систем регуляции активности лицевой мускулатуры – кортико- и тектофациальной. Показаны принципиальные отличия в организации и функционировании кортикофациальных и кортикоспинальных связей, что позволяет говорить о разных источниках формирования нисходящих путей. Показано четкое разделение функций двух систем регуляции активности лицевой мускулатуры, несмотря на общность данных систем на низших звеньях их структурной организации. Показана гетерохрония в созревании кортико- и тектофациальной систем в ходе раннего постнатального онтогенеза. Проведенное исследование позволило составить схему основных структур и путей, участвующих в регуляции активности лицевой мускулатуры.

### **НЕЙРОПЕПТИДЫ В СИСТЕМНОЙ И ЛИКВОРНОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ**

**Т.С. Сулаквелидзе** *Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия*

В последние годы многосторонние доказательства роли вазопрессина (V.) и окситоцина (O.) не только как периферических гормонов, но и нейропептидов. Среди нейропептидных систем существенное место занимают вазопрессин и окситоцинергические; их аксональные проекции идут не только в задний гипофиз и срединное возвышение, но и в лимбическую систему, ствол мозга, спинной мозг, а рецепторы к ним присутствуют в различных нейронах мозга, астроцитах, их периваскулярных окончаниях, в эндотелиальных и гладкомышечных клетках церебральных сосудов; высокая плотность V2 рецепторов V выявлена в хориоидальном сплетении. Транспортеры O. и V. прослеживаются иммуногистохимически далеко за пределами гипоталамуса. Недаром ряд авторов подчеркивает, что V. и O., по сути дела, пептиды мозга, а не гипофиза. Мы оценили био- и радиоиммуноанализом уровни V. в одномоментно изъятых пробах периферической крови и ликвора ( $n=80$ ) у бодрствующих

собак, находившихся в условиях разных водно-солевых режимов. При содержании животных 18 часов без пищи при свободном доступе к воде концентрация гормона в плазме крови колебалась в пределах  $2,21 \pm 0,53$  пч/мл, в ликворе оказался на уровне  $4,21 \pm 0,91$  пч/мл, т.е. был значимо выше ( $p < 0,005$ ) плазменного. В условиях 84-х часовой водной депривации концентрация в ликворе возросла до  $18,53 \pm 2,20$  пч/мл интересно, что рост уровня гормона в ликворе отмечился и на фоне гипергидратации (инфузия в вену  $0,007$  М NaCl), хотя его концентрация в плазме при этом практически не изменилась ( $p < 0,01$ ). Сдвиги уровней гормона в двух биологических средах при гипергидратации носили противоположный характер V., что подтверждалось и наличием средней силы обратной корреляционной зависимости ( $r = -0,61$ ). В то же время обнаружались прямые и сильные корреляционные отношения между концентрациями V. в ликворе до и после инфузии гипотонического раствора NaCl (в том числе и на фоне наркоза) –  $r = +80$ . Таким образом, во всех условиях изменённой гидратации организма собак выявлены в ликворе большие, чем в крови уровни V. Что касается O., то наши исследования показали, что ликвор большой цистерны мозга нормогидратированных бодрствующих собак (как самцов, так и самок) обладает окситоциновой активностью (ОА), уровень которой ( $180,3 \pm 34,5$  МЕ/мл) выше плазменного ( $59,21 \pm 10,41$  МЕ/мл, а в условиях водной депривации он значимо возрастает ( $p < 0,01$ ). Аналогичные перепады в уровнях V. и O. мы выявили у пациентов ( $n = 24$ ) нейрохирургического отделения РКБ Махачкала. Следовательно, и экспериментальные, и клинические исследования подтверждают наличие V. и O. не только в системно, но и ликворной циркуляции, они прямо секретируются в ликвор, поскольку гематоэнцефалический барьер для них непроницаем.

### **ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИЗУЧЕНИЕ КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТРАВМАХ СПИННОГО МОЗГА**

**Т.С. Сулаквелидзе, Х.А. Нурмагомедова, А.А. Ахмеджанова, Р.Р. Бидалова, Р.Э. Гарунова, Н.А. Загирова, А.Х. Измайлова**  
*Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия*

Возможность частичного восстановления функций и структуры спинного мозга (СМ) после его повреждения остается труднейшей проблемой и в наши дни. Вопрос разрабатывается в основном на животных, использование полученных результатов в клинике фактически отсутствует. А ведь со второй половины XX века начала кардинально меняться логика нейронаук, которые строились на основной догме: фенотип нервной клетки, её функциональные свойства predeterminedены генетически и остаются неизменными в течение всей жизни. Лишь относительно недавно получены прямые доказательства, что в течение всей жизни животных и человека дегенерирующие нейроны заменяются новыми в участках, распространенных в толще больших полушарий. В условиях травм этот процесс усиливается (М. Угрюмцев, 2008). Еще в 1974 году Мусалов Г.Г. в своей докторской работе описал различные формы адаптационно компенсаторных приспособлений при травмах. Вызывавшие ранее рядом авторов сомнения по поводу данных сотрудников нашей кафедры о прорастании регенерирующих аксонов через спинномозговой рубец после перерезки СМ, стремительно пополняются получением результатов о его массивной регенерации (Grill et al. J. Neurol. Vol. 17). Что может препятствовать или содействовать этим процессам? Необходимо, модифицировать образование рубца введением эмбриональной ткани в место травмы (В.Н. Ярыгин и др. Морфология, 2005, № 2). Далее анализировать динамику состояния перекисного окисления липидов в гомогенатах тканей спинальных крыс, крови и ликворе спинальных пациентов, ибо свободные радикалы, образующиеся в месте травмы и «убивающие» нервные клетки являются дополнительными факторами, расширяющими зону вторичного повреждения нейронов. Учитывая необходимость оценки соматических функций, на каждой кафедре совершенствуют созданный корсет-механограф (Мусалов Г.Г.) для сравнительного изучения последовательности двигательных актов задних лап у спинальных собак с одновременной регистрацией биопотенциалов в соответствующих центрах. Сотрудники кафедры продолжают углублять и расширять проблемы оценки функций почек. Здесь особо отметили разработанный Р.Э. Гаруновой (впервые в России) способ изучения парциальных функций почек с помощью  $\lambda$ -ксилозы, когда одним исследованием можно оценить выделительную и концентрационную способности почек, а также общее пространство распределения жидкости, что особенно важно при наличии склонности у спинальных организмов к развитию отёчного состояния тканей. Продолжаем детально изучать резервные функции почек применением в/в дозированных водно-солевых нагрузок, используя сконструированный специальный станок и «обменную клетку» (А.А. Ахмедханова, Н.А. Загирова, Н.Д. Вихрова, Г.Г. Мусалов, Т.С. Сулаквелидзе). Выполняемые работы имеют и прикладное значение, что подтверждается, в частности, сотрудничеством с кафедрой нейрохирургии ДГМА.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ГОНАДОТРОПНЫХ ГОРМОНОВ И АНДРОГЕНОВ У ЖЕНЩИН, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЗЛИЧНЫХ КЛИМАТОГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ**

**Ф.Т. Халимова, А.В. Гулин, Ф.А. Шукуров**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Изучали концентрацию гонадотропинов (пролактина, ФСГ, ЛГ, эстрадиола, прогестерона) и андрогенов (тестостерона, ДГЭА-С, 17-ОП). На основе полученных в ходе исследований данных выведены среднерегиональные значения показателей репродуктивных гормонов. Полученные результаты были использованы нами в дальнейших исследованиях в качестве региональной нормы гормональных параметров у женщин фертильного возраста, проживающих в Липецкой области (РФ) и в Файзабаде (РТ) в соответствующих климато-географических условиях с низкой антропо-техногенной нагрузкой. При расчёте нормативных характеристик гормонального статуса для российских и таджикских женщин, были отмечены различия. Исследования показали, что у таджикских женщин уровень гонадотропных гормонов был ниже, чем у российских женщин: ФСГ – на 20,0%, ЛГ – на 18,0%, прогестерон – на 36,0%, эстрадиол – на 16,6%, пролактин – на 32,2%. Уровень андрогенов у таджикских женщин выше, чем у российских женщин: тестостерона – на 21,0%, 17-ОП – на 30,0%, ДГЭА-С – на 25,5%. На основании совокупности полученных результатов, из числа обследуемых была определена группа риска развития нарушений репродуктивной функции: группу риска I составили женщины, проживающие в Липецкой области, группу риска II составили женщины, проживающие в Файзабаде. Сравнительный анализ значений репродуктивных гормонов группы риска со среднерегиональными нормами выявили, что у 65% российских и 70% таджикских женщин уровень гонадотропных гормонов был ниже среднерегиональных. У 35% российских женщин и 30% таджикских уровень этих гормонов был выше среднерегиональных норм. Сравнительный анализ андрогенов группы риска со среднерегиональными нормами показывает, что у 80% российских и 89%

таджикских женщин группы риска уровень тестостерона, 17-ОП и ДГЭА –С был выше среднерегиональных значений. У остальных (20% российских и 11% таджикских женщин), уровень этих гормонов статистически не отличается.

Таким образом, популяционно-физиологическое исследование показало, что варианты нормы гормональной активности организма связаны с этническими и климато-географическими факторами. Отмечена общая специфика секреции гонадотропных гормонов у таджикских женщин в сравнении с российскими, свидетельствующая об их более низком уровне функционирования, сравнительно со среднеширотными нормативами.

### **РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЦИКЛОФИЛИН А ЧЕЛОВЕКА – ИНДУКТОР СЕКРЕЦИИ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ**

**Л.М. Хромых, М.А. Замкова, А.А. Калинина, Д.Б. Казанский**

*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия*

Циклофилин А (ЦФА) – белок с молекулярной массой 18 кДа, обладающий цис-транс-изомеразной активностью и имеющий широкий спектр разнообразных функций. ЦФА является провоспалительным фактором, привлекающим клетки иммунной системы в очаг воспаления и участвующим в патогенезе таких заболеваний, как диабет, вирусные, аутоиммунные, аллергические, кардиологические и др. Известно, что такие воспалительные цитокины, как: ИЛ-6, ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  являются основными стимуляторами секреции белков острой фазы воспаления (БОФ) гепатоцитами печени. Так как ЦФА также является фактором воспаления, цель настоящей работы заключалась в оценке способности рекомбинантного ЦФА человека (рЦФА) индуцировать секрецию БОФ. рЦФА (продуцент *E.coli*, чистота 98% по электрофорезу) вводили внутривенно однократно мышам в дозах 0,1; 2,0; 750; 1500 мг/мышь. Через 24 часа мышей умерщвляли, печень извлекали, выделяли РНК и с помощью реакции обратной транскрипции получали кДНК согласно протоколу производителя. Далее определяли уровень секреции ряда БОФ методом количественного ПЦР с использованием праймеров, выявляющих сывороточный амилоид А 1 и 2 (SAA1 и 2), гаптоглобин (Hr),  $\alpha$ -1 кислый гликопротеин (AGP), компонент сывороточного амилоида Р (Acrp) и гемопексин (Hrx). В качестве контроля использовали ген гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазы. Реакцию проводили на приборе BioRad CFX96 с применением красителя SYBR Green (ДНК-Синтез). Было показано, что самый высокий уровень секреции анализируемых БОФ наблюдали при использовании максимальных концентраций рЦФА (750; 1500 мг/мышь). Концентрация исследуемых белков в различных случаях увеличивалась в 16–130 раз относительно контрольных значений. Меньшие дозы рЦФА (0,1; 2,0 мг/мышь) достоверно увеличивали секрецию только белков SAA1 и 2 (в 2–32 раза относительно контроля). С-реактивный белок (СРБ), который у человека является мажорным белком острой фазы воспаления, у мышей таковым не является, и его концентрация при воспалении практически не возрастает. Введение рЦФА во всех используемых дозах также не оказывает влияние на данный показатель. Таким образом, было показано, что высокие концентрации рЦФА способны индуцировать секрецию ряда БОФ, что может иметь место в клинической практике при хронических воспалительных заболеваниях.

### **ВЛИЯНИЕ 4-МЕТИЛБЕНЗОДИАЗЕПИНОНА-2 В СВЕРХМАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА В НОРМЕ И НА ФОНЕ БЛОКАДЫ D2 РЕЦЕПТОРОВ**

**И.В. Черетаев, Д.Р. Хусаинов, И.И. Коренюк**

*Таврическая академия, Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия*

4-метилбензодиазепин-2 является перспективным соединением, обладающим антидепрессантными свойствами в различных концентрациях. Цель исследования – изучить влияние сверхмалых концентраций 4-метилбензодиазепина-2 поведение крыс в тесте Порсолта в норме и на фоне угнетения дофаминергической системы. Изучали поведение 80 крыс, разделённых на 8 групп по 10 особей. Контрольной группе за 30 мин. до эксперимента вводили внутривенно физиологический раствор; трём экспериментальным – 4-метилбензодиазепин-2 в одной из сверхмалых концентраций (1, 0.01 и 0.1 пико-моль/л). Четырём другим группам в течение трёх дней предварительно вводили внутривенно галоперидол в дозе 2,5 мг/кг («Дарница», Украина) для блокады D2 рецепторов; затем трём из этих четырёх групп за 30 мин. до тестирования вводили внутривенно 4-метилбензодиазепина-2 в указанных концентрациях. По результатам теста Порсолта рассчитывали индекс депрессивности (ИД) – отношение времени пассивного плавания животных к времени активного. Статистическую обработку результатов проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. ИД в контроле составил  $1.25 \pm 0.40$  усл. ед., после введения галоперидола –  $3.09 \pm 0.62$  усл. ед., а после инъекций 4-метилбензодиазепина-2 в сверхмалых концентрациях этот показатель составил –  $0.97 \pm 0.11$  (1 пико-моль/л),  $0.68 \pm 0.13$  (0.1 пико-моль/л) и  $1.60 \pm 0.34$  усл. ед. (0.01 пико-моль/л) соответственно. Следовательно, 4-метилбензодиазепин-2 проявлял антидепрессантные свойства в концентрации 0.1 пико-моль/л (ИД в данной концентрации составлял менее 1.0 и достоверно отличался от контроля при  $p \leq 0.05$ ) при функционировании дофаминергической системы в норме. После инъекций 4-метилбензодиазепина-2 на фоне блокады D2-рецепторов галоперидолом ИД достоверно изменялся ( $p \leq 0.01$ ) и составил  $3.93 \pm 0.43$  (1 пико-моль/л),  $4.19 \pm 0.21$  (0.1 пико-моль/л) и  $7.22 \pm 0.85$  усл. ед. (0.01 пико-моль/л) соответственно, т. е. данное соединение приобретало продепрессантные свойства. Это позволяет считать, что D2 рецепторы участвуют в реализации антидепрессантного эффекта 4-метилбензодиазепина-2 в концентрации 0.1 пико-моль/л. Необходимы дальнейшие исследования роли дофаминергической системы в психоактивных свойствах этого вещества.

*Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № 2015/701 Минобрнауки России.*

### **СОСТОЯНИЕ ВАЗОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У МУЖЧИН РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАКТОРОВ РИСКА**

**И.Ф. Шлык, Л.П. Сизякина, Р.В. Сидоров, З.С. Тагиров, В.Ю. Мартиросов, С.В. Шлык**

*Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия*

В основе развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) лежит изменение функции микроциркуляторного русла, поэтому представляет интерес изучение влияния курения на показатель кровотока капиллярного русла у лиц молодого и среднего возраста. В исследовании приняли участие 83 респондента. Из них 20 человек (Гр1) составили лица молодого возраста ( $24,3 \pm 2,6$  года) и 23 респондента – лица среднего возраста  $46,2 \pm 4,5$  лет (Гр2), не имеющие вредных привычек. В группу 3 вошли 19 человек молодого возраста ( $23,4 \pm 3,2$  года), имеющие стаж курения  $4,6 \pm 2,8$  лет, в группу 4, 21 респондент

среднего возраста ( $47,5 \pm 5,4$  лет) со стажем курения  $15,3 \pm 4,7$  лет. В исследование вошли только лица, у которых не было выявлено признаков ССЗ. Показатели гемодинамики в капиллярном русле оценивали ультразвуковым методом аппаратом «Минимакс-доплер-К». Анализировали максимальную систолическую скорость кровотока  $V_s$  (см/с). Данный показатель оценивали исходно, сразу после окклюзионной пробы, на 1, 3 и 5 минут. Адекватной реакцией на пробу считалась при увеличении кровотока сразу после пробы на 20%, неадекватной – отсутствие или недостаточное увеличение кровотока, увеличение кровотока на 3, 5 минут. Парадоксальная реакция – снижение кровотока в ответ на пробу. Исходные показатели были сопоставимы между собой во всех группах. При проведении окклюзионной пробы в Гр 1 наблюдалось увеличение кровотока, по сравнению с исходным значением ( $3,2 \pm 0,3$ ), сразу после пробы ( $4,1 \pm 0,2$ ) на 21% ( $p < 0,05$ ) с возвратом к исходным показателям к 5й, т.е. в данной группе динамика кровотока была адекватной. В Гр2 сразу после пробы ( $2,5 \pm 0,5$ ), по сравнению с исходными значениями ( $4,1 \pm 0,4$ ), наблюдалась парадоксальная реакция в виде снижения кровотока на 60% ( $p < 0,05$ ), с восстановлением показателя к 5й мин ( $4,3 \pm 0,6$ ). В Гр3 увеличение кровотока на 25% ( $p < 0,05$ ) отмечалось лишь к 1й мин ( $4,9 \pm 0,4$ ) по сравнению с исходным ( $3,9 \pm 0,3$ ), с восстановлением к 5й мин. В Гр4 наблюдалось отсутствие динамики кровотока при проведении пробы. Таким образом, на вазомоторную функцию эндотелия оказывают влияние не только курение, его стаж, но и возраст. Данный метод исследования применим у пациентов различного возраста для выявления изменений вазомоторной функции эндотелия с целью разработки профилактических мероприятий.

### **СОСТОЯНИЕ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ У МЕСТНЫХ ЖИТЕЛЕЙ ВЫСОКОГОРЬЯ**

**Ф.А. Шукуров, Е.Ю. Салихова, З.У. Арабова** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан, Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан*

Известно, что в горах человек подвергается воздействию комплекса факторов, определяющим из которых для человеческого организма является пониженное парциальное давление кислорода. Высотный порог, вызывающий соответствующие сдвиги в организме человека, зависит от индивидуальных особенностей, пола и возраста людей, их физического и психического состояния, уровня тренированности, наличия «высотного опыта». Нами исследованы местные жители пос. Мургаб Восточного Памира (высота 3660 м над ур. м). Состояние симпатoadренальной системы оценивали по основным статистическим показателям вариативности сердечного ритма. Для этой цели мы непрерывно регистрировали ЭКГ с помощью программы "Поли-Спектр-Экспресс" в состоянии покоя. Используя данную методику, можно оценить уровень напряжения регуляторных механизмов и активность симпатoadренальной системы. Определяли следующие показатели: среднее квадратичное отклонение ( $\sigma$ ), модуль – абсолютное значение наиболее часто повторяющегося кардиоинтервала ( $M_o$ ), амплитуду модуля – частоту встречаемости  $M_o$  в процентах ( $A M_o$ ), индекс напряжения (ИН), вегетативный показатель ритма (ВПР), индекс вегетативного равновесия (ИВР). Анализ наших результатов показывает, что по вышеизложенным показателям можно количественно оценить степень активности симпатoadренальной системы. У большей части местных жителей высокогорья по всем показателям отмечается повышение тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы (по  $\sigma$  – 54%,  $M_o$  – 33%,  $A M_o$  – 46%, ВПР – 50%, ИН – 62%, ИВР – 58%). Однако, следует отметить, что среди постоянно проживающих в условиях высокогорья встречаются лица с разной степенью активности симпатoadренальной системы (по  $\sigma$  – 21%,  $M_o$  – 25%,  $A M_o$  – 26%, ВПР – 12%, ИН – 16%, ИВР – 11%). Среди обследованных отмечаются лица с вегетативным балансом (нормотонический тип регуляции): по  $\sigma$  – 25%,  $M_o$  – 42%,  $A M_o$  – 24%, ВПР – 38%, ИН – 23%, ИВР – 31%.

Таким образом, среди местных жителей высокогорья в состоянии покоя отмечается повышение активности симпатoadренальной системы различной степени, что количественно отражается основными показателями математического анализа сердечного ритма. У этих лиц резко снижены функциональные резервы и адаптационные возможности организма.

### **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ОРГАНИЗМА СПОРТСМЕНОВ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ РАЗЛИЧНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ**

**В.С. Юферев, С.А. Крюков**

*Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия*

Целью работы явилось изучение возрастных особенностей формирования энергетического потенциала организма спортсменов с различной направленностью тренировочного процесса. Методы исследования. Обследовано 2528 спортсменов мужского пола 9–26 лет. Применяли антропометрию, динамометрию, спирометрию, велоэргометрию, анализ тренировочных программ. Результаты. Установлено, что изменение направленности нагрузок проявлялось в степени реализации аэробных возможностей на ранних этапах спортивной подготовки. Подтверждением выявленной тенденции явилась возрастная динамика соотношения фактических показателей МПК (ФМПК) с их должными величинами (ДМПК). Наиболее существенная разница между ДМПК и ФМПК наблюдалась нами в возрасте 11–12 лет. У спортсменов, представителей циклических видов спорта и тенниса, различия в среднем составили 25–32%, ( $p < 0,05$ ). При этом на данном этапе подготовки, совпавшем со вступлением подростков в период полового созревания, возросла доля физических нагрузок на выносливость. У гимнастов эта разница достигала более 40%, ( $p < 0,01$ ), одновременно значительно увеличилась доля физических нагрузок силовой направленности. У единоборцев, наибольшая разница между ФМПК и ДМПК зарегистрированная в возрасте 10 лет составила более 39%, ( $p < 0,05$ ). Начало периода пубертата, у этих спортсменов, не сопровождалось снижением аэробных способностей, по отношению к предыдущему этапу онтогенеза. Напротив, различия между ФМПК и ДМПК зарегистрированные нами в десятилетнем возрасте, постепенно уменьшались. В то же время, у данной группы спортсменов в возрасте 10–14 лет доля средств, направленных на развитие координационных способностей превышала долю средств кондиционной тренировки. Корреляционный анализ величин параметров физических нагрузок с МПК показал, что объемы средств, направленных на развитие силовых способностей и выносливости на ранних этапах спортивной подготовки отрицательно коррелируют с МПК. Высокие положительные корреляционные взаимосвязи между объемами средств, связанных с развитием координационных качеств и МПК, выявлены у всех испытуемых. Выводы. На ранних этапах спортивной подготовки направленность тренировочных нагрузок, воздействует на процессы формирования энергетического потенциала организма, что должно учитываться при построении тренировочных программ.

**РОЛЬ ЛИМБИЧЕСКОГО МОЗГА В ПОВЕДЕНИИ РЕПТИЛИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА****М.Б. Устоев, М.Д. Обидова, С.С. Саидова** *Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан*

Эволюционный подход к изучению подвижности функционирования ряда функциональных систем у позвоночных различной филогенетической линии в процессе приспособления их к среде обитания являются одним из важнейших и малоизученных направлений в современной нейробиологии. Проведено сравнительное изучение роли лимбического мозга гиппокампа, ВВД и УРД у черепах в разные сезоны года. Эксперименты по изучению различных форм условнорефлекторной деятельности у черепахи проводились в двух сериях. Показано, что у черепах с разрушенным гиппокампом выработка пищеводвигательного условного рефлекса проявляется после  $30,1 \pm 1,0$  и укрепляется после  $96,2 \pm 1,4$  сочетаний. Дифференцировочное торможение у черепахи проявляется после  $38,0 \pm 1,3$  и укрепляется после  $78,0 \pm 2,3$  применений. Другая серия экспериментов проводилась в период эстивации (постепенное вхождение черепах в летнюю спячку). Опыты показали, что в период эстивации в зависимости от физиологического состояния у животных происходит замедление выработки условных рефлексов. Установлено, что положительные условные рефлексы проявлялись после  $49,1 \pm 1,0$  и укреплялись после  $108 \pm 2,0$  сочетаний. Дифференцировочное торможение проявляется после  $42,1 \pm 1,6$  и укрепляется после  $80,0 \pm 1,2$  применений условного сигнала без подкрепления. Характерной особенностью эстивации является снижение числа правильных ответов. Животные становятся менее подвижными, у них ослабевают ориентировочно исследовательские реакции, снижается пищевая мотивация (гипофагия) и нарушаются зоосоциальные взаимоотношения. Результаты полученных данных у степной черепахи показали, что в период эстивации и гипобюза у них наблюдается незначительное нарушение предварительно выработанных положительных условных рефлексов в виде замедления реакции на условные раздражители и снижения пищевой мотивации (гипофагия). Таким образом, в период эстивации у животных с разрушенным гиппокампом была полностью нарушена условнорефлекторная деятельность. У животных отмечалась потеря ориентации, что проявлялось после предъявления положительных и отрицательных условных раздражителей. Это явление мы объясняем нарушениями аналитико-синтетической деятельности мозга. Изложенные данные свидетельствуют об определенных особенностях формирования УРД у животных с разрушенным гиппокампом в различных физиологических состояниях.

**РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТОВ И СЫВОРОТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ДИАГНОСТИКЕ НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ЖЕНЩИН, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЗНЫХ КЛИМАТОГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ****Ф.Т. Халимова** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Здоровье человека формируется в результате сложного взаимодействия наследственно-конституциональных особенностей организма с природой и обществом, при этом имеет место географическая и этническая вариабельность нормы и патологии (Агаджанян Н.А. и соавт., 2007; Халимова Ф.Т. и соавт., 2013; Franchini M. et al., 2015). Известно, что темпы роста плода и развития организма в целом имеют значительные отличия в зависимости от расовой и этнической принадлежности (Захряпина Л.В., 2010; Александрова Е.М., 2014). Репродуктивная функция женского организма во многом зависит от функционального состояния иммунной системы (Халимова Ф.Т. и соавт., 2014, Huang C. et al., 2015). Гуморальное звено иммунитета характеризуют уровни В-лимфоцитов, а также уровни иммуноглобулинов разных классов (IgM, IgG, IgA). Целью нашего исследования явилось определение критериальных значений В-лимфоцитов и сывороточных иммуноглобулинов при формировании группы риска нарушений репродуктивной функции. Установлено, что у таджикских женщин среднерегionalные показатели В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) были выше на 51,6%. Показатели иммуноглобулина IgA были ниже на 40,0%, IgG выше на 18,0%, показатели IgM отличались незначительно, статистически недостоверно. В сравнении со среднерегionalной нормой у 30% российских женщин количество В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) было выше на 42,3%, IgA ниже на 62,5%, IgG выше на 62,5%, количество IgM соответствовало среднерегionalному значению. У 70,0% обследуемых показатели статистически не отличались от среднерегionalной нормы. В сравнении со среднерегionalной нормой у 50,0% таджикских женщин критическое количество В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) было выше на 24,3%, IgA ниже на 38,4%, IgG выше на 15,8%, количество IgM соответствовало среднерегionalному значению. У 50,0% обследуемых показатели статистически не отличались от среднерегionalной нормы. Таким образом, в качестве критериальных показателей для формирования группы риска нарушений репродуктивной функции у российских и таджикских женщин, следует считать показатели В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) и IgG с положительным отклонением от среднерегionalных значений, а IgA – с отрицательным отклонением.

**ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БИОРИТМА ОРГАНИЗМА НА РАЗВИТИЕ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ****Д. А. Шамсиев, Ш.Д. Урунова, Э.Д. Шамсиев***Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Согласно биоритмологии большинство процессов, происходящих в нашем организме, синхронизировано с периодическими солнечно-лунными, земными, а также космическими влияниями. Главным синхронизатором внутриклеточных биоритмов является смена дня и ночи. Организм человека имеет свой собственный положительный заряд. В результате различных факторов организм приобретает избыточный положительный заряд, который смещает внутреннюю среду в кислую сторону и в этих условиях ферменты не могут полноценно расщеплять поступающие в клетку вещества до их конечного продукта. В таких случаях часто развиваются обменные заболевания, в том числе и мочекаменная болезнь (МКБ). Нами исследованы 1703 больных мочекаменной болезнью (950 мужчин и 753 женщин) в возрасте от 20 до 45 лет. Всем больным проводили общеклинические и инструментальные методы исследования (УЗИ мочевыводящих путей, обзорная и экскреторная урография). Анализ результатов проводили с учетом фаз лунного цикла. Из 1703 поступивших больных МКБ у 1440 больных отмечалась тенденция к миграции камней из почек, с приступами почечной колики во II–IV фазы лунного цикла (полнолунии и новолунии). После обследования и уточнения места локализации камней и их размеров больным производили дистанционную ударно-волновую литотрипсию на литотрипторе БАЮН ШАН китайского производства с искро-разрядным принципом генерации ударных волн, оснащенной ультразвуковой системой наведения. Нефролитотрипсия произведена 56 больным, верхняя уретеролитотрипсия – 110, нижняя уретеролитотрипсия – 130 и цистолитотрипсия – 19 больным. При помощи пневматического литотриптора фирмы KARL STORZ 178 больным произведена контактная трансуретральная пневматическая литотрипсия и с помощью Гольмиевой лазер-меди Pulse Tower 30+ фирмы Richard Wolf 44 больным произведена трансуретральная

контактная лазерная литотрипсия. При этом учитывалось влияние гравитационного и магнитного поля Солнца и Луны на биоритмы организма, которые способствуют миграции камней из почек. При диаметре камня мочеточника меньше 0,8 см больным назначали литокINETическую фитотерапию (водную нагрузку), спазмолитики и уросептики, что привело к спонтанному отхождению конкрементов у 692 пациентов. Больным с противопоказаниями к литотрипсии в экстренном порядке была произведена уретеролитотомия в 136 и цистолитотомия в 111 случаях. В ходе исследования установлено, что наибольшая обращаемость больных мочекаменной болезнью наблюдается во II–IV фазы лунного цикла (полнолунии и новолунии). В эти фазы камни величиной меньше 2 см начинают миграцию из почек, вызывая приступы почечной колики. Это явление необходимо учитывать при лечении больных МКБ.

### **ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ ТРОМБОЦИТЫ И ПРОЦЕСС ИХ ФОРМИРОВАНИЯ**

**С.И. Обыденный<sup>1,2</sup>, А.Н. Свешникова<sup>1,3</sup>, Ф.И. Атауллаханов<sup>1,4</sup>, М.А. Пантелеев<sup>1,4</sup>** <sup>1</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; <sup>2</sup>ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва; <sup>3</sup>Физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>4</sup>Факультет биологической и медицинской физики МФТИ, Москва, Россия

Тромбоциты – безъядерные клетки крови, циркулирующие в крови. Их главной функцией является формирование непроницаемого для крови тромба на месте повреждения сосуда. Тромбоциты циркулируют в неактивированном состоянии, но при взаимодействии с физиологическими активаторами, такими как коллаген и тромбин, тромбоциты активируются. Не так давно было обнаружено, что активированные тромбоциты не гомогенны, а разделяются на две субпопуляции с различными функциями: 1). Тромбоциты, способные к агрегации, но не ускоряющие процессов свертывания. Охарактеризованы как клетки с низким, колеблющимся внутриклеточным кальцием, работающими митохондриями, без отрицательно заряженных фосфолипидов на внешней стороне мембраны (фосфатидилсерин). 2). Тромбоциты не агрегирующие, но ускоряющие процессы свертывания на своей мембране до 5 порядков. Имеют высокий цитоплазматический кальций, неработающие митохондрии, много фосфатидилсерина на поверхности. Соотношение субпопуляций у доноров при одинаковой стимуляции сильно варьируется, большие концентрации активатора увеличивают долю прокоагулянтных клеток от 0 до 90%. Механизм формирования прокоагулянтных тромбоцитов не ясен. Цель: исследовать процесс формирования прокоагулянтных тромбоцитов. Методы: Очищенные от белков плазмы тромбоциты загружались маркерами на цитоплазматический кальций (Fura red), потенциал митохондриальной мембраны (TMRM) и активировались в присутствии аннексина 5. Процесс активации записывался при помощи конфокального микроскопа Zeiss Z1 Cell observer с диском Нипкова. Математическое моделирование внутриклеточной сигнализации. Результаты: Стимуляция тромбоцитов тромбином или SFLLRN вызывает скачки концентрации кальция в цитозоле. Переход в прокоагулянтную субпопуляцию происходит через колебания внутриклеточного кальция. Коллапс митохондрий предшествует повышению внутриклеточного кальция. Вслед за повышением кальция экспонируется фосфатидилсерин.

Митохондрии являются регулирующим механизмом в процессе формирования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов. Начальное состояние тромбоцитов влияет на формирование субпопуляций. Клетки с более высоким исходным уровнем концентрации кальция в цитозоле имеют большую вероятность стать прокоагулянтными в ответ на активацию. *Работа под-держана грантом РФФИ № 16-34-01342.*

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ С СУБПОПУЛЯЦИЯМИ АКТИВИРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ**

**Н.А. Подошва<sup>1</sup>, А.Н. Свешникова<sup>1,3</sup>, Я.Н. Котова<sup>1,2</sup>, Д.Ю. Нечипуренко<sup>1,3</sup>, С.И. Обыденный<sup>1,2</sup>, Ф.И. Атауллаханов<sup>1,3</sup>, М.А. Пантелеев<sup>1,3</sup>** <sup>1</sup>ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ; <sup>2</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; <sup>3</sup>Физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Все основные реакции свертывания крови протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах, в отсутствие которых большинство ферментов проявляют незначительную активность по отношению к своим субстратам. В организме человека такие поверхности предоставляют активированные тромбоциты и их микровезикулы. Как было показано ранее при сильной активации физиологическими агонистами тромбоциты разделяются на две субпопуляции драматически отличающиеся по своим свойствам. Так, например, было показано, что факторы свертывания преимущественно связываются с одной субпопуляцией тромбоцитов, экспонирующей на внешнем слое мембраны фосфатидилсерин. Данные тромбоциты представляют собой шарообразные клетки радиусом около 2 мкм с небольшим уплотнением радиусом около 1 мкм, в которой содержится большое количество адгезионных белков. Методы: Связывание флуоресцентно-меченных факторов с активированными тромбоцитами оценивали с помощью проточных цитометров Accuri C6; Acea NovoCyte 3000, а также с помощью конфокального микроскопа Zeiss Axio Observer Z1. В данной работе было показано, что факторы свертывания X и Xa связываются преимущественно с субпопуляцией ФС-положительных тромбоцитов (кажущаяся  $Kd_{623} \pm 110$  нМ для FX и  $Kd = 65 \pm 22$  нМ для FXa). Кроме того, было показано, что диссоциация факторов представляет собой двухступенчатый процесс с быстрой первой стадией и более медленной второй. При этом, на тромбоцитах оставалось до 10 раз больше фактора, чем можно было ожидать из данных по связыванию. Такое поведение может быть объяснено олигомеризацией факторов, при этом олигомеры обладают повышенной аффинностью при связывании с мембраной. Олигомеризация позволяет факторам задерживаться в пределах тромбоцитарного тромба, предотвращая их размытие и эмболизацию сосуда. Все изученные факторы свертывания, IXa, Xa, X, V / Va, VIII / VIIIa, протромбин, а также аннексин V распределены неоднородно на мембране ФС-положительных тромбоцитов, и в основном локализованы в небольшой области мембраны, где их средняя концентрация выше в несколько раз. Подобное концентрирование факторов может приводить к ускорению до 50 раз реакции активации фактора X комплексом внутренней теназы. *Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-01342, 16-34-00651, 16-04-00125 и 16-04-01163.*

### **ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОГО ВЛИЯНИЯ ИММЕРСИОННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС**

**Н.А. Лычева<sup>1,2</sup>, И.И. Шахматов<sup>1,2</sup>, В.И. Киселев<sup>1,2</sup>, В.М. Вдовин<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул; <sup>2</sup>НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

В рамках эксперимента проведена оценка отставленного влияния однократной воздушной гипотермии на состояние системы гемостаза у крыс линии Wistar. Гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуаль-

ных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха  $-25^{\circ}\text{C}$ . Критерием прекращения воздействия служило достижение экспериментальными животными ректальной температуры  $30^{\circ}\text{C}$ . Контролем служила кровь 10 животных, полученная после того, как они в индивидуальных клетках помещались в камеру при температуре  $22^{\circ}\text{C}$ . Время экспозиции соответствовало времени нахождения животных опытной группы в холодильной камере. Забор крови у животных обеих групп осуществлялся по истечении 24 часов после окончания гипотермического воздействия. При этом, в сосудистом русле экспериментальных животных было выявлено снижение количества тромбоцитов при неизменности их агрегационной активности. Анализ данных показал существенное (в 8,8 раза) увеличение концентрации в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), повышение в 2 раза концентрации фибриногена и уменьшение времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов, что в совокупности свидетельствует о развитии состояния тромботической готовности в сосудистом русле экспериментальных животных. Риск развития тромбоза существенно возрастал на фоне снижения активности антикоагулянтной системы и выраженного угнетения активности фибринолитической системы, что подтверждалось отсутствием по истечении 24 часов лизиса зуглобулиновых сгустков.

Таким образом, установлено, что через 24 часа после прекращения холодового воздействия в виде однократной воздушной гипотермии регистрируются значимые изменения в системе гемостаза. Показано, что через сутки в сосудистом русле экспериментальных животных наблюдается совокупность признаков, характеризующих состояние тромботической готовности. Выявленные факты необходимо учитывать при проведении лечебно-профилактических мероприятий по истечении суток у лиц, подвергшихся воздействию однократной гипотермии.

### **ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ПРИЁМА ПАНТОГЕМАТОГЕНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕРХПОРОГОВОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ**

**А.А. Блажко<sup>1</sup>, С.В. Москаленко<sup>1</sup>, В.М. Вдовин<sup>1,2</sup>, Н.А. Лычева<sup>1,2</sup>, И.И. Шахматов<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул; <sup>2</sup>НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

В рамках данной работы было проведено комплексное изучение состояния системы гемостаза у крыс линии Wistar при воздействии 8-часовой физической нагрузки. Три экспериментальные группы животных в течение 30 дней принимали пантогематоген в суточной дозировке 3 мл, 6 мл и 9 мл соответственно. Контрольная группа животных подвергалась аналогичной 8-часовой нагрузке без предварительного приема пантогематогена. Физическая нагрузка моделировалась в виде навязанного бега животных в тредбане со скоростью его вращения 6–8 м/мин. Показатели системы гемостаза контрольной и экспериментальных групп сравнивались с референтными значениями, полученными у интактных крыс.

У контрольной группы животных 8-часовая физическая нагрузка со стороны системы гемостаза вызывала значительную активацию агрегационной функции тромбоцитов, а также характеризовалась гиперкоагуляцией на внешнем и внутреннем путях плазменного гемостаза (укорочение протромбинового времени и АПТВ), уменьшением количества фибриногена и значительным повышением количества растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Все эти показатели свидетельствовали о развитии у экспериментальных животных состояния тромботической готовности. У крыс, принимавших пантогематоген, после 8-часовой физической нагрузки время индуцированной агрегации тромбоцитов достоверно не отличалось от значений, полученных у интактных крыс. По сравнению с контролем удлинялось протромбиновое время и АПТВ, а также уменьшалось количество растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Описанная динамика свидетельствовала об уменьшении риска развития прижизненного внутрисосудистого тромбообразования. Отмечено, что с увеличением дозы пантогематогена показатели системы гемостаза в большей степени стремились к нормальным значениям.

Таким образом, применение препаратов пантового оленеводства снижает риск развития состояния тромботической готовности при воздействии однократного сверхпорогового стрессора.

### **ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ И ЕЕ КОАГУЛЯЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА**

**И.А. Тихомирова, Е.П. Петроченко, Ю.В. Малышева**

*Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия*

Классическая триада Р. Вирхова включает в себя нарушение целостности сосудистой стенки, изменения состава и свойств самой крови и скорости кровотока. Если первые два фактора интенсивно изучались и здесь достигнуты определенные успехи, то исследованию влияния условий течения крови на процесс ее свертывания уделялось недостаточно внимания. Начальным этапом свертывания крови является первичный (тромбоцитарно-сосудистый) гемостаз, который играет важную роль как в физиологических условиях, так и при патологии. Влияние различных режимов течения крови на процесс формирования тромба проявляется в таких известных фактах, как образование «белого» тромба в артериальном отделе сосудистой системы, где скорость кровотока высокая и красного тромба (с участием эритроцитов и фибрина) в венозном ее отделе, где скорость движения крови относительно низкая. В условиях циркуляции *in vivo* тромбоциты подвергаются воздействию разных гемодинамических условий и обладают уникальной способностью формировать прочные адгезионные контакты при любых сдвиговых условиях течения с последующим образованием тромбоцитарной пробки даже при высоких скоростях сдвига, однако, механизмы формирования тромба в различных условиях разные. За адгезией и активацией тромбоцитов следует их агрегация с формированием богатого фибриногеном тромба в месте повреждения сосуда. Эритроциты могут стимулировать агрегацию тромбоцитов посредством следующих механизмов: высвобождая индуктор агрегации АДФ при механическом стрессе, например, в потоке крови; или путем захвата внеклеточного аденозина (потенциального ингибитора тромбоцитарных функций). В норме эритроциты не контактируют с тромбоцитами, однако в условиях гиперкоагуляции, например, при неосложненной беременности, активированные тромбоциты способны образовывать контакты с эритроцитами. Механизм такого взаимодействия не выяснен, предполагается, что оба типа клеток имеют сайты связывания фибриногена, через которые и может осуществляться их взаимодействие. Фибриноген, в свою очередь, оказывает существенное влияние на реологические свойства крови – от его содержания зависит вязкость плазмы (а, следовательно, и крови), известна роль фибриногена в формировании агрегатов эритроцитов. *Работа выполнена за счёт гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00787).*



**РОЛЬ ИСХОДНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ В РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА НА ХИРУРГИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ**

**И.П. Антропова<sup>1,2</sup>, Б.Г. Юшков<sup>3,4</sup>** <sup>1</sup>Уральский государственный медицинский университет; <sup>2</sup>Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина»; <sup>3</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; <sup>4</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Сосудистый эндотелий благодаря своей способности экспрессировать прокоагулянты, антикоагулянты, вазоконстрикторы и вазодилататоры, а также ключевые молекулы клеточной адгезии и цитокины, является центральным регулятором гемостаза. В нормальных условиях эндотелиальные клетки поддерживают состояние, при котором коагуляция, тромбоцитарная адгезия и активация, а также воспаление супрессированы. При повреждении, в частности при хирургических операциях, эндотелиальная поверхность изменяет свои свойства, способствуя формированию сгустка и остановке кровотечения. В то же время антикоагулянтные и фибринолитические механизмы обеспечивают ограничение свертывания и удаление сгустка по мере заживления раны. Изучению вопроса о влиянии исходного функционального состояния эндотелия на выраженность гемокоагуляционных изменений и воспаления, а также на объем кровопотери и развитие тромбозомболических осложнений при крупной хирургической операции, посвящено исследование, в которое были включены 56 пациентов, перенесших эндопротезирование тазобедренного сустава. Отбор образцов крови для исследования проводился исходно (за 1–2 суток до операции), по окончании эндопротезирования (30 минут), на 1, 3, 7, 14 сутки после хирургического воздействия. В качестве маркеров функционального состояния эндотелия использовались фактор фон Виллебранда и тромбомодулин. Определялись показатели, характеризующие активность коагуляционной, антикоагулянтной, фибринолитической систем, количество и активность тромбоцитов, параметры формирования сгустка крови, С-реактивный белок как маркер воспаления. Было показано, что исходные прокоагулянтные изменения эндотелия, которые отражает высокий уровень секреции адгезивного гликопротеина фактора фон Виллебранда, способствуют сокращению кровопотери, но сопровождаются усилением воспалительной реакции, что может повысить риск развития тромбозомболических осложнений. Исходное усиление антикоагулянтной защиты путем повышения уровня тромбомодулина снижает активность коагуляции и воспаления, но повышает кровопотерю. Таким образом, дооперационное функциональное состояние эндотелия оказывает значительное влияние на реакцию системы гемостаза, уровень кровопотери и, возможно, на риск развития тромбозов после крупных хирургических вмешательств.

**МЕХАНИЗМЫ МОДИФИКАЦИИ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГОРМОНОВ И ВАЗОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

**Ю.В. Малышева<sup>1</sup>, Е.П. Петrenchенко<sup>1</sup>, И.А. Тихомирова<sup>1</sup>, А.С. Петrenchенко<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Ярославль; <sup>2</sup>Ярославский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ярославль, Россия

Реализация кислородтранспортной функции крови на уровне микроциркуляции, где протекают обменные процессы, во многом зависит от реологических свойств крови (способности эритроцитов объединяться в агрегаты и деформироваться при прохождении через сосуды малого калибра). Так как циркулирующие эритроциты непосредственно контактируют со всеми биологически активными соединениями, попадающими в кровь, выдвинуто предположение о возможном влиянии этих соединений на функциональные свойства эритроцитов. Целью настоящего исследования была оценка влияния гормонов и вазоактивных веществ на микрореологические свойства эритроцитов и вовлеченность циклических нуклеотидов и фосфодиэстераз в процессы модификации реологических свойств крови под влиянием этих соединений. Показано, что экстрацеллюлярный оксид азота, кроме вазодилатационного эффекта, оказывает еще и положительное воздействие на текучесть крови при низкосдвиговом течении, имеющим место на уровне микроциркуляции – под его влиянием снижается степень агрегации и предел текучести крови, указанный реологический эффект донора оксида азота реализуется по цГМФ-независимому механизму. В присутствии инсулина зафиксирован значительный рост деформируемости эритроцитов и, как следствие, снижение высокосдвиговой вязкости крови. Показано участие цГМФ в реализации положительного реологического эффекта инсулина. Под действием простаглицлина отмечены выраженный рост степени агрегации эритроцитов, значительное повышение предельного напряжения сдвига и низкосдвиговой вязкости крови. Подтверждено предположение о функциональном сопряжении рецепторов к простаглицлину и ФДЭ3 в эритроцитах и участие цАМФ и ФДЭ3 в изменении агрегатных свойств крови под влиянием этого простаглицлина. Мастопапан 7 напрямую (минуя рецепторы) активизирует Gi белок, стимулируя продукцию цАМФ, инкубация эритроцитов с мастопапаном 7 привела к увеличению степени агрегации (неблагоприятный эффект) эритроцитов и росту их деформируемости (положительный эффект). Использование селективных блокаторов фосфодиэстеразной активности продемонстрировало вовлеченность фосфодиэстераз 3 и 4 в регуляцию изменений агрегации и деформационных свойств эритроцитов при активации Gi белка мастопапаном 7.

*Исследование выполнено за счет средств гранта РФФИ проект № 14-04-01703.*

**ВЛИЯНИЕ СУТОЧНОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА И РЕОЛОГИЮ КРОВИ ДО И ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК**

**О.В. Алексеева, И.И. Шахматов, Ю.А. Бондарчук, М.Н. Носова**  
Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

В эксперименте участвовало 92 крысы линии Вистар. Животные первой опытной группы (n=12) подвергались воздействию однократной суточной гипобарической гипоксии. Контрольную группу (n=70) составили интактные животные. Животные второй опытной группы (n=10) получали физическую нагрузку в течение 30 дней по 2 часа в сутки, после чего подвергались воздействию однократной суточной гипобарической гипоксии (аналогично опытной группе 1). Контролем для данной группы служили животные первой опытной группы. Оценивались показатели гемокоагуляции, антикоагулянтное звено, фибринолиз и реологические характеристики крови. В первой опытной группе регистрировались признаки внутрисосудистого тромбообразования, на что указывало снижение количества тромбоцитов с их гиперагрегацией, гиперкоагуляция на всех этапах каскада гемостаза и значительный рост растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), а также выраженное угнетение антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови. Исследование реологии выявило повышение вязкости цельной крови, увеличение показателя гематокрита, количества эритроцитов и их агрегационной активности. Во второй опытной

группе была выявлена гипоагрегация тромбоцитов, гипокоагуляция плазменного гемостаза, снижение уровня РФМК, при этом отмечалось значительное повышение уровня антитромбина III и увеличение количества фибриногена. Эулобулиновый лизис фибринового сгустка активировался. Вязкость крови повышалась за счет увеличения количества эритроцитов и гематокрита, при этом снижалась агрегация эритроцитов и средняя концентрация гемоглобина в эритроците, что способствовало увеличению текучести цитоплазмы эритроцитов и, возможно, их более эффективной деформабельности. Таким образом, предварительные умеренные физические тренировки изменяют реакцию системы гемостаза на воздействие суточной гипоксии, значительно снижая уровень тромбинемии, смещая гемостатический потенциал плазмы крови в сторону гипокоагуляции, повышая антикоагулянтную и фибринолитическую активность, а также вызывают рост деформабельности эритроцитов и снижение их агрегационной активности. То есть происходит сочетанное изменение реологических и гемостазиологических показателей, направленных на поддержание жидкостных характеристик крови.

### **СОЧЕТАНИЯ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВУЮ СИСТЕМУ**

**В.И. Гикавый, Н.Г. Бачинский, Я.Г. Корецкий**

*Государственный университет медицины и фармации им. Николая Тестемичану, Кишинев, Молдова*

Современная терапия артериальной гипертензии несомненно основывается на применении препаратов, влияющих на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, и рациональность сочетания антигипертензивных препаратов из данной группы. Цель исследования заключалась в определении наиболее часто встречающихся сочетаний антигипертензивных препаратов и обосновании рациональности их применения. Материалы и методы. Проанализированы лекарственные назначения 300 историй болезни на предмет комбинированной терапии гипертонической болезни с применением препаратов, влияющих на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Результаты: Анализ показал, что наиболее часто применялись сочетания ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с бета-адреноблокаторами, с конкурентными антагонистами альдостерона, а также данных ингибиторов одновременно с бета-адреноблокаторами и конкурентным антагонистом альдостерона. Данные комбинации, исходя из характерных для них механизмов действия и точек приложения его, подтверждают рациональность совместного применения, но, в свете современных рандомизированных исследований и с клинической точки зрения, требуют более тщательного анализа и обоснования, поскольку в литературе отмечаются преимущества и недостатки сочетания ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с конкурентными антагонистами альдостерона. Вместе с тем многоцентровые исследования последних лет указывают, что комбинированная терапия с использованием бета-адреноблокаторов и ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента позволяет значительно снизить смертность и частоту госпитализации больных с гипертонической болезнью, особенно тех с явлениями хронической сердечной недостаточностью и фракцией выброса ниже 25%. Возможность сочетания ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента и бета-адреноблокаторов с блокаторами ангиотензиновых рецепторов, по имеющимся данным, из-за многокомпонентного сочетания препаратов с полиморфизмом их действия и особенностей патологических состояний для которых назначаются, нуждается в тщательном обосновании и определении конкретных показаний к их применению.

### **ИЗУЧЕНИЕ $Fe^{3+}$ -ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

**Ю.А. Шереметьев, А.Н. Поповичева, Г.Я. Левин**

*Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр МЗ РФ, Нижний Новгород, Россия*

Исучено влияние хлорного железа на агрегацию эритроцитов человека. Агрегацию эритроцитов исследовали на лазерном агрегометре 230LA-2 НПФ «Биола». Для изменения морфофункционального состояния эритроцитов человека проводили опыты, в которых суспензию отмытых эритроцитов в течение 24 ч хранили при 4°C и комнатной температуре, а также инкубировали при 37°C. Агрегацию эритроцитов индуцировали  $FeCl_3$  в финальной концентрации 200 мкМ. Содержание анионных участков эритроцитов (поверхностный отрицательный заряд) изучали предложенным нами методом. К 2 мл 0.02% раствора катионного красителя акридинового оранжевого, приготовленного на забуференном физиологическом растворе (10мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl, pH 7.4), добавляли 0.05 мл отмытых эритроцитов и инкубировали при 37°C в течение 30 минут. После этого центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 минут и определяли при 412 нм оптическую плотность раствора до и после инкубации с эритроцитами. Рассчитывали количество связанного красителя с анионными участками поверхности эритроцитов по формуле:  $A (\%) = 100 - (C \cdot 100)/B$ , где A – количество связанного эритроцитами красителя (%); B – оптическая плотность исходного раствора (в ед. экстинкции); C – оптическая плотность раствора красителя после инкубации с эритроцитами (в ед. экстинкции). Состояние цитоскелета эритроцитов оценивали предложенным нами методом. Для этого суспензию эритроцитов прогревали при 49°C в течение 8 мин. После этого эритроциты фиксировали в 0.2% растворе глутарового альдегида и по количеству появляющихся сферических форм судили об изменении состояния цитоскелета клеток. Деформацию эритроцитов изучали в сдвиговом потоке при напряжении сдвига 21 Па в сконструированном нами устройстве. Морфологию эритроцитов, фиксированных глутаровым альдегидом, изучали световой микроскопией. Установлено, что  $Fe^{3+}$  индуцирует выраженную агрегацию эритроцитов человека. Хранение суспензии отмытых эритроцитов при комнатной температуре приводит к снижению стабильного состояния цитоскелета клеток, нарушению их деформации в сдвиговом потоке. Появляется популяция эхиноцитов. Наиболее сильно эти изменения выражены у эритроцитов, которые инкубировали без глюкозы при 37°C в течение 24 ч (истощение по АТФ). Изучение анионных участков мембран эритроцитов показало, что уже при хранении эритроцитов при 4°C наблюдается снижение их количества (уменьшается связывание акридинового оранжевого). При комнатной температуре продолжается их дальнейшее снижение. Самое низкое содержание анионных участков мембран эритроцитов отмечено после их истощения по АТФ. Агрегация эритроцитов с измененным морфофункциональным состоянием эритроцитов, индуцированная железом, снижается при хранении эритроцитов при 4°C и комнатной температуре и практически полностью отсутствует у истощенных по АТФ клеток. Отмечена взаимосвязь между снижением отрицательного заряда эритроцитов и их агрегацией, индуцированной  $Fe^{3+}$ . По-видимому, важная роль в механизме агрегации эритроцитов, индуцированной  $Fe^{3+}$ , принадлежит его взаимодействию с анионными участками мембран клеток. Полученные результаты позволяют предложить  $Fe^{3+}$  в качестве агрегирующего агента для изучения агрегационной способности эритроцитов при патологиях различного генеза.

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МЕТИЛРТУТИ НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ КЛЕТКИ**И.А. Лавриненко, Г.А. Вашанов, М.К. Рубан, В.Г. Артюхов *Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия*

Органические соединения ртути (II) по сравнению с другими ее формами оказывают более сильное токсическое воздействие на организм человека и животных из-за выраженной способности легко проникать через мембраны клеток, более эффективного связывания с сульфгидрильными группами белков и высокого кумулятивного эффекта. Изучено влияние хлорида метилртути ( $1.00E-9$ ,  $1.00E-8$ ,  $1.00E-7$ ,  $1.00E-6$ ,  $1.00E-5$  и  $1.00E-4$  моль/л) на степень гемолиза эритроцитов (300 тыс. кл./мл), инкубированных с этим токсикантом в течение 4, 24 и 72 ч в  $1.55E-1$  моль/л растворе хлорида натрия при температуре  $+4^{\circ}C$ . Степень разрушения эритроцитов оценивалась спектрофотометрически как отношение поглощения гемоглобина в супернатанте опытного образца к образцу, в котором суспензия клеток выдерживалась в дистиллированной воде (выступающей в роли гемолизатора). После 4-х часов инкубации наблюдается лизис клеток ( $81,44\% \pm 7,71\%$ ,  $\alpha=0,05$ ) только для тех образцов, где концентрация метилртути составляла  $1.00E-4$  моль/л. Во всех остальных случаях степень гемолиза в опыте статистически достоверно не отличалась относительно контроля, не содержащего токсиканта ( $8,01\% \pm 0,61\%$ ). Инкубация в течение 24 ч приводит к полному гемолизу эритроцитов с концентрацией метилртути в растворе  $1.00E-4$  и  $1.00E-5$  моль/л ( $103,21\% \pm 0,67\%$  и  $101,15\% \pm 2,46\%$ , контроль —  $12,43\% \pm 1,98\%$ ). После 72-х часовой инкубации полный лизис клеток соответствовал концентрациям токсиканта  $1.00E-4$  и  $1.00E-5$  моль/л ( $101,54\% \pm 1,85\%$  и  $106,98\% \pm 1,91\%$ ). Для образца с концентрацией метилртути  $1.00E-6$  моль/л обнаруживается частичный гемолиз ( $50,90\% \pm 3,33\%$ , контроль —  $20,07\% \pm 0,50\%$ ). Отмечается превышение контрольных значений гемолиза модификатором относительно гемолизированных дистиллированной водой клеток, что указывает на более полное освобождение эритроцитарной стромы от гемоглобина в экспериментальных образцах. Таким образом, установлены концентрации токсиканта и времена инкубации, приводящие к выраженному гемолизу эритроцитов.

**КИНЕМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДА И СПОСОБЫ СБОРА ЭНЕРГИИ С ПОВЕРХНОСТИ СЕРДЦА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИМПЛАНТИРОВАННЫХ УСТРОЙСТВАХ**

Л.А. Бокерия, О.Л. Бокерия, К.Г. Потловский, И.И. Аверина, М.Ю. Мироненко, А.С. Сатюкова, Л.А. Глушко, Т.Г. Ле, В.А. Шварц

*Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева МЗ РФ, Москва, Россия*

Изучена топология энергоэффективных зон на поверхности эпикарда неинвазивными методами для локализации наиболее энергоэффективных зон достаточных для имплантации устройств различного назначения в оценке кинематической активности эпикарда на лабораторных животных. Было обследовано 15 животных (свиньи домашние) в возрасте 6–9 месяцев, средним весом  $56 \pm 5$  кг. Кинематическая активность эпикарда оценивалась с помощью векторного анализа скорости 2D изображения VVI с использованием рабочей станции фирмы Siemens с программой Syngo US Workplace Software 3.5 (Version 3.5.6.34). Метод анализа движущихся частиц лег в основу определения амплитуды и скорости движения стенок левого желудочка на разных уровнях. Животные были распределены в 2 группы, в зависимости от положения электрической оси сердца. Выявлено, что показатели радиального смещения на уровне верхушки сердца значительно отличаются от показателей на базальном и среднем уровнях: уровень верхушки сердца vs средний сегмент —  $1,3 \pm 0,18$  vs  $3,69 \pm 0,17$ ,  $p < 0,001$ ; уровень верхушки сердца vs базальный сегмент —  $1,3 \pm 0,18$  vs  $4,01 \pm 0,26$ ,  $p < 0,001$ . Показатели на базальном и среднем уровнях между собой не имеют значимых отличий —  $4,01 \pm 0,26$  vs  $3,69 \pm 0,17$ ,  $p = 0,443$ . Показатели продольного смещения: верхушки сердца по сравнению с показателями среднего сегмента —  $1,8 \pm 0,21$  vs  $5,7 \pm 0,16$ ,  $p < 0,001$ ; уровень верхушки сердца vs базальный сегмент —  $1,8 \pm 0,21$  vs  $6,81 \pm 0,27$ ,  $p < 0,001$ ; показатели на базальном уровне против показателей среднего уровня —  $6,81 \pm 0,27$ , vs  $5,7 \pm 0,16$ ,  $p < 0,001$ . Показатели деформации миокарда: по трем уровням различия статистически значимы,  $\chi^2 = 22,05$ ;  $p < 0,001$ .

Полученные данные показывают, что базальный отдел левого желудочка сердца тестируемых животных является наиболее энергоэффективной зоной для имплантации МЭМС-преобразователя. Неинвазивность данного подхода позволяет использовать его для оценки кинематической активности эпикарда левого желудочка сердца индивидуально у пациентов с различной сердечно-сосудистой патологией и прогнозировать место локализации имплантируемых устройств.

**АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КРОВИ НА ОСНОВЕ ТЕОРИИ СМЕРЧЕОБРАЗНЫХ ТЕЧЕНИЙ ВЯЗКОЙ ЖИДКОСТИ**Л.А. Бокерия, А.Ю. Городков, Г.И. Кикнадзе *Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева МЗ РФ, Москва, Россия*

Движение крови в артериальном сегменте транспортного отдела системы кровообращения должно удовлетворять ряду требований, плохо согласующихся с принятыми в гидродинамике принципами течения жидкости. Широко применяемые методы численного моделирования течения крови неспособны формально описать поле скоростей и давлений в потоке, в широком диапазоне состояний с минимальными энергозатратами. Возникающие противоречия могут быть преодолены, если допустить, что поток крови обладает свойствами смерчеобразных течений вязкой жидкости, описываемых с помощью точных решений нестационарных уравнений гидродинамики для этого класса потоков [Г.И. Кикнадзе, Ю.К. Краснов, 1986].

Исследования анатомической конфигурации проточного канала левых отделов сердца и магистральных артериальных сосудов доказали соответствие мгновенной конфигурации проточного канала теоретическим линиям тока смерчеобразной струи. Это позволяет сформулировать основные свойства потока и понять принципы его структурной организации. [1] Поток должен быть сходящимся (или канал, в котором этот поток существует). [2] Поперечный перенос в потоке возможен только в виде обмена средой с вторичными закрученными струями, сопровождаемого соответствующими потерями энергии. [3] Источником движения в потоке является поперечный градиент давления, обеспечивающий движение среды от периферии к оси потока. При этом поток ускоряется в силу сходимости. [4] При нестационарном режиме течения необходимо возобновляемое «подкручивающее» воздействие, механизмы стабилизации структуры потока и подвижные границы, компенсирующие пульсации. Поэтому смерчеобразный поток крови имеет внешнюю границу и практически не оказывает воздействия на стенки канала, в смерчеобразном потоке отсутствуют напряжения сдвига и поэтому слабы взаимодействия между движущимися элементами жидкости (кроме диффузии). Эти свойства струи объясняют возможность сбалансированного течения крови в биологически активных границах. Нарушение свойств струи приводит к активации по крайней мере одного из компонентов системы и запускает соответствующие каскадные защитные и компенсаторные процессы. Эффективный транспорт крови обеспечивается, если доминантная смерчеобразная струя сохраняет энергию вращения, что возможно, если она в максимальной

степени соответствует пространству проточного канала, а вторичные течения формируются только в тонком пограничном слое и не потребляют существенную часть энергии доминантной струи. В случае, когда движение стенок канала нарушается, доля доминантной струи в общей структуре течения уменьшается, потери энергии возрастают. В предельном случае структура течения разрушается, и оно вырождается в турбулентное.

Таким образом, предложен новый подход к формальному анализу потока крови, свободный от обычных допущений и согласующийся с принципами функциональной стабильности системы кровообращения.

### **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ И ФУНКЦИИ МИОКАРДА. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У ПАЦИЕНТОВ С ПРИОБРЕТЁННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

**И.И. Аверина, О.Л. Бокерия, М.Ю. Мироненко, С.А. Александрова**

*Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева МЗ РФ, Москва, Россия*

Цель исследования: выявить предикторы возникновения сердечной недостаточности (СН) после хирургической коррекции по данным эхокардиографии с тканевым доплером (ТД), Speckle tracking (ST), магнитно-резонансной томографии с контрастированием у больных с аортальными и митральными пороками. Обследовано 144 пациента с аортальными и митральными пороками: 99 мужчин и 45 женщин в возрасте от 18 до 72 лет (средний возраст  $46,7 \pm 15,1$  лет). Пациенты обследовались исходно до операции, в раннем послеоперационном периоде (8–14 дней) и через 12–36 месяцев после хирургической коррекции порока. Всем больным проводилось общеклиническое обследование, эхокардиография, тканевой доплер, метод слежения частиц (ST), 28 пациентам магнитно-резонансная томография с контрастированием (МРТ). В зависимости от наличия осложнений больные были разделены на группы, отражающие прогноз. Группа 0 – пациенты с благоприятным прогнозом; группа 1 – больные, у которых в послеоперационном периоде развивалась сердечная недостаточность.

Прогностической значимостью для возникновения СН в послеоперационном периоде обладают исходно увеличенные объёмы ЛЖ (ИКСО –  $45 \text{ мл/м}^2$ ,  $AUC=0,840 \pm 0,05$ ; ИКДО –  $100 \text{ мл/м}^2$ ,  $AUC=0,84 \pm 0,052$ ), деформация ЛП ( $26,8\%$ ,  $AUC=0,84 \pm 0,052$ ). Связь между степенью фиброза и послеоперационными осложнениями: СН и летальностью существует и высоко значима: МП  $\chi^2(9)=33,72$ ;  $p(\chi^2)<0,001$ . Связь между ремоделированием и степенью фиброза находится в пределах, допустимых для случайных отклонений: МП  $\chi^2(6)=7,967$ ;  $p(\chi^2)=0,241$ . Связь между адаптивным и неадаптивным ремоделированием и прогнозом оказалась высоко значима: МП  $\chi^2(6)=20,5$ ;  $p(\chi^2)<0,002$  и МП  $\chi^2(2)=9,8$ ;  $p(\chi^2)=0,007$  соответственно. Наличие фиброза препятствовало восстановлению продольной функции миокарда.

Кардинальной причиной неполного восстановления и развития СН в послеоперационном периоде является исходное необратимое растяжение миокарда ЛЖ и ЛП. Предикторами для неполного обратного ремоделирования и развития СН стали: ИКДО –  $100 \text{ мл/м}^2$ , ИКСО –  $45 \text{ мл/м}^2$ , средняя деформация ЛП –  $26,8\%$ . Фиброз миокарда по данным МРТ сердца у пациентов с приобретёнными пороками сохраняется или увеличивается, несмотря на позитивное ремоделирование, которое, однако происходит не до нормы. Умеренная и выраженная степень фиброза миокарда ухудшает прогноз.

### **ДИНАМИКА НЕЛИНЕЙНЫХ СВОЙСТВ СИСТЕМЫ БАРОРЕФЛЕКТОРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ КРОВООБРАЩЕНИЯ У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ОПЕРАЦИЮ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ (АКШ)**

**В.А. Шварц, А.Р. Киселев, О.Л. Бокерия, А.С. Караваев, А.Д. Петросян**

*Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева МЗ РФ, Москва, Россия*

Изучены особенности нелинейных свойств вегетативной регуляции кровообращения у больных ИБС до и после операции АКШ. В исследование вошли 72 пациента ( $57,9 \pm 7,6$  лет). Выполнялась синхронная регистрация ЭКГ и ФПГ. Запись сигналов выполнялась до операции АКШ и на 5–7 сутки после операции. Изучались показатели вегетативной регуляции кровообращения, клинические и инструментальные показатели. По динамике показателя синхронизации S ( $\Delta S$ ) пациенты были разделены на три группы: 1) со значимым снижением синхронизованности 0,1 Гц-колебаний в ВСР и ФПГ ( $\Delta S < -5\%$ ),  $n=30$ ; 2) без значимой динамики ( $\Delta S$  от  $-5\%$  до  $+5\%$ , включительно),  $n=16$ ; 3) со значимым повышением синхронизованности ( $\Delta S > +5\%$ ),  $n=26$ . Статистически значимые особенности групп: группа 1 – наибольший уровень глюкозы в конце АКШ, нет курильщиков, наименьшее значение показателя S на 5–7 день после АКШ; группа 2: более половины пациентов курили, наибольший исходный уровень WBC – с группой 3 различия, наименьшее время операции – с группой 3 различия; группа 3: наименьший уровень глюкозы в конце АКШ – с группой 2 различия, наименьший уровень WBC в конце АКШ – с группой 2 различия, наименьший исходный показатель S; наибольшее значение показателя HF% – с группой 2 различия, наименьшее значение SDNN и TP после АКШ% – с группой 2 различия, наиболее значительное снижение SDNN и TP.

В ходе регрессионного анализа выявлено шесть показателей, которые с высоким уровнем статистической значимости ( $R^2=0,82$ ,  $p<0,001$ ) множественно связаны с динамикой показателя S после АКШ (исходное значение S,  $\Delta TP$ ,  $\Delta LF\%$  и уровня WBC после АКШ, время операции, ФВ ЛЖ до операции).

Выявлена множественная ассоциация динамики качества синхронизации низкочастотных колебаний в ВСР и периферическом кровотоке с рядом показателей, характеризующих исходный статус пациента (вегетативный и гемодинамический: S, LF% и ФВЛЖ), длительность операции и динамику вегетативного ( $\Delta TP$ ) и гематологического ( $\Delta WBC$ ) статуса после него. При этом вероятность повышения уровня синхронизации 0,1 Гц-колебаний возрастает при: исходно поле низких значениях S и LF%, исходно более высокой ФВЛЖ, сокращении длительности операции, снижении TP после операции, менее выраженном повышении WBC после операции.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ**

**И.М. Роцевская, С.Л. Смирнова, М.П. Роцевский** *Отдел сравнительной кардиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия*

Выявлены закономерности деполаризации предсердий на основе сравнительно-физиологических исследований последовательности активации предсердий у разных видов животных, обладающих разными типами возбуждения желудочков сердца. Неоднородность деполаризации обусловлена архитектоникой проводящей системы и рабочего миокарда предсердий, различиями в расположении водителей ритма и путей преимущественного проведения возбуждения. На крысах линии Вистар с

экспериментально вызванной гипертензией, у животных со стрессиндуцированной артериальной гипертензией линии НИСАГ, выявлено увеличение неоднородности деполяризации предсердий, формирование очага ранней активации в области лагун легочных вен, ведущее к изменению последовательности деполяризации предсердий. Изменение направления деполяризации предсердий приводит к изменению кардиоэлектрического поля на поверхности тела животных в период начальной предсердной активности.

#### **ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА**

**И.Н. Полуниин<sup>1</sup>, В.Р. Горст<sup>1</sup>, Н.А. Горст<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Астраханская государственная медицинская академия МЗ РФ; <sup>2</sup>Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

Одним из фундаментальных свойств сердечной мышцы является способность к самостоятельной генерации потенциала действия. Автоматическая активность присуща атипичным кардиомиоцитам, которые сосредоточены в синоатриальном и атриовентрикулярном узлах и в ножках пучка Гиса. Синоатриальный узел является ведущим водителем сердечного ритма. Пейсмекерные клетки объединены в кластеры, окруженные общей оболочкой. В состав кластеров входят разные по морфофункциональным свойствам клетки. Клетки водители ритма отличаются друг от друга как пространственными, так и временными параметрами. Но несмотря на индивидуальные частотные характеристики отдельных кардиомиоцитов отмечается синхронизация разрядов истинных, латентных и пуркинеподобных клеток. Внутрикластерное взаимодействие достигается благодаря тесным межклеточным контактам – нексусам. Перетекание ионов из одного кардиомиоцита в другой приводит к ускорению возбуждения клеток с низкой собственной частотой потенциалов действия и замедление возбуждения клеток с высокой частотой. В результате этого суммарный потенциал не только синхронизирован, но и приобретает электрическую силу. В силу структурной разнородности кластеров возникающие в них потенциалы не совпадают по времени. В этой связи не менее важным в работе синоатриального узла является межкластерная синхронизация в пределах главного водителя ритма. По нашим представлениям в пределах синоатриального узла возникает единое энергетическое пространство, которое функционально связывает все структурные компоненты водителя ритма. В основе межкластерного взаимодействия лежат как электрические, так и химические процессы. Электрическое сопряжение возможно достигается электромагнитным полем, которое является суммарным выражением активности всех кластеров синоатриального узла. Химическое взаимодействие происходит за счет медиаторов интра- и экстракардиальной нервной системы. Особое значение имеют нейротрансмиттеры блуждающего нерва, которые обладают ярко выраженной дискретностью (фрактальностью) своего действия, что позволяет выводить все элементы синоатриального узла на единую стартовую позицию. Для обозначения механизма межкластерного взаимодействия мы предлагаем использовать термин поле кластерного потенциала. По нашему предположению поле кластерного потенциала действует в пределах синоатриального узла. Для распространения возбуждения за пределы водителя ритма вовлекается проводящая система сердца.

#### **МЕДЛЕННЫЕ ВНУТРИЧЕРЕПНЫЕ РИТМЫ НЕЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ**

**Ю.Е. Москаленко, М.А. Сабилов, Ю.А. Андреева**

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

**ВВЕДЕНИЕ.** Медленные ритмические колебания (МРК) в полости черепа, связанные с циркуляцией там жидкостей и податливостью мягких тканей привлекают внимание физиологов и клиницистов более двух веков. Однако многочисленные попытки объективного исследования МРК оказались безуспешными из-за их непрерывно варьирующей амплитуды и частоты. Возможность количественной оценки МРК появилась лишь недавно, в связи с развитием микроэлектроники и вычислительной техники, что и было использовано в настоящем исследовании. **МЕТОДИКА.** С помощью инструментального комплекса, использующего 3-х частотный реограф "МультиРЭГ" (ПО Митсар, РФ) и транскраниальный Допплерограф "MultiDop-T" (DWL, Germany), как устройства сбора информации, которые соединялись с ПК (ОС Windows-7) через АЦП "PowerLab" (ADInstruments, Australia), поддерживающего программы "Chart-5", и "Canvas-10". Реоэнцефалограмма (РЭГ) и транскраниальная доплерограмма (ТКДГ) регистрировалась в обоих полушариях у здоровых добровольцев 18-65 лет. 3-минутные фрагменты записей были использованы для спектрального анализа МРК (частота квантования 128 кГц), а анализ отдельных пульсаций – для оценки мозгового кровотока, подвижности ликвора, податливости черепа. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Спектральный анализ МРК на РЭГ и ТКДГ показал, что у здоровых людей спектрограммы характеризуются 4 – 6 частотными пиками величиной 0,4-0,7 пульсовой амплитуды, принятой нами за единицу. Пики расположены в диапазоне частот от 0,01 – 0,35 герц, которые занимают сравнительно неизменное положение на шкале частот, что подтверждается сходным варьированием стандартного отклонения в сравниваемых выборках. Соотношение величин отдельных пиков спектральных линий изменяется с возрастом, смещаясь в сторону более низких частот, но положение пиков спектральных линий на шкале частот с возрастом практически не меняется. Кроме того, выражена четкая полушарная асимметрия в положении отдельных пиков на шкалах частот и амплитуд. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Сопоставление спектральных диаграмм МРК с другими вычисляемыми показателями указывает, что их спектрограммы отражают межсистемное взаимодействие в механизме циркуляторно-метаболического обеспечения деятельности мозга. Анализ МРК может быть информативным методом выявления ранних нарушений кровоснабжения его ткани.

#### **ЗДОРОВЬЕ СЕРДЦА, САНОКРЕАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ И ПОДДЕРЖАНИЯ**

**В.К. Чокинэ** *Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу, Молдова*

С развитием санокреатологии (Фурдуй Ф.И. и др., 1998-2016) встал вопрос о разработке стратегии направленного формирования морфофункционального статуса, саногенности и функциональных возможностей сердца, являющегося как одного из наиболее уязвимых органов организма человека. Это обусловлено тем, что, хотя сердце является наиболее изученным органом, а современная кардиология располагает эффективными хирургическими и медикаментозными методами, оно, по существу, более всего подвергается диссаногенции, которая занимает в различных странах, первое или одно из первых мест в структуре общей заболеваемости населения. К тому же и прогноз заболеваемости сердца на ближайшее будущее не утешителен. Причин этому много: симпатотонический образ жизни, неправильное питание и др., но главное – стихийное формирование и поддер-

жание его морфофизиологического статуса, из-за чего оно не в состоянии выдержать стрессогенный прессинг условий жизнедеятельности. С позиции санокреатологии решение проблемы здоровья сердца возможно за счет отказа от существующей традиции стихийного формирования его здоровья в замен на стратегию целенаправленного его формирования и поддержания структурного, физиологического и адаптивного потенциала в соответствии с условиями жизнедеятельности организма, что и предопределило задачу по разработке концепции о саногении сердца и определения саногенных лимитов физиологических параметров деятельности сердца в условиях покоя, оперативной деятельности и при стрессе и основных принципов его формирования и поддержания. На базе основных научных положений санокреатологии, закономерностей морфогенеза сердца в раннем антенатальном онтогенезе и его морфофизиологического статуса в постнатальном онтогенезе с учетом специфики влияния факторов риска на деятельность сердца, механизмов нейрогуморальной регуляции и функционального его взаимодействия и координации с другими системами организма, был разработан принцип формирования и поддержания саногенного потенциала сердца, предусматривающие направленные специфические физиологические воздействия на развитие сердца как в период внутриутробного, так и постнатального развития сердца. Они служат основой для разработки методов, приемов и алгоритмов целенаправленного создания и сохранения на надлежащем уровне здоровья сердца.

### **ДЕЙСТВИЕ АНТИГИПОКСАНТОВ И АНТИОКСИДАНТОВ НА ДИНАМИКУ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И РЕАКТИВНОСТЬ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ МИКРОСОСУДОВ У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС**

**Я.А. Хананашвили** *Медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия*

Проведен сравнительный анализ влияния эмоксипина и олифена – препаратов, обладающих антиоксидантным и антигипоксантным свойствами, на характер артериальной гипертензии и локального кровоснабжения головного мозга у спонтанно гипертензивных крыс. Эксперименты выполнены на крысах в возрасте 20-24 недель (n=85). Крысам группы 1 (n=21) в течение 10 дней ежедневно производили однократную инъекцию эмоксипина (1 мг/кг, внутривенно), группы 2 (n=27) – олифена (12 мг/кг, внутривенно). В качестве контроля служили крысы, получавшие плацебо в виде физиологического раствора в количестве, эквивалентном эмоксипину (группа 3, n=16), или 5% раствора глюкозы в соответствующей олифену дозе (группа 4, n=21). Величину кровяного давления в хвостовой артерии регистрировали бескровным реографическим методом. Регистрацию локального мозгового кровотока в пределах зоны проекции вибриссы С1 в соматосенсорной коре головного мозга производили модифицированным методом водородного клиренса в условиях функционального покоя и при дозированной механостимуляции соответствующей вибриссы, оценивая при этом интенсивность кровотока и характер сосудистых реакций. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программного пакета STATISTICA 6.0. Установлено, что применение эмоксипина сопровождалось у гипертензивных крыс увеличением локального мозгового кровотока и повышением реактивности мозговых микрососудов, не оказывая при этом значимого влияния на величину артериального давления. В отличие от этого, воздействие олифеном сопровождалось снижением у крыс выраженности артериальной гипертензии, увеличением интенсивности кровоснабжения нервной ткани и дилатационной реактивности церебральных микрососудов.

### **ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА НА РЕФЛЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ АНЕСТЕЗИРОВАННОЙ КРЫСЫ**

**Т.С. Туманова, В.Г. Александров**

*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Системная воспалительная реакция (СВР) развивается в организме в ответ на действие различных повреждающих факторов, таких как инфекция, травма, ожог и другие. Она характеризуется гиперциитокинемией, а также изменениями в работе кардиореспираторной системы, которые проявляются в тахикардии, в тахипноэ и гипервентиляции. В тяжелых случаях эти изменения могут привести к летальному исходу вследствие остановки дыхания или падения артериального давления. Механизмы кардиореспираторных нарушений при СВР изучены недостаточно. Целью настоящей работы была экспериментальная проверка гипотезы, согласно которой в условиях СВР нарушаются рефлекторные механизмы работы кардиореспираторной системы. Эксперименты были выполнены на самцах крыс Wistar (255±17 г, n=12), анестезированных уретаном (1400 мг/кг). Моделирование СВР производилось путем введения бактериального липополисахарида (6,9±1,1 мг/кг). В ходе эксперимента регистрировалось артериальное давление, пневмотахограмма и электромиограмма диафрагмы. Производился расчёт среднего артериального давления (АДср), частоты сердечных сокращений (ЧСС), дыхательного объема (ДО), частоты дыхания (ЧД), а также минутного объема дыхания (МОД). Кроме того, производилось тестирование инспираторно-тормозящего и экспираторно-облегчающего рефлексов Геринга-Брейера с помощью метода кратковременной окклюзии верхних дыхательных путей в разные фазы дыхательного цикла. Производилось также тестирование барорефлекса путем введения нескольких доз фенилэфрина и построения графика, отражающего зависимость между изменением АДср и ЧСС. В течение 2 часов после введения липополисахарида наблюдались следующие изменения: увеличение ДО и МОД, повышение ЧСС и снижение АДср, а также ослабление рефлексов Геринга-Брейера и барорефлекса. Таким образом, было установлено, что введение липополисахарида анестезированной крысе приводит к функциональным изменениям в работе кардиореспираторной системы и ослабляет рефлекторные механизмы регуляции кардиореспираторной функции. Полученные данные подтверждают выдвинутую гипотезу о влиянии системного воспаления на рефлекторные механизмы регуляции крдиореспираторной системы. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда грант № 15-15-00119.*

### **МЕТОДИЧЕСКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ РАСЧЕТА ЗНАЧЕНИЙ СИСТЕМНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПЕРЕДАТОЧНЫХ ФУНКЦИЙ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОБЪЕМА ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ КРОВИ**

**В.О. Еркудов, А.П. Пуговкин, Н.А. Верлов, И.В. Сергеев, С.А. Иевков**

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, Санкт-Петербург; Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург; Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Гатчина; Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург, Россия*

Применение передаточных функций (ПФ) для расчета значений артериального давления (АД) в системных сосудах с использованием данных пульсовой кривой АД в периферических сосудах открывает возможности для разработки неинвазивных

методов оценки показателей системной гемодинамики. Ранее нами была установлена тенденция к ограничению применения обобщенных передаточных функций (ОПФ) для этих целей. Задачей данной работы являлось сравнение погрешности использования ОПФ и индивидуализированных ПФ (ИПФ) для оценки системного (АД) при кровопотере и ее компенсации в эксперименте. В опытах крысам синхронно регистрировали АД в сонной и бедренной артерии в фоновом режиме после моделирования острой кровопотери с последующей инфузией полиглюкина. Применяя к полученным кривым АД анализ Фурье, вычисляли ОПФ (ПФ в условиях фона) и ИПФ при кровопотере и инфузии полиглюкина. Производили расчет значения системного АД и вычисление относительной погрешности (ОП). Для оценки изменений жесткости сосудов регистрировали скорость распространения пульсовой волны (СРПВ). Статистический анализ данных выполняли с применением W-критерия Вилкоксона. Установлено, что в условиях фона ОП применения ПФ не превышала 4%. При кровопотере имело место увеличение СРПВ примерно на 10%, ОП применения ОПФ при этом составляла 16% и статистически значимо отличалась от ОП применения ИПФ для кровопотери, которая составляла 6%. Подобная тенденция наблюдалась при компенсации кровопотери: уменьшение СРПВ примерно на 20%, ОП применения ОПФ составила 6%, а ИПФ для полиглюкина – 2%. Анализ результатов показал, что в условиях изъятия некоторого объема крови из сосудистой системы с последующим его восстановлением, применение ОПФ невозможно в силу значительной погрешности вычисления. Расчет показателей системной гемодинамики в данных условиях необходимо производить с использованием УПФ для кровопотери и полиглюкина. Полученные данные указывают на необходимость внешней калибровки устройств, способных вести независимую оценку показателей системной гемодинамики в клинике при условии острого изменения ОЦК и его компенсации.

### **НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАРАМЕТРОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА**

**М.А. Скедина, А.А. Ковалева** *Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

Изучение количественных и качественных параметров периферического кровотока является актуальной проблемой, поскольку исход и прогноз многих заболеваний зависит от функции и компенсаторных возможностей системы микроциркуляции (МЦР). Исследования МЦР у человека связано с рядом технических трудностей. Сосудистое русло системы МЦР обладает сложной архитектоникой и высокой лабильностью, что затрудняет получение информации о показателях кровотока при различных функциональных состояниях организма. Нами проводилась оценка показателей кровотока в МЦР, полученная методами высокочастотной ультразвуковой доплерографии (УВД) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) после выполнения субмаксимальной физической нагрузки на велоэргометре. Цель работы – сопоставление результатов и выявление степени корреляции данных при исследовании параметров кровотока в МЦР, полученных методами УВД и ЛДФ до и в период восстановления (ПВ) после нагрузки у 10 добровольцев. Параметры кровотока регистрировали одновременно с помощью методов ЛДФ и УВД на коже у ногтевого валика среднего пальца правой и левой руки. При исследовании методом УВД оценивали линейную скорость кровотока по абсолютным величинам в см/с, рассчитывали индексы: пульсации (PI) и периферического сопротивления (RI). При ЛДФ регистрировали уровень перфузии в объеме ткани за единицу времени в относительных перфузионных единицах (ПЕ). Во время ПВ у испытуемых было выявлено 3 типа реакции: первая – характеризуется четкими периодами кратковременного уменьшения перфузии, снижением показателей скорости кровотока и повышением периферического сопротивления; вторая – значимым изменением в динамике кровотока (от вазодилатации до вазоконстрикции). В случае появления «спазма» (снижение кровотока более чем на 30% от фонового) при УВД на ЛДФ-грамме отмечали наличие отрицательных пиков в 77,7% случаев; третья – без выраженных колебаний кровотока, но к 15 мин ПВ наблюдается преобладание шунтирующего кровотока. В данном случае на доплерограмме показатели скорости кровотока при УВД были достоверно выше показателя ПЕ при ЛДФ ( $p \leq 0,05$ ). В ходе исследования выявлена хорошая сопоставимость результатов, полученных методами УВД и ЛДФ.

### **РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА 894G>T ГЕНА NOS3 В ФОРМИРОВАНИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ВАЗОКОНСТРИКЦИИ**

**А.В. Хромова<sup>1</sup>, О.М. Феликсова<sup>1</sup>, Н.Е. Любимова<sup>2</sup>, Н.А. Бебякова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Северный государственный медицинский университет, Архангельск; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Полиморфизм 894 G>T гена эндотелиальной NO-синтазы (NOS3) был изучен у 140 лиц юношеского возраста методом пиросеквенирования на приборе PyroMark Q24 с использованием комплекта реагентов «ТОНО-скрин». Соотношение различных аллельных вариантов полиморфизма гена NOS3 (GG, GT, TT) у юношей распределялось следующим образом: 51%, 46,6%, 2,4%, у девушек: 59,6%, 35,1%, 5,2%. Оценку концентрации оксида азота (NO) в сыворотке крови по суммарной концентрации стабильных метаболитов нитратов/нитритов проводили биохимическим методом. Периферический тонус сосудов оценивался методом реовазографии с расчетом индекса периферического сопротивления (ИПС). Фоновые показатели индекса периферического сопротивления сосудов в покое значительно не различались у всех обследованных вне зависимости от генотипа и соответствуют норме. Для оценки риска возникновения периферической вазоконстрикции проводилась нагрузочная проба Мартине–Кушелевского. Гипертоническая реакция на нагрузку с возникновением периферической вазоконстрикции была выявлена у 28,6% юношей и у 17,4% девушек. При этом наличие аллеля T не повышало вероятность возникновения периферической вазоконстрикции и не влияло на уровень продукции NO. Так, у юношей и девушек с генотипом GG медиана уровня NO составила 19,7 мкмоль/л и 13,5 мкмоль/л соответственно, с генотипом GT – 19,2 мкмоль/л и 14,8 мкмоль/л соответственно, с генотипом TT – 20,8 мкмоль/л и 16,3 мкмоль/л соответственно. Наличие в генотипе аллеля T не сопровождается снижением продукции NO (медиана составила 20,07 мкмоль/л у юношей и 16,02 мкмоль/л у девушек). В результате анализа данных, полученных при проведении нагрузочной пробы, не было выявлено взаимосвязи между генотипом по полиморфизму 894G>T, типом реакции на нагрузку и уровнем продукции NO. Таким образом, полученные результаты не позволяют оценивать патологический аллель T как значимый фактор риска формирования периферической вазоконстрикции у лиц юношеского возраста. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Архангельской области регионального конкурса «Север» в рамках научного проекта №14-04-98823 «Ассоциации полиморфизмов в генах NOS3, EDN1, EDNRA, EDNRB с периферической вазоконстрикцией».

**ВЛИЯНИЕ 30-ДНЕВНОГО ЦИКЛА ГИПЕРТЕРМИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ КРЫС****В.Ю. Николаев, И.И. Шахматов, В.И. Киселёв** *Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Барнаул; НИИ физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия*

Известно, что состояние организма при общем перегревании представляет собой один из вариантов стресса. По данным литературы, в развитии осложнений со стороны системной гемодинамики при стрессорных воздействиях значительную роль играют нарушения в системе гемостаза, и в частности его сосудисто-тромбоцитарном звене. Целью исследования было оценить влияние многократного 30-дневного общего перегрева (ОО) в воздушной среде на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз у крыс. В работе использовали 80 крыс-самцов линии Wistar массой  $237 \pm 25,0$  г. ОО моделировалось ежедневным помещением животных в воздушный термостат на 19 минут при температуре  $45^\circ\text{C}$ . Все экспериментальные животные были разделены на 4 опытных ( $n=40$ ) и 4 контрольных группы ( $n=40$ ). Кровь для исследования из печеночного синуса в объеме 5–6 мл забиралась по завершении экспозиции в термостате на 1, 7, 15 и 30 день эксперимента. Однократная общая гипертермия сопровождалась снижением количества тромбоцитов на 9% ( $p < 0,001$ ) и повышением их агрегационной функции – на 34% ( $p < 0,001$ ). На 7 день после ежедневного общего гипертермического воздействия у экспериментальных животных регистрировалось снижение количества тромбоцитов на 14% ( $p < 0,001$ ) и повышение их агрегационной активности на 24% ( $p < 0,01$ ). По истечении 15-дневных гипертермических нагрузок у крыс опытной группы по сравнению с данными, зарегистрированными на 7-й день эксперимента, количество тромбоцитов оставалось по-прежнему на низком уровне и было снижено относительно контроля на 16% ( $p < 0,001$ ), в то время, как их агрегационная активность восстанавливалась до исходных значений. 30-дневное гипертермическое тренировочное воздействие вызывало угнетение сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, сопровождаясь снижением количества тромбоцитов на 19% ( $p < 0,001$ ) и их агрегационной активности – на 24% ( $p < 0,01$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что 30-дневный цикл гипертермических тренировок оказывает адаптирующее влияние на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз лабораторных животных, снижая как количество тромбоцитов, так и их агрегационную активность.

**ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОПЕПТИД У-ЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ****К.Ю. Моисеев** *Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

Целью настоящей работы явилось определение НПУ-позитивных волокон и нейронов интрамуральных узлов, иннервирующих сердце, а также выявление рецепторов к НПУ типов Y1, Y2 и Y5 при помощи иммуногистохимических методов и вестерн-блоттинга. Исследование проведено на 35 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30, 60 суток с соблюдением национальных и международных этических норм обращения с лабораторными животными. Исследованию подвергали правое и левое предсердия и желудочки. Выявление структур, содержащих НПУ, Y1, Y2 и Y5 рецепторы к НПУ, проводили при помощи иммуногистохимических методов с использованием меченых антител с последующей флуоресцентной микроскопией по методике ранее описанной нами. Также экспрессия вышеназванных соединений выявлялась при помощи вестерн-блоттинга. Результаты показали, что НПУ-содержащие волокна и нейроны обнаруживались в миокарде уже с момента рождения и на протяжении остальных изучаемых возрастных периодов. У новорожденных животных плотность НПУ-иммунореактивных волокон была наименьшей ( $78 \pm 12,4$  на  $\text{мм}^2$ ) и достоверно возрастала с момента рождения в течение первых 20 суток жизни до  $526 \pm 46,2$  на  $\text{мм}^2$  ( $p < 0,05$ ), далее существенно не изменяясь, в том числе и у старых двухлетних крыс ( $487 \pm 53,6$  на  $\text{мм}^2$ ,  $p > 0,05$ ). Экспрессия рецепторов Y5 являлась наиболее выраженной у новорожденных ( $0,60 \pm 0,08$  по отношению экспрессии GAPDH) и значительно снижалась первые 10 суток до  $0,36 \pm 0,07$ , далее не изменяясь. В противоположность, плотность Y1 и Y2 рецепторов увеличивалась в онтогенезе. При этом Y1 рецепторы определялись в небольшом количестве у новорожденных крыс ( $0,46 \pm 0,07$ ) и их количество достоверно возрастало в первые 20 суток жизни до  $0,94 \pm 0,05$  ( $p < 0,05$ ), Y2 рецепторы выявлялись лишь с 20 суток жизни ( $0,24 \pm 0,04$ ), не меняя в последующем степень экспрессии ( $p > 0,05$ ). По данным вестерн-блоттинга, экспрессия Y2 рецепторов была значительно меньше в сравнении с Y1 рецепторами у всех крыс ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у крыс НПУ-ергическая иннервация сердца присутствует с момента рождения. В раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение плотности НПУ-позитивных волокон, а также Y1 и Y2 рецепторов, в то же время доля Y5 рецепторов снижается. Вероятно, указанные изменения связаны с трофическим действием НПУ. *Работа поддержана РФФИ, грант 13-04-00059-а.*

**ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ ЖЕЛУДКА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ****Н.С. Тропская, И.Г. Шашкова, Т.С. Попова***НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия*

Цель: изучение изменений параметров электрической активности тонкой кишки в условиях гипохлоргидрии. Исследования выполнены на 6 крысах самцах линии Вистар, которым за 15 дней до экспериментов были вживлены игольчатые электроды в тощую кишку на расстоянии 5, 10, 15 см от связки Трейтца, а также зонд в антральную часть желудка. На протяжении 16 суток эксперимента животным ежедневно внутривенно однократно вводили раствор париета в дозе  $0,14$  мг/кг. Фоновая электрическая активность тонкой кишки регистрировалась в течение первого часа. Затем в желудочный зонд вводили раствор париета и продолжали регистрацию электрической активности в течение двух часов. До и через два часа после введения париета измерялся pH содержимого желудка. На 17 сутки животных выводили из эксперимента летальной дозой наркоза. Рассчитывались основные параметры электрической активности тонкой кишки; данные представлялись в виде медианы и персентилей. Сравнение параметров проводили с помощью критерия Вилкоксона. Результаты: До введения париета pH желудочного сока составляла 2 (2;2). Электрическая активность тощей кишки характеризовалась наличием мигрирующего миеоэлектрического комплекса (ММК). Количество ММК в час составляло 3 (3; 4), период ММК – 645 (560; 743) сек, длительность фазы I – 31,2 (28,3;34)%, фазы II – 45,9 (42,9;49,6)%, фазы III – 20,9 (17,3;24,9)%, скорость распространения фазы III – 2 (1,8; 2,7) см/мин. Через 16 суток после введения париета pH желудочного сока составила 6,5 (6,5;7). Наблюдалось изменение характера электрической активности тощей кишки. На 17 сутки (перед забоем) регистрировался 1 (1; 2) ММК в час, период ММК – 590 (485; 755) сек, длительность фазы I – 14,8 (12,8;16,9)%, фазы II – 70,6 (68,2; 74,4)%, фазы III – 12,7 (12; 13,7)%, скорость



распространения фазы III – 2 (1,3; 2,1) см/мин. Данные основных параметров ММК статистически значимы, кроме длительности фазы III. Таким образом, при гипохлоргидрии желудка наблюдается урежение цикла ММК и уменьшение числа распространяющихся комплексов и, следовательно, частичное подавление пропульсивной перистальтики. Кроме того, наблюдалось увеличение длительности нерегулярной активности с уменьшением времени покоя, что способствовало усилению некоординированных сокращений тонкой кишки.

### **РОЛЬ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЗВЕНА ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА В РЕАЛИЗАЦИИ СЕРДЕЧНО-ДЫХАТЕЛЬНОГО СИНХРОНИЗМА**

**В.Г. Абушкевич, Ю.Д. Глумскова, А.Г. Похотько, Д.К. Сичинава**

*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия*

Целью работы явилось выяснение роли центрального звена зрительного анализатора в реализации пробы сердечно-дыхательного синхронизма. Наблюдения проведены на 36 здоровых лицах и на 50 лицах, имеющих один очаг повреждения в коре затылочной (14 человек), височной (13 человек) и теменной (23 человек) долях мозга, вследствие перенесенного 6 месяцев назад очагового инсульта. Очаг повреждения визуализировался на компьютерных и магнито-резонансных томограммах. У всех испытуемых проводили пробу сердечно-дыхательной синхронизации, и определяли параметры функционирования коркового отдела зрительного анализатора. Установлено, что у здоровых людей между диапазоном синхронизации, лабильностью, пропускной способностью коркового отдела зрительного анализатора имеется сильная прямая корреляционная связь (Коэффициенты корреляции 0,82; 0,83). Между диапазоном синхронизации, латентным периодом простой зрительно-моторной реакции, длительностью возбуждения и длительностью восстановления в корковом отделе зрительного анализатора имеет место сильная обратная корреляционная связь (Коэффициенты корреляции – 0,77; – 0,79; – 0,78). У лиц при очаге повреждения в шпорной борозде с одной стороны диапазон сердечно-дыхательной синхронизации был меньше, чем у здоровых людей. При наличии очага повреждения в коре височной доли наблюдаемые не могли сразу дышать в такт команде как здоровые люди. По-видимому, у таких людей понижается процесс опознания формы изображения (команды на экране монитора), за что отвечает нижневисочная доля. При очаге повреждения в задней зоне коры теменной доли феномен сердечно-дыхательной синхронизации не развивался. Это связано с тем, что данная зона отвечает за интеграцию соматосенсорной и зрительной информации для выполнения сложных движений и ее повреждение не позволяет пациенту дышать в такт задаваемому сигналу. Таким образом, корковый отдел зрительного анализатора обеспечивает одно из звеньев в механизме феномена сердечно-дыхательной синхронизации.

### **РЕГУЛЯТОРНО-АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И РЕГУЛЯТОРНО-АДАПТИВНЫЕ РЕЗЕРВЫ У ВАГОТониКОВ, СИМПАТОТониКОВ, ЭЙТониКОВ**

**В.Г. Абушкевич, Н.Г. Мирцхулава, А.Г. Похотько** *Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия*

Целью работы явилось выявление регуляторно-адаптивных возможностей и регуляторно-адаптивных резервов у ваготоников, эйтоников, симпатотоников. Среди наблюдаемых здоровых лиц, по индексу Кердо, пробе Ашнера – Даныни, пробе местного дермографизма и вариабельности ритма сердца было выявлено 32 ваготоника, 19 эйтоников и 39 симпатотоников. Регуляторно-адаптивные возможности определяли по индексу регуляторно-адаптивного статуса, который рассчитывался по параметрам пробы сердечно-дыхательного синхронизма. Регуляторно-адаптивные резервы устанавливали по параметрам сердечно-дыхательного синхронизма при углублении дыхания. При неуглубленном дыхании при проведении пробы сердечно-дыхательного синхронизма самое большое значение индекса регуляторно-адаптивного статуса и соответственно, регуляторно-адаптивные возможности имели место у симпатотоников ( $55,7 \pm 0,3$ ), затем у эйтоников ( $47,0 \pm 0,3$ ) и ваготоников ( $39,5 \pm 0,2$ ). При проведении пробы с углубленным дыханием наибольшее значение индекса регуляторно-адаптивного статуса было у ваготоников ( $89,1 \pm 1,0$ ), эйтоников ( $84,4 \pm 0,8$ ), симпатотоников ( $78,8 \pm 0,4$ ). Проведение пробы сердечно-дыхательного синхронизма с углублением дыхания позволяет выявить регуляторно-адаптивные резервы. Они больше у ваготоников, меньше у эйтоников и еще меньше у симпатотоников. При одинаковом углублении дыхания эта закономерность сохраняется. Это можно объяснить тем, что связующим звеном: мозг – сердце является блуждающий нерв. При углублении дыхания у ваготоников увеличивается проявление влияния блуждающего нерва в реализации сердечно-дыхательного синхронизма.

### **ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ВОЗБУЖДЕНИЯ В ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЯХ**

**Н.М. Махнова, В.А. Минкин, А.Н. Арделян, И.А. Головин, Е.И. Грицаев, А.В. Коданев, Н.В. Корнилова, Ю.Ю. Перова, В.В. Попков, А.С. Саркисян, И.М. Сомов, Н.М. Шулая, Л.А. Скорикова**

*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар; Научно-производственное предприятие «Электрон», фирма «ELSYS», Санкт-Петербург, Россия*

Настоящее исследование предпринято с целью повышения возможностей регистрации процесса возбуждения в возбудимых тканях. Применяемое компьютерное картирование при помощи электродной матрицы, метод оптического потенциала позволяют регистрировать процесс возбуждения только на поверхности ткани, в то же время он распространяется в глубине ткани. В этом плане, в экспериментах на животных, осуществляли визуализацию очага возбуждения в продолговатом мозге, в ваго-симпатическом стволе лягушки, в блуждающем нерве кошки, в пейсмекере венозного синуса сердца лягушки, в синоатриальном узле сердца кошки, в пейсмекере желудка и тонкой кишки, мочеточниках крысы, мыши, в нервных волокнах пульпы зуба крысы и кошки в высокочастотном электрическом поле. К выше указанным областям подводили сканер установки КЭЛСИ фирмы «ELSYS» (Санкт-Петербург), создающей высокочастотное электрическое поле (1024 Гц). В высокочастотном электрическом поле наблюдали очаг свечения, который являлся маркером очага возбуждения: очаг свечения перемещался в том же направлении, с той же скоростью, что и очаг возбуждения. При помощи специально разработанной программы определили глубину очага от поверхности ткани (органа), его размеры, динамику распространения в вертикальном и горизонтальном направлениях в глубине возбудимой ткани. Таким образом, разрабатываемый метод позволяет визуализировать процесс возбуждения в мозге, нерве, пейсмекере разных органов.

**ВЛИЯНИЕ НИТРИТА НАТРИЯ НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ В ТКАНЯХ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ**

А.А. Петенкова, Р.И. Коваленко, Е.А. Машкина, Е.Д. Рубец

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Актуальной проблемой современной физиологии является изучение механизмов адаптации человека и животных к гипоксии. Наиболее чувствительным к дефициту кислорода органом является сердце. При инфаркте миокарда, инсульте, ишемии развивается кислородная недостаточность, приводящая к необратимому повреждению тканей. Проблема поиска новых защитных механизмов, направленных на уменьшение или полное предотвращение гибели кардиомиоцитов. Одним из основных направлений в этом поиске является исследование механизмов действия нитрита натрия на сердце. Целью данного исследования является изучение влияния гипоксического прекондиционирования с использованием нитрита натрия на механизмы поддержания про- и антиоксидантного баланса изолированного сердца крысы в условиях ишемии-реперфузии. Исследования проводились на самцах крыс линии Вистар с массой тела 180-200 г (n=10). В качестве гипоксического прекондиционирования животным предварительно подкожно вводили нитрит натрия в дозе 3 мг/100 г массы, контрольным животным – физиологический раствор. Спустя 30 мин у наркотизированных крыс извлекали сердце путем проведения билатеральной трансабдоминальной торакотомии. Затем изолированное сердце подключалось к системе работающего сердца по Моргану-Нилли. В качестве перфузата использовался буферный раствор Кребса–Хенселейта (pH=7,4), обогащенный карбогеном. Модель ишемии – реперфузии создавалась 30 мин интервалами. При этом ишемию индуцировали остановкой процесса насыщения перфузата карбогеном. В ходе исследования был проведен анализ содержания продуктов, активных в тесте с 2-тиобарбитуровой кислотой, и активности каталазы в тканях левого и правого желудочков сердца после ишемии и реперфузии. Обнаружено достоверное увеличение активности каталазы в тканях желудочков сердца. Исследования проведены с использованием оборудования ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий». На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что гипоксическое прекондиционирование с использованием нитрита натрия может оказывать протекторное действие на функционирование изолированного сердца крысы, работающего в модели Морган-Нилли, после ишемии и реперфузии. Работа выполнена в рамках научного проекта, поддержанного грантом «мол\_a» РФФИ № 16-34-00593.

**ВИРТУАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РИСКА РАЗВИТИЯ ИБС НА ОСНОВЕ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

В.М. Никитин, Е.А. Липунова, О.А. Ефремова, И.А. Кочеткова, Л.А. Камышникова

Белгородский национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Разработан оригинальный способ и реализующая его обучаемая программа (ЭВМ) генерации медицинского управляющего решения (МУР) для региональной системы «Телекардиология». МУР представляет собой электронный диагноз текущего состояния сердечно-сосудистой системы (ССС) пациента. Обучаемая программа предусматривает предварительное формирование многомерного образа текущего состояния ССС, и его визуализацию в N-мерном пространстве. При этом, многомерный образ состояния ССС определяется как совокупность неинвазивно измеряемых в физических величинах оцифрованных мгновенных значений различных клинических кардиоданных. Затем осуществляется построение двумерных образов состояний ССС путём отображения сформированных многомерных образов на плоскость многоцветного экрана видеомонитора. Предложенный способ и реализующая его обучаемая программа (ЭВМ) также предусматривает предварительное построение виртуальных объемных моделей различных нозологических форм болезней ССС. Построение этих моделей осуществляют в виде совокупности M-геометрических мест точек в N-мерном пространстве состояния ССС и последующее формирование двумерных моделей различных нозологических форм болезней ССС на основе отображения сформированных объемных моделей различных нозологических форм болезней на плоскость многоцветного экрана видеомонитора. Исключение неоднозначности сгенерированного МУР осуществляется на основе теории нечетких множеств и реализации следующих процедур обработки пространственно-временных кардиоданных: перенос начала координат в N-мерном пространстве; сечение сформированных объемных моделей различных нозологических форм болезней ССС парой параллельных гиперплоскостей в N-мерном пространстве. (Работа поддержана РФФИ на 2016-2018 гг. Проект № 15-46-03087 от 01. 09. 2015 г.)

**ПРИМЕНЕНИЕ НОВОЙ ФОРМУЛЫ РАСЧЕТА СРЕДНЕГО ГЕМОДИНАМИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ТЕСТИРОВАНИИ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ**

А.А. Семенович Минский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Нами (Семенович А.А., Комякович А.П., 2011г) выведена формула расчета среднего гемодинамического давления ( $P_{сгд}$ ), применимая как для условий покоя, так и интенсивной физической нагрузки. Эта формула имеет вид:

$$P_{сгд} = P_d + (P_n \times ЧСС/230) + (ЧСС - 100)P_n - (ЧСС - 100)/10,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений,  $P_d$  – диастолическое,  $P_n$  – пульсовое давления. Если использовать показатель систолического давления ( $P_c$ ), то эта формула примет вид:

$$P_{сгд} = P_d + (P_c - P_d) \times ЧСС/230 + (ЧСС - 100)/(P_c - P_d) - (ЧСС - 100)/10$$

Основанием для ее вывода послужили результаты нагрузочного велоэргометрического тестирования группы практически здоровых мужчин (57 человек возрастом 18-29 лет) с использованием компьютерной системы Cardiovit CS-100 фирмы Шиллер и пульсоксиметрии. Одним из ориентиров для оценки адекватности расчета  $P_{сгд}$  по формуле Семеновича–Комяковича может служить высокий (0,90±0,01) уровень корреляции нарастания  $P_{сгд}$  с величиной потребления кислорода при нарастающей физической нагрузке. В тех же условиях аналогичные показатели корреляции при расчете  $P_{сгд}$  по формулам Хикема, Савицкого, Вецлера–Богера, были гораздо ниже (p<0,01), составляя соответственно 0,56±0,07; 0,66±0,05; 0,68±0,05.

При ЧСС (60–70) рассчитанные по нашей формуле показатели  $P_{сгд}$  практически совпадают с расчетом по формуле Хикема; при частоте 90 – по формуле Вецлера–Богера; при частоте 110–120 – по формуле Савицкого; а при ЧСС больше 120 – превышают показатели, рассчитанные по всем вышеназванным формулам. Такое увеличение  $P_{сгд}$  следует ожидать исходя из ряда

известных фактов: 1) при интенсификации работы линейная скорость тока крови возрастает и все большая часть гемодинамической силы аккумулируется не в боковом давлении, а в кинетической энергии струи крови; 2) при увеличении ЧСС показатель отношения длительности периода изгнания к длительности сердечного цикла увеличивается. Поэтому учет ЧСС необходим при расчете  $R_{стд}$  для условий разных степеней физической нагрузки.

Использование нашей формулы может оказаться эффективным как при тестировании резервов сердца, так и при проведении функциональных проб, не использующих физическую нагрузку.

#### **СРАВНЕНИЕ КАРДИОРЕСПИРАТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ ПРИ МИНИМАЛЬНЫХ НАГРУЗКАХ**

**С.В. Куприянов, С.В. Бочкарев, Е.А. Сергеева, К.В. Степанов, С.А. Чермаков, Я.А. Янова**

*Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия*

В настоящее время не существует общепризнанных клинических коэффициентов оценки реакций кардиореспираторной системы (КРС). В доступной литературе не удалось обнаружить данных о возможности уменьшения частоты внешнего дыхания при физической нагрузке, а также о долевом участии различных элементов КРС в обеспечении конечного полезного результата. Исследования проведены на 23 юношах и девушках, 19–23 лет, различных типов конституции. На велоэргометре Oхуген Satorì U в течении 30 с, с заданным ритмом вращения педалей 40 в мин. предоставлялась минимальная нагрузка (30 и 50 Вт). До нагрузки, на ее высоте и через 3 мин. после одновременно проводились спирография (СМП 21/01), тоно- и пульсометрия. Наблюдалось увеличение дыхательного объема на  $0,13 \pm 0,01$  л (от состояния покоя) и уменьшение его частоты на  $3,4 \pm 0,01$  дв./мин. ( $p < 0,01$ ). Минутный объем дыхания увеличивался на  $0,88 \pm 0,13$  л. Так же происходили повышения уровней систолического давления на  $5,0 \pm 1,9$  мм рт. ст. и диастолического – на  $3,06 \pm 1,9$  мм рт. ст. Реакции гемодинамики носили нестабильный характер, зачастую давление не изменялось. Пульс на высоте нагрузки увеличивался на  $7,33 \pm 1,71$  уд./мин. (9% к исходному уровню,  $p < 0,05$ ). Было проведено сравнение вышеприведенных данных с подобными результатами, полученными нами ранее в многолетних экспериментах на кошках (С.В. Куприянов, «Роль барорецепторов зоны позвоночных артерий в рефлекторной регуляции тонуса вен спланхнического бассейна», 2009). При минимальных физических нагрузках вентиляция легких (аэрация крови, коррекция газообмена и кислотности в тканях) осуществляется за счет большей реактивности амплитуды внешнего дыхания и в меньшей степени за счет изменения частоты дыхательных движений. Такой тип реакций дыхательного компонента КРС является более эффективным. При этом в пределах КРС доминирует дыхательный компонент. В меньшей степени адаптация обеспечивается реакциями на системное артериальное давление и пульс. Закономерности, определяющие выраженность активности компонентов КРС для организмов человека и животных оказываются подобными.

#### **АУТОЛОГИЧНЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ПРОЦЕССАХ РОСТА И РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ ПРИ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

**М.А. Хидиров, Д.З. Иргашева**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Целью нашей работы было выявление роли стволовых клеток в процессах роста и репарации тканей при клеточной терапии ишемической болезни сердца. В исследование включено 30 пациентов мужского пола, после получения у них информированного согласия. Из них 15 больным проведено клеточная терапия стволовыми клетками CD-133+ и CD34+ сепарированных из костного мозга самих пациентов. Забор костного мозга производился стандартным проколом грудины под местной анестезией. Стволовые клетки были изолированы от других клеток центрифугированием в градиенте плотности Ficoll с иммуномагнитным сепарированием и культуры CD133+/CD34+ в процентном соотношении ( $87 \pm 4\%$  /  $8 \pm 5\%$ ). Изолированные стволовые клетки CD133+/CD34+ были введены внутриартериально в коронарные артерии пациентам во время коронарографии в средней дозе 5 мл суспензии, содержащей 0,8–1,5 миллиона клеток. Клиническое обследование включало в себя проточную цитометрию, иммуноцитохимический анализ с использованием специфических антител, методы лабораторного тестирования, ЭКГ-обследование в 12 общепринятых отведениях, измерения EFLV (фракция выброса из левого желудочка), ESV (ударный объем крови), EDV (конечный диастолический объем). Восми пациентам из 15 основной группы проведена скинтография миокарда с использованием радиофармокологического препарата Tc99m с лигандом methoxyisobutylisonitrile (MIBI), чтобы оценить динамику перфузии миокарда до и после клеточной терапии.

Результаты клинического обследования больных обнаружили положительную динамику через 3 и 6 месяцев лечения в обеих группах пациентов. Основные показатели кардиогемодинамики изменились следующим образом: EFLV при исходном уровне  $50 \pm 9\%$ , через 6 месяцев повысилась до  $58 \pm 9\%$  ( $p < 0,001$ ); ESV при исходном уровне  $114 \pm 22$  мл, через 6 месяцев составил  $109 \pm 25$  мл ( $p = 0,45$ ); EDV при исходном уровне  $57 \pm 19$ , через 6 месяцев улучшился и составил  $46 \pm 18$  мл ( $p < 0,001$ ). Улучшились количественно-качественные показатели сердечного ритма. Согласно данным скинтографии миокарда рубцовые изменения в среднем, были равны 25%. Жизнеспособный миокард был обнаружен в области боковых стен (апикальные сегменты), межжелудочковой перегородки (основные и средние сегменты), и верхушки сердца. Перфузия миокарда значительно улучшилась, этому свидетельствует данные скинтографии до и после клеточной терапии.

Таким образом, использованный нами метод трансплантации аутологичных стволовых клеток CD133+ является безопасным и не повышает коронарогенную летальность. Лечение аутологичными стволовыми клетками CD133+/CD34+ достоверно улучшает основные показатели кардиогемодинамики, что, прежде всего, сопровождается достоверным повышением фракции выброса левого желудочка и «нормализацией» конечного диастолического объема. CD133+/CD34+ синтезируют необходимые факторы роста для неоангиогенеза и регенерации тканей.

#### **ПОЛИКОМПОНЕНТНАЯ БИОМЕХАНИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ЛЕГКИХ**

**А.И. Карзилов** *Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия*

В рамках теории биомеханического гомеостаза АВД, разработанной автором (Карзилов А.И., 2007, 2009), была предложена оригинальная модель легких, включающая структурно-функциональные компоненты: биомеханический буфер, двухкомтурные легкие, сократительно-эластический сурфактантный комплекс легких (СЭСК). Биомеханический буфер включает ди-

стальные отделы легочной паренхимы и является одним из механизмов формирования внутрилегочного гистерезиса, обеспечения постоянной динамической защиты внутрилегочных структур от критической деформации и достижения оптимальной сопряженности между изменениями дыхательного объема и транспульмонального давления. Двухконтурные легкие содержат внутренний контур, образованный структурами внутренней поверхности дыхательных путей и респираторной зоны, а также внешний контур, ограниченный висцеральной плеврой и жестко сопряженный с механическими движениями грудной клетки в акте дыхания. Внешний контур легких совпадает с изменениями формы грудной клетки в акте дыхания. Внутренний контур легких по отношению к внешнему обладает большей степенью свободы действий, что позволяет ему приспосабливаться к динамическому изменению механических свойств легочной паренхимы в процессе вентиляции легких. Взаимодействие контуров предлагается оценивать по синхронности, уровню активности, пластичности, устойчивости, оптимальности функционирования. Сопряженность спиралевидных эластических волокон, гладких мышц и сурфактантной системы легких образует единый СЭСК, оказывающий влияние на бронхиальную проходимость, обеспечивая с высокой степенью надежности поступление воздуха по дыхательным путям в респираторную зону и его обратное движение. Роль СЭСК в процессе вентиляции легких состоит в обеспечении состояния оптимальности в иерархически ветвящемся бронхиальном дереве и его подмножествах, когда его полное гидравлическое сопротивление является минимальным среди других возможных ветвлений. Данная модель легких позволяет объяснить механизмы обеспечения биомеханического гомеостаза АД у здоровых лиц, больных с патологией легких и животных в остром эксперименте. Схема и подробное описание модели легких представлены в докторской диссертации «Регуляторное обеспечение устойчивости биомеханики дыхания при обструктивных заболеваниях легких» (Карзилов А.И., 2009).

### **ТЕОРИЯ БИОМЕХАНИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗИСА АППАРАТА ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ**

**А.И. Карзилов** *Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия*

Представлены обобщенные результаты многолетних исследований биомеханических свойств легких и механизмов регуляции аппарата внешнего дыхания (АВД) у здоровых лиц, больных с патологией легких (ПЛ) и животных в остром эксперименте. По данным проведенных исследований впервые была сформулирована теория биомеханического гомеостаза АД (Карзилов А.И., 2007, 2009), не имеющая аналогов в отечественной и зарубежной науке: «Аппарат внешнего дыхания людей и млекопитающих является биомеханическим гомеостатом, поддерживающим гомеостатические параметры биомеханики дыхания с жесткой и пластичной регуляцией, гомеостатические связи между показателями механики вентиляции легких, а также устойчивость вентиляционной функции аппарата внешнего дыхания, механизмы обеспечения которых связаны с системой регуляции живого организма, целостностью торако-легочной системы и механическими свойствами легких». Разработана оригинальная методология исследования биомеханического гомеостаза АД, которая позволила выявить у здоровых лиц и больных с ПЛ количественные гомеостатические показатели биомеханики дыхания и классифицировать их на параметры с жесткой и пластичной регуляцией. Были выделены пять гомеостатических параметров – два с жесткой регуляцией и три с пластичной регуляцией. Создана оригинальная трехкомпонентная модель легких, включающая: биомеханический буфер, двухконтурную структуру легких и сократительно-эластический сурфактантный комплекс легких. Построена структурная модель регуляции биомеханического гомеостаза АД, включающая внутрилегочный и внелегочный уровни. Внутрилегочный уровень обеспечивается изменениями структуры компонентов неэластического и эластического сопротивления легких. Внелегочный уровень обеспечивается работой ЦНС, а также поведенческими гомеостатическими реакциями (Синдром госпитальной абстиненции). Теория биомеханического гомеостаза АД позволяет объяснить многие парадоксальные данные, полученные при исследовании АД у здоровых лиц и больных с ПЛ, прогнозировать биомеханические эффекты при трансплантации легких и терапевтических воздействиях на АД. По результатам исследования успешно защищена докторская диссертация «Регуляторное обеспечение устойчивости биомеханики дыхания при обструктивных заболеваниях легких» (Карзилов А.И., 2009).

### **ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ИНСПИРАТОРНОЙ И ЭКСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕГКИХ – ОТКРЫТИЕ НОВОЙ ФИЗИОЛОГИИ МЕХАНИЧЕСКИХ ДВИЖЕНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ**

**Ф.Ф. Тетнев, К.Ф. Тетнев, Т.Н. Бодрова, Т.С. Агеева**

*Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия*

Гипотеза о механической активности легких у млекопитающих возникла в 18 веке при филогенетическом изучении проблемы. У земноводных нет грудной клетки, и их легкие самостоятельно совершают инспираторные и экспираторные движения. У млекопитающих аппарат внешнего дыхания включает грудную клетку, плевральную полость и дыхательную мускулатуру. Какова судьба при этом способности легких к самостоятельным механическим движениям? Обсуждались 2 теории. 1-я теория: эта способность легких редуцировалась. Наблюдение коллапса легких при пневмотораксе однозначно поддержало эту теорию. Согласно 2-й теории эта способность легких сохранилась, но выполняет в механике дыхания пока неизвестную роль. Эту теорию поддерживали клинические и экспериментальные наблюдения необычного поведения легких при пневмотораксе и гидротораксе вопреки силам гравитации. Опыт Ф. Дондерса (1853) вентиляции изолированных легких под специальным колоколом однозначно поддержал 1-ю теорию, и она стала господствующей теорией (парадигмой) до сегодняшних дней. Изучение механики дыхания началось в 1927 году в связи с разработкой методики одновременной регистрации дыхательного объема и транспульмонального давления (разницы между плевральным давлением и давлением во рту). Появилась возможность измерять эластическое и неэластическое сопротивление легких. Методика прерывания воздушного потока клапаном (1952) позволила выявить необычные свойства легких. В 1966 г. они были расценены как фундаментально противоречащие дондерсовской парадигме. Отсутствие тканевого трения противоречило 2-му закону термодинамики, а отрицательный эластический гистерезис, согласно требованиям 1-го закона термодинамики, был объяснен работой внутрилегочного источника механической энергии. В изолированных легких механическая активность легких однозначно не выявляется. При жизни она выявляется на вдохе и выдохе и может быть измерена несколькими методами измерения. Например, у здоровых людей при спонтанном дыхании работа внутрилегочного источника механической энергии составляет в среднем 41,5 (35,1-53,0)% от общей работы дыхания. При патологии этот показатель может уменьшаться и увеличиваться.

**МЕХАНИЗМЫ ВЕГЕТАТИВНЫХ СДВИГОВ ПРИ ПРОИЗВОЛЬНОЙ ГИПЕРВЕНТИЛЯЦИИ**

**М.И. Панина, В.П. Панин** *Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия*

Дыхание, как важнейшая функция организма, регулируется одновременно соматической и вегетативной (ВНС) нервными системами. Произвольное дыхание, контролируемое корой головного мозга, включается в поддержание гомеостатического равновесия в исключительных случаях. Система дыхания способна изменять функциональное состояние организма. Работы многочисленных исследователей посвящены изучению гиповентиляционных нарушений, механизмы же гипервентиляционных состояний и возникающих при этом изменений со стороны вегетативных и соматических функций в литературе освещены недостаточно. Интерес к проблеме произвольной гипервентиляции (ГВ) возрос и в связи с широко применяемой в психотерапевтической практике техники холотропного дыхания (ХД). В наших исследованиях для изучения вегетативных влияний на деятельность сердца, а также в качестве индикатора текущего функционального состояния организма при произвольной ГВ использовался метод кардиоинтервалографии. Временной анализ вариабельности сердечного ритма (СР) при проведении сеансов ХД показал, что на 5–10-й мин у обследуемых наблюдалось уменьшение индекса напряжения (ИН), свидетельствующее о снижении активности подкорковых центров регуляции СР. Эти изменения были направлены на нормализацию баланса симпатической и парасимпатической ВНС и адаптацию на более низком уровне функционирования системы управления СР. В пользу этого говорило и уменьшение индекса вегетативного равновесия (ИВР). После 30 мин ХД изменялось состояние напряжения адаптации, выражавшееся в снижении вариабельности СР, снижении функциональных резервов системы регуляции (повышался ИН), возрастала активность симпатического отдела ВНС, о чем свидетельствовали показатели А Мо и ИН. На основании полученных результатов можно заключить, что одним из механизмов адаптации сердечно-сосудистой системы к условиям ГВ является изменение характера вегетативной регуляции СР. Полученные результаты могут быть использованы при ХД для контроля продолжительности и эффективности сеансов, а также могут служить объективными показателями для оперативного выявления лиц, испытывающих значительные трудности при выполнении техники ХД.

**SYNAPTIC HOUSEKEEPING: WHY DIFFERENT FORMS OF SYNAPTIC PLASTICITY ARE NECESSARY?**

**Maxim Volgushev**

*University of Connecticut, Storrs CT, USA & Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

Hebbian type, associative plasticity provides a cellular mechanism of learning and refinement of connectivity during development in a variety of biological systems. However, Hebbian learning rules introduce a positive feedback on changes of synaptic weights and neuronal activity, making learning systems prone to runaway dynamics. The need for mechanism(s) which constrain this tendency for runaway dynamics has been well-articulated by theoretical and modeling studies. However, biological basis of such mechanisms remains elusive. In my talk I will consider an emerging view of synaptic weight changes as a result of mutual actions of different forms of plasticity playing distinct functional roles. First, I will present experimental evidence for a novel form of heterosynaptic plasticity which accompany induction of Hebbian-type associative plasticity. This form of heterosynaptic plasticity requires raises of intracellular calcium concentration in the postsynaptic neuron, but does not require activity at the presynapse for the induction. It can be induced by conventional protocols used for the induction of associative plasticity, such as spike-timing dependent plasticity (STDP). It is weight-dependent: synapses with initially low release probability tend to potentiate, while synapses with initially high release probability tend to be depressed. I will consider how associative and heterosynaptic plasticity both shape synaptic weights. Next, I will compare experimentally-observed properties of this form of plasticity to the requirements, which theoretical and modelling studies identified for the mechanisms maintaining synaptic homeostasis during on-going plastic changes driven by Hebbian-type learning. This comparison shows that weight-dependent heterosynaptic plasticity is a strong candidate to fulfill the homeostatic role. Finally, I will present experimental evidence for modulation of heterosynaptic plasticity by adenosine, and consider how this modulation may switch the mode of operation of neurons between an unbalancing regime, which is dominated by associative plasticity and supports drastic changes of synaptic weights, and a homeostatic regime of tightly constrained synaptic changes.

**ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ФУНКЦИЙ МОЗГА**

**А.Ю. Малышев, М.В. Роцин, М.А. Волгушев, П.М. Балабан**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Оптогенетика, которую можно определить как управление при помощи света активностью нейронов за счет экспрессии в них светоактивируемых белков, является мощным инструментом в нейрофизиологических исследованиях, определившим значительный прогресс в изучении функций мозга в последнюю декаду. Прогресс оптогенетики решающим образом зависит от разработки новых молекулярных инструментов – светоактивируемых белков. Светоактивируемый катион-проводящий канал родопсин2 (channelrhodopsin2) широко используется для активации нервных клеток с момента появления оптогенетики. Однако до недавнего времени в руках исследователей не было столь же эффективного оптогенетического инструмента для торможения нейронов. В 2015 году было идентифицировано семейство природных светоактивируемых хлорных каналов ACR, способных с высокой эффективностью подавлять активность нейронов в оптогенетических экспериментах. Мы проанализировали свойства канала ACR2 путем его экспрессии в нейронах мозга крысы методом *in utero* электропорации. Было обнаружено, что в ACR2-экспрессирующихся нейронах световой стимул, помимо сильного торможения, также может вызывать генерацию потенциалов действия, которая происходит, по всей видимости, в аксонных терминалах нейрона. Таким образом, светоактивируемый канал ACR2 может быть использован в качестве как тормозного, так и активирующего инструмента в оптогенетических экспериментах в зависимости от выбранного паттерна световой стимуляции.

Кроме того, в нашей работе мы продемонстрировали, что помимо классического применения каналородопсина2 (для осуществления индуцированной светом активации нейронов), этот светоактивируемый катион-проводящий белок можно также использовать в качестве инструмента для изучения механизмов популяционного кодирования информации нейронными сетями. При этом становится возможным проводить изучение кодирующих свойств нейронов со значительно более высоким

пространственным разрешением, нежели это возможно с использованием стандартных методов клеточной электрофизиологии. Было показано, что использование коротких световых вспышек в этих экспериментах имеет значительное преимущество по сравнению с длительными флуктуирующими стимулами.

### **ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕЙРОНОВ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

**В.С. Тарабыкин** *НИИ нейронаук, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Нейроны коры головного мозга в развитии происходят из двух типов клеток-предшественников. В то время как ранние клетки-предшественники производят нейроны глубоких слоев коры, поздние предшественники рожают только нейроны верхних слоев. Молекулярный механизм, который контролирует различный потенциал ранних и поздних клеток-предшественников не известен. Мы обнаружили, что высокий уровень экспрессии гена TrkC-T1 который кодирует некаталитический вариант рецептора нейротрофина -TrkC, отличает ранние клетки-предшественники от поздних, которые экспрессируют TrkC-T1 на низком уровне. Мы также обнаружили прямые доказательства того, что высокий уровень TrkC-T1 способствует нейрогенезу глубоких слоев коры, в то время как низкий уровень позволяет верхнее поколение слоев. Кроме того, мы показали, что TrkC-T1 контролирует дифференцировку клеток коры, предотвращая активацию молекулы адаптера ShcA, который, в свою очередь, приводит к активации MAP киназы. Изменение уровня активности TrkC-T1, ShcA или Erk киназы оказывает непосредственное влияние на дифференцировку клеток-предшественников в коре головного мозга. Кроме того, мы показали, что уменьшение уровня TrkC-T1 в поздних предшественниках активирует SHC с последующей активацией Erk (MAP киназы) и приводит к тому что поздние клетки-предшественники генерируют нейроны верхних слоев коры головного мозга.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МОЗГОВЫХ СТРУКТУР, ВОВЛЕКАЕМЫХ В ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В УСЛОВИЯХ СОЗНАТЕЛЬНОЙ ЛЖИ**

**М.В. Киреев<sup>1,2</sup>, А.Д. Коротков<sup>1</sup>, С.В. Медведев<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева, РАН; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

В настоящий момент накоплен большой объем данных о функциональной специализации отдельных областей мозга в обеспечении высших психических функций мозга. Однако наше представление о системных механизмах работы мозга при реализации изучаемой деятельности существенно скромнее. До сих пор не выработаны непротиворечивые представления о базовых свойствах и механизмах сочтанной работы звеньев мозговых систем и закономерностей перестроек структуры их функциональных взаимодействий. В рамках решения этой проблемы нами были проведены исследования взаимодействий структур мозга, вовлекаемых в обеспечение целенаправленного поведения при реализации сознательных ложных действий. Опираясь на полученные нами ранее данные об участии мозговой системы детекции ошибок (ДО) в процессе обеспечения лжи, была сформулирована гипотеза о том, что механизм ДО влияет на работу исполнительных систем, что должно отражаться в усилении взаимодействия хвостатых ядер (где впервые была обнаружен физиологический феномен, который впоследствии был назван детектором ошибок (Bechtereva N.P., Gretchin V.B., 1968)) и структур префронтальной коры. Для проверки этой гипотезы использовались данные фМРТ исследования 24 испытуемых, которые анализировались с помощью последовательно применявшихся методов психофизиологических взаимодействий и причинно-следственного моделирования (dynamic casual modelling – DCM). В результате было обнаружено, что ложные действия (по сравнению с правдивыми) характеризуются усилением взаимодействий между хвостатыми ядрами и областями нижней лобной извилины левого полушария. При этом выявленные взаимодействующие структуры не обнаруживались при стандартном анализе данных. Таким образом, было получено подтверждение гипотезы настоящего исследования и впервые продемонстрировано, что ложные действия характеризуются усилением влияния на нижнюю лобную извилину со стороны хвостатых ядер. Выявленные свойства работы нейрональных систем, вовлекаемых в обеспечение целенаправленного поведения при лжи, свидетельствуют в пользу того, в основе склонности к ложным действиям лежит ослабление влияния мозговой системы детекции ошибок.

### **МОЗГОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕСТЕРЕОТИПНОЙ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ПРИМЕРЕ ВЕРБАЛЬНОГО ТВОРЧЕСТВА**

**М.Г. Старченко<sup>1</sup>, М.В. Киреев<sup>1,2</sup>, С.В. Медведев<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Креативность (творчество) можно определить как способность индивида порождать новые, необычные идеи, отклоняться в мышлении от стереотипов и традиционных схем, быстро разрешать проблемные ситуации. Несмотря на то, что с конца 20 века в мире активно развиваются нейрофизиологические исследования творческого мышления, до сих пор не существует единой или хотя бы общепринятой концепции мозговой организации творческой деятельности и ее нейрофизиологических механизмов. Целью данного исследования было исследовать фМРТ-корреляты разных типов творческого мышления. В качестве заданий были модифицированы с учетом особенностей метода фМРТ ранее нами разработанные и апробированные задания на вербальное творческое мышление (Starchenko, 2008). На основании полученных нами фМРТ-данных можно говорить о существовании мозговой системы, отвечающей за реализацию творческой деятельности вне зависимости от ее временных и функциональных особенностей, в которую входит большое количество областей мозга, что согласуется с концепцией академика Н.П. Бехтерева (Bechtereva, 2008), о том, что творческая деятельность активирует практически весь мозг, поскольку является нестереотипной деятельностью, для которой нет заданных алгоритмов решения. Полученные фМРТ-данные согласуются также и с ПЭТ-данными, полученными нами ранее (Bechtereva, 2004) при исследовании мозговой организации разных стратегий решения вербальных творческих задач. Для прояснения характера взаимодействия и степени влияния областей друг на друга был проведен дополнительный углубленный анализ изменений функциональной связанности между данными мозговыми областями. Было выявлено, что структура функциональных взаимодействий областей, вовлекаемых в обеспечение творческой деятельности, носит разнонаправленный характер: с одной стороны, усиление функциональных взаимодействий между нижней лобной корой и угловой извилиной, а с другой стороны – их ослабление между средней лобной извилиной и надкра-

вой извилиной. Полученные данные имеют важное значение не только для фундаментальных исследований мозговых механизмов творческого мышления, но и для физиологических исследований системной организации мозга в целом. *Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант № 16-18-00040.*

#### **ОСЦИЛЛЯТОРНЫЕ СЕТИ МОЗГА ПРИ ДЕПРЕССИИ**

**Г.Г. Князев, А.Н. Савостьянов, А.В. Бочаров** *НИИ физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск*

Большое депрессивное расстройство (БДР) связано с изменением активности функциональных сетей мозга (ФСМ). Показано, в частности, что активность дефолт системы (ДСМ), связанной с конструированием образа собственного «я», увеличивается, а активность фронто-париетальной системы внимания (ФПСВ) снижается. Это «доминирование» ДСМ над ФПСВ считается нейробиологической основой «руминации», то есть, навязчивого «пережевывания» одних и тех же негативно эмоционально окрашенных мыслей о собственных неудачах и сниженного внимания к внешнему миру. Пока неизвестно является ли это доминирование признаком полномасштабного БДР, или оно появляется уже на доклинических стадиях. Кроме того, все опубликованные данные получены с помощью фМРТ, которая позволяет локализовать метаболические процессы в мозгу, но связь этих процессов с нейронной активностью пока не вполне понятна. В нашем исследовании предпринята попытка выявления ФСМ на основе ЭЭГ данных с помощью набора методов, включающих фильтрацию в традиционных частотных диапазонах ЭЭГ, локализацию источников методом формирования пучка (beamformer), коррекцию «утечки сигнала», преобразование Гилберта с расчетом «гибающей» и создание карт «коннективности» путем расчета корреляций между временным ходом активности «семени» и всеми остальными вокселями мозга. Применение этих методов позволило выявить на основе ЭЭГ данных ДСМ и ФПСВ близких по топографии к соответствующим сетям, выявляемым в фМРТ исследованиях. В неклинической выборке депрессивная симптоматика, измеренная с помощью BDI-II, была связана с доминированием ДСМ над ФПСВ в правой островковой коре и височной доле, хорошо известных центрах эмоциональной регуляции. Этот эффект был обнаружен в дельта диапазоне, связь которого с мотивационными процессами хорошо известна. Таким образом, можно заключить, что даже на доклинической стадии «эмоциональные» области мозга у предрасположенных к депрессии индивидов сильнее связаны с ДСМ, чем с ФПСВ и, следовательно, должны легче вовлекаться в процессы «руминации», чем отвечать на сигналы внешнего мира. *Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда (РНФ), грант №14-15-00202.*

#### **ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ НА ТОПОГРАФИЮ ЛОКОМОТОРНЫХ ПРОЕКЦИЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА. ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА «ТРАКТОГРАФИЯ»**

**И.Б. Козловская<sup>1</sup>, И.Н. Носикова<sup>1</sup>, И.В. Рукавишников<sup>1</sup>, А.Д. Румяшова<sup>2</sup>, Л.Д. Литвинова<sup>2</sup>, Е.В. Печенкова<sup>2</sup>, Е.А. Мершина<sup>2</sup>, В.Е. Сеницын<sup>2</sup>, А. Ван Омберген<sup>3</sup>, Ф. Уайтс<sup>3</sup>, Е.С. Томиловская<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, <sup>2</sup>Лечебно-реабилитационный центр МЗ РА; <sup>3</sup>Университет г. Антверпен, Бельгия*

Известно, что невесомость глубоко нарушает сенсорное обеспечение систем двигательного управления, изменяя и искажая активность основных афферентных входов – опорного, проприоцептивного и вестибулярного. Сохранность способности космонавтов в этих условиях к выполнению активной деятельности и сложных операторских задач обуславливается высокой пластичностью деятельности высших отделов ЦНС – коры головного мозга. Однако до последних лет исследования механизмов пластичности и закономерностей вызываемых невесомостью преобразований в деятельности мозга не проводилось в связи с отсутствием необходимых для этого надежных и информативных средств и методов. В настоящее время в связи с развитием новых высокотехнологичных методов – МРТ, ТМС, навигационная ТМС – такие исследования стали возможны. В связи эти сотрудниками ГНЦ РФ – ИМБП РАН совместно с «Лечебно-реабилитационным центром» Минздрава России и университетом г. Антверпен (Бельгия) были начаты исследования функциональных преобразований в коре головного мозга космонавтов, обуславливаемых длительным пребыванием в невесомости.

В качестве объекта исследования использовался феномен активации, регистрируемый в определенных зонах коры головного мозга – SM1 в первичной сенсомоторной коре, PMC – в сенсорной коре, IPL в обоих полушариях и DLPFC в левом полушарии головного мозга – при механостимуляции опорных зон стоп в режиме 75 и 125 шаг/мин с давлением на опорные зоны 40 кПа, близких таковым при воображаемой ходьбе (Черникова Л.А. и соавт., 2013). Механическую стимуляцию опорных зон стоп в режиме естественных локомоций (75 шаг/мин) осуществляли с помощью прибора «Корвит» (ООО «ВИТ», Санкт-Петербург). Исследования проводили за 60-90 суток до начала космического полета (КП), а затем на 7-8-е сутки и через 180-200 дней после его завершения. Одновременно проводили контрольный эксперимент с участием группы здоровых добровольцев в те же сроки с использованием того же протокола. К настоящему времени в эксперименте приняло участие 8 космонавтов: двое из них полностью завершили экспериментальную программу, двое – участвовали только в послеполетных сессиях (для них будут организованы отставленные фоновые исследования), четверо – выполнили только предполетную часть программы. В контрольной группе зоны активации при стимуляции опорных зон стоп в локомоторном режиме не изменялись существенно при повторных сканированиях через вышеуказанные временные интервалы. В группе космонавтов после завершения КП, выявлялись отчетливые изменения паттерна активации коры головного мозга, исчезавшие в сканерах через 180-200 суток. У одного космонавта зоны активации, выраженные отчетливо до КП, после полета не выявлялись совсем, у другого – были существенно снижены.

Полученные данные позволяют предположить, что стереотипные проекции ответов на локомоторные раздражения в длительных КП утрачивают четкость в связи с вовлечением в активность более широких отделов при локомоторном переобучении. *Исследование поддержано грантом РНФ №14-25-00167.*

#### **О РОЛИ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТУДЕНТОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

**В.П. Дегтярев** *Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия*

Универсальным системообразующим фактором, который определяет совместно с индивидуально-типологическими характеристиками человека способы и возможности достижения полезного результата, является успешность целенаправленной де-

тельности (ЦД). Ее реализация в условиях психоэмоционального напряжения, представляет собой сложный психофизиологический процесс, формирующийся при активном участии автономной нервной системы (АНС), действие которой опосредуется и модифицируется индивидуально-типологическими факторами [1,2]. Успешность ЦД, следовательно, является итогом взаимодействия психических и физиологических процессов, обеспечивающих стратегии поведения при ее реализации. Представляет большой интерес проблема взаимодействия психических, когнитивных процессов и механизмов поддержания гомеостаза, сопрягающих особенности организации психической деятельности с процессами адаптивной перестройки висцеральных функций. Выявление механизмов этих взаимодействий важно для разработки методов коррекции неблагоприятных состояний. Индивидуально – типологические особенности 786 студентов I курса изучали по итогам использования тестов Спилберга–Ханина, Айзенка, Кеттела, мотиваций достижения Мехрабиана, Леонгарда–Шмишека. Результаты тестирования сопоставляли с показателями успешности обучения, вариационной структуры сердечного ритма, системной гемодинамики. Анализировали статистическую взаимосвязь и взаимовлияние 55 различных факторов с помощью модулей пакетов программ EXCEL и STATISTIKA. Применение кластерного, факторного и корреляционного методов анализа показало, что зависимость успешности учебной деятельности студентов от их личностных свойств имела сложный характер, связанный с качеством доминирующей мотивации, влияние которой модулировалось половой принадлежностью и личностными характеристиками. В модельных исследованиях показана взаимосвязь акцентуаций личностных свойств с результативностью деятельности и ее вегетативным обеспечением. Результаты собственных исследований и литературные данные позволяют предположить, что структуры головного мозга, осуществляющие психические функции, адаптируют работу системы кровообращения к текущим условиям деятельности посредством взаимодействия с гипоталамическими и стволовыми отделами АНС.

### **СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОСТОЙ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЙ РЕАКЦИИ У СТУДЕНТОВ-ЮНОШЕЙ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА**

**И.И. Макарова, А.В. Аксёнова, Ю.П. Игнатова, О.Ю. Зенина, К.Б. Маркова, К.А. Страхов, С.А. Журина**  
*Тверской государственный медицинский университет Минздрава России, Тверь, Россия*

Сезонные биоритмы показателей физиологических и психических функций организма выполняют функцию хроноадаптации. Циркануанные колебания отражаются не только на физической и умственной работоспособности, но и на состоянии здоровья, внимательности, умении сосредоточиться. Результативность обучения студентов находится в прямой зависимости от функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС), функциональная активность которой подвержена сезонным изменениям. Для более полного анализа сезонных изменений функционального состояния ЦНС у студентов-медиков представляет интерес изучение параметров простой зрительно-моторной реакции (ПЗМР) как интегрального показателя функционального состояния ЦНС.

Цель исследования: изучение особенностей сезонных колебаний показателей ПЗМР у студентов-юношей 2 курса медицинского вуза. В обследовании принимали участие 89 практически здоровых юношей Тверского государственного медицинского университета в возрасте 18-20 лет, которые дали добровольное согласие на участие в обследовании и не принимали психотропные препараты в течение 6 последних месяцев и во время его проведения. Обследование проводили во вторых декадах ноября и мая 2014 и 2015 г.г. соответственно. Психофизиологическое обследование ПЗМР было выполнено с помощью портативного аппарата «Психофизиолог» («Медиком МТД»), Россия, г. Таганрог) и заключалось в аperiodичном предъявлении обследуемым лицам световых стимулов зеленого цвета, на которые надо было реагировать нажатием кнопки правой или левой рукой. В группе обследуемых были определены средние значения показателей ПЗМР (M±m): интегрального показателя надежности (ИПН), времени и стабильности реакции, общего количества ошибок и уровня активации ЦНС. При изучении сезонной динамики показателей ПЗМР весной были выявлены более высокие и значимые значения ИПН и уровня активации ЦНС. Средние значения ИПН (%) весной и осенью соответствовали 77,19±4,65 и 66,11±5,51 (p=0,02), а уровня активации ЦНС (ед.) – 2,70±0,22 и 1,96±0,25 (p=0,01).

Результаты исследования дают основание полагать, что ИПН и уровень активации ЦНС определяются особенностями сезонного функционирования ЦНС и влияют на скорость и качество переработки информации.

### **КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ (ПО ДАННЫМ ПОЗИТРОННО-ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ)**

**Ю.Г. Хоменко, Г.В. Катаева, Д.С. Сусин, Ю.А. Иришина, И.Г. Заволоков**  
*Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, при котором наблюдаются как двигательные, так и когнитивные нарушения. В связи с развитием методов нейровизуализации появляются новые возможности для диагностики и прогнозирования течения БП. Сопоставление показателей когнитивных тестов и церебрального метаболизма глюкозы может способствовать выявлению механизмов когнитивных нарушений при БП. Цель исследования – изучение взаимосвязи между начальными признаками когнитивного снижения и скоростью метаболизма глюкозы (СМГ) у больных БП. Обследовано 27 пациентов с БП (11 муж., 16 жен., 41–77 лет) с начальными когнитивными нарушениями и без таковых. Когнитивный статус оценивался с помощью MMSE, батареи лобных тестов (БЛТ), теста «часы». Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) выполнялась на томографах Scanditronix-PC2048. Радиофармпрепарат 18F-фтордезоксиглюкозу (ФДГ) вводили внутривенно в дозе 4–5 mCi, сканирование длительностью 20 мин начиналось через 30–40 мин. ПЭТ-изображения приводились к стандартному координатному пространству атласа Талайрака с помощью SPM-8, при помощи программы WFU PicAtlas вычислялись средние значения накопленной активности в областях интереса, соответствующих полям Бродмана (ПБ) и подкорковым структурам. Референтной зоной служила островковая кора. Для статистического анализа использовались методы непараметрической статистики (критерий Манна–Уитни и коэффициент корреляции Спирмена). В подгруппе с когнитивными нарушениями наблюдалось снижение СМГ в ПБ 7, 8, 24, 40 (p<0,01). Согласно корреляционному анализу, показатели БЛТ положительно коррелировали с СМГ в ПБ 7, 9, 24, 39-40, 46 билатерально, ПБ 8 в левом полушарии и хвостатом ядре в правом полушарии (r=0,6–0,7; p<0,001). Достоверных корреляций с другими тестами не выявлено. Таким образом, с когнитивной дисфункцией был ассоциирован гипометаболизм в ряде областей в лобной, теменной и поясной коре, который обнаруживался



уже на ранней стадии когнитивного снижения. Показатели БЛТ коррелировали с СМГ не только в лобной коре, но и в других областях. При этом не было корреляций с другими тестами, что может говорить о большей чувствительности БЛТ к ранним когнитивным нарушениям при БП. *Работа выполнялась в рамках гос. задания ИМЧ РАН по поисковым исследованиям на 2015–2016 гг.*

**СПЕЦИФИКА РЕГУЛЯЦИИ КАРДИОРИТМА У ДЕТЕЙ С РАЗНЫМИ ЛАТЕРАЛЬНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ****Е.И. Николаева, Е.Г. Вергунов, А.В. Добрин***Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН, Новосибирск; Елецкий государственный университет, Елец, Россия*

Прогноз будущего состояния организма на основе тех или иных характеристик ребенка представляется одним из самых значимых направлений психофизиологии. Одним из самых перспективных направлений такого рода является прогнозирование вероятности развития кардиологических заболеваний, стоящих первыми в ряду причин смерти людей в настоящее время. Ранее было показано, что (Nikolaeva et al., 1995) вероятность развития кардиологических заболеваний связана с латеральными признаками: чем больше правых показателей у человека, тем выше вероятность возникновения гипертензии с возрастом и появления симптомов, связанных с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. Было высказана гипотеза о том, что изменения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний обусловлено спецификой реагирования на стресс людей с разными латеральными предпочтениями (Леутин, Николаева, 2005). Возникло предположение, что особенности центральной регуляции вегетативной нервной системы обнаруживаются уже в детском возрасте. Были обследованы 150 школьников, 86 мальчиков (средний возраст  $7,27 \pm 0,45$  лет) и 64 девочки (средний возраст  $7,19 \pm 0,39$ ). У каждого испытуемого была произведена оценка типа профиля функциональной сенсомоторной асимметрии с использованием набора проб, а также произведена запись вариабельности кардиоритма в трех ситуациях: в состоянии спокойного бодрствования (фон), в процессе припоминания ребенком приятных и неприятных событий (поощрение и наказание в семье). Оценка активности отделов автономной нервной системы производилась с помощью программного обеспечения Nerve-Express (Rifine, 2014). Полученные данные свидетельствовали о том, что уже у 7–8-летних детей с разными латеральными предпочтениями обнаруживается различная центральная регуляция кардиоритма. При эмоциональной нагрузке у детей с полным правым профилем активируется только симпатическое звено, тогда как у детей с левым профилем увеличивается активность и симпатического и парасимпатического звеньев автономной нервной системы. Следовательно, у детей с левым профилем более эффективно и расходуются, и восстанавливаются резервы организма, и отмечается более гибкая центральная регуляция сердечно-сосудистой системы в эмоциональных ситуациях. *Выполнено при поддержке гранта РГНФ, проект 14–06–00195.*

**СПЕЦИФИКА КАРДИОИНТЕРВАЛОВ ПЕРВОКЛАСНИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДОВ ВОСПИТАНИЯ В СЕМЬЕ****С.А. Буркова** *Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Изучение психофизиологических характеристик детей и сопоставление их с ситуацией развития – актуальная проблема современной психологии. Данное исследование посвящено описанию специфики кардиоинтервалов первоклассников (119 детей из ряда школ города Санкт-Петербурга) с различной самооценкой при припоминании поощрения и наказания в семье. Эксперимент проводился с использованием ряда методик: кардиография с помощью программно-аппаратного комплекса «Омега-М», вопросник осознанности использования системы поощрения и наказания в семье, методики изучения самооценки Дембо-Рубинштейн и «Лесенка». В ходе анализа результатов проведенного исследования было показано, что у детей изучаемого возраста преобладает высокая самооценка. Также было обнаружено, практически 40% детей испытывают чувства, свидетельствующие о неэффективности применяемого к ним метода наказания, и 24% детей испытывают чувства, свидетельствующие о нарушении всей системы наказания и поощрения в семье. При сопоставлении данных по самооценке и по методам воспитания, используемым в семье, было выявлено, что самооценка, зависит в большей мере от методов наказания в семье: дети, которых наказывают, используя крик, имеют самую низкую самооценку; дети, сообщающие о физическом наказании об изолировании или о том, что на них обижаются родители, чаще имеют высокую самооценку. Ни один из параметров поощрения не оказал достоверного влияния на самооценку. Результаты эксперимента показывают, что только система поощрения влияет на характеристики кардиоинтервалов. Если при припоминании и вербальном воспроизведении ситуации поощрения в семье ребенок говорит о тaktильном контакте, у него более вероятны снижение вариабельности кардиоинтервалов при припоминании наказания и повышение вариабельности при припоминании поощрения. Если ребенок утверждает, что его не хвалят, отмечается обратная направленность изменений вариабельности кардиоинтервалов при поощрении и наказании. Также по результатам исследования отмечено, что высокий и низкий уровни самооценки встречаются у детей, у которых выражены парасимпатические реакции при припоминании наказания (реакция страха). При этом средний уровень самооценки чаще встречается у детей, у которых увеличивается вариационный размах кардиоинтервалов относительно фона при припоминании и вербальном воспроизведении ситуаций поощрения и уменьшается вариационный размах при припоминании вербальном воспроизведении ситуаций наказания. Таким образом, мы можем говорить, что психофизиологические особенности ребенка могут определяться ситуацией его развития.

**УРОВЕНЬ ЗДОРОВЬЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА****А.А. Баркар<sup>1</sup>, Л.Д. Маркина<sup>1</sup>, В.В. Маркин<sup>2</sup>***<sup>1</sup>Тихоокеанский государственный медицинский университет, <sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия*

Центральная нервная система является главным звеном в цепи формирования общих неспецифических адаптационных реакций (Коробейникова Е. П., 1983), каждой из которых соответствует свой уровень функциональной активности организма. От функционального состояния головного мозга зависит оптимальное функционирование гомеостатических систем и организма в целом, его здоровье. Цель исследования – проанализировать уровень здоровья (УЗ) с помощью метода «Когнитивные вызванные потенциалы» (патент РФ № 2521345). Обследовано 260 лиц обоего пола в возрасте 20–40 лет. Функциональное состояние коры большого мозга оценивали с помощью нового способа (патент РФ № 2521345) при регистрации когнитивных

вызванных потенциалов. Результаты обследования анализировали по таблице «Показатели функционального состояния головного мозга в зависимости от уровня здоровья», оцениваемого по типу адаптационной реакции и уровню реактивности организма (патент РФ № 2521345). Выявлена взаимосвязь между УЗ и диагностическими критериями когнитивных вызванных потенциалов: при ухудшении УЗ снижаются межполушарная амплитуда P300 и межполушарная латентность когнитивного комплекса (ухудшается запоминание), увеличивается межполушарная латентность комплекса восприятия (замедляется восприятие информации). При I УЗ средняя межполушарная амплитуда P300 составляет 10,29 мкВ, а к IV УЗ снижается до 2,69 мкВ. Также снижается межполушарная латентность когнитивного комплекса от 204,17 мс при I УЗ до 131,0 мс при IV УЗ. Межполушарная латентность комплекса восприятия возрастает от 90,8 мс при I УЗ к 329,25 мс при IV. Ухудшение УЗ (от I к IV) сопровождается снижением показателей вызванной активности (межполушарной латентности когнитивного комплекса) с повышением показателей межполушарной латентности комплекса восприятия. Новый способ диагностики функционального состояния головного мозга с использованием метода «Когнитивные вызванные потенциалы» даёт достоверную картину при диагностике уровня здоровья.

### **СВЯЗЬ УРОВНЯ ИНТЕЛЛЕКТА СО СПЕКТРАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЭЭГ**

**И.Ю. Мышкин, Е.П. Станкова** *Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

В последнее время актуальным стал вопрос объективной оценки когнитивных способностей и, в частности, интеллекта (IQ). Перспективным направлением для оценки биологического, согласно терминологии Г.Ю. Айзенка, интеллекта является регистрация биоэлектрических показателей деятельности мозга в виде электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Целью настоящего исследования явилось изучение взаимоотношений между индивидуальными спектральными характеристиками фоновой электроэнцефалограммы и эффективность когнитивной деятельности, оцениваемой по тесту «Домино». Спектральный анализ показал, что мощность и амплитуда альфа-ритма в сенсорных и теменных ассоциативных областях была значимо положительно связана с уровнем интеллекта. Уровень интеллекта был связан с мощностью альфа-ритма ЭЭГ в затылочных (O1, O2), теменных (P3, P4), центральных (C3, C4), височных (T3, T4) и левом задневисочном (T5) отведениях. Коэффициент корреляции Спирмена составил от +0,26 до +0,36. Уровень интеллекта был связан с амплитудой альфа-ритма в левых затылочном, теменном, задневисочном (O1, P3, T5) и в правом теменном (P4) отведениях. Коэффициент корреляции составил от +0,25 до +0,33. Аналогичные результаты были получены для низкочастотного бета-ритма. Его мощность была положительно связана с коэффициентом интеллекта в затылочных (O1, O2), теменных (P3, P4), центральных (C3, C4), левом лобном (F3) и левом задневисочном (T5) отведениях. Амплитуда низкочастотного бета-ритма была связана с IQ в этих же отведениях. Коэффициенты корреляции варьировались от +0,25 до +0,37. Альфа-ритм является ритмом «холодного хода», позволяющим нейронным сетям находиться в оптимальном состоянии для восприятия информации, подготовиться к деятельности. Чем выше способность нейронных сетей в состоянии покоя к самонастройке и подстройке частоты друг под друга, тем более охлажденными являются механизмы восходящего и нисходящего контроля в нервной системе. Вероятно, чем больше нейронных модулей согласуют свою работу в состоянии покоя, что и проявляется в увеличении мощности альфа и бета-ритмов, тем выше адаптационные возможности нейронных популяций.

### **ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЕРБАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ РАЗЛИЧНОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ ЗНАЧИМОСТИ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЧЕЛОВЕКА**

**О.И. Черкашина, А.Г. Патюков** *Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия*

Любая деятельность человека в современном мире связана с умственными и физическими нагрузками. Люди попадают в ситуации, заставляющие их переживать, сомневаться. Эти психоэмоциональные нагрузки способны в разной степени влиять на психофизиологическое состояние человека, что сопровождается как изменением состояния умственных функций, так и изменением энергетических возможностей организма. Слово является одним из сильнейших стимулов, влияющих на эмоции человека, а через него и на физикальный статус. Поэтому представляет интерес изучение особенностей умственной деятельности и состояния вегетативных функций человека в различных эмоционально значимых ситуациях, спровоцированных влиянием вербальных раздражителей различной эмоциональной окраски. В исследовании добровольно приняли участие 30 респондентов в возрасте от 18 до 20 лет. Изучалась функция внимания (корректирующая проба) в состоянии покоя и после прочтения текстов отрицательной и положительной эмоциональной значимости. Физикальное обследование проводилось с помощью традиционных методик. Результаты исследования показали разнообразное влияние отрицательных и положительных вербальных стимулов на психофизиологическое состояние человека. Отрицательные эмоционально окрашенные словесные стимулы способствовали повышению показателя точности внимания, что может быть связано с активацией деятельности фронтальной коры и ее височных областей. Тенденция к подъему систолического и диастолического артериального давления на фоне прочтения позитивного текста, изменение частоты пульса в сторону повышения значений, учащение частоты дыхания на фоне прослушивания как негативных, так и позитивных текстов, объясняется активацией симпатического отдела вегетативной нервной системы в данной ситуации. Это способствует мобилизации энергетических ресурсов организма. Полученные результаты необходимо учитывать при выполнении человеком любого вида деятельности с целью прогнозирования психофизиологического ответа организма на различные эмоциональнозначимые ситуации, а также для профилактики стрессовых состояний.

### **ОСОБЕННОСТИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА СТУДЕНТОК-ПЕРВОКУРСНИЦ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА**

**А.Ю. Горькая, О.Н. Сидорова, И.А. Кузнецова**

*Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия*

Адаптация к учебной нагрузке и условиям 1-го года обучения, по мнению многих авторов, требует более значительного психоэмоционального напряжения у девушек, чем у юношей. Цель исследования – выявление особенностей психоэмоционального статуса студенток 1-го курса медицинского вуза (36 добровольцев). Определяли уровень нейротизма и интро-экстраверсии по Айзенку, акцентуации характера по Леонгарду, тревожность по Спилбергу, риск коронарного поведения по Дженкинсу. При анализе интро-экстравертных отношений было установлено, что равновесное их состояние наблюдается у

73% студенток, частота случаев выраженной интроверсии и экстраверсии равнялась 16% и 11%, соответственно. В большинстве случаев уровень нейротизма определялся как умеренный (72%), число лиц с высокими и низкими значениями этого показателя составляло 22% и 6%, соответственно. По результатам теста Леонгарда доля девушек, у которых диагностируется высокий уровень гипертимности, составляет две трети от общего числа обследованных, то есть большинство современных студенток коммуникабельны, предприимчивы и ориентированы на достижение успеха. По данным теста Спилберга, основная часть девушек характеризуется умеренным уровнем личностной тревожности: высокий – 17%, умеренный – 72%, низкий – 11%. В отличие от этого, наибольшие значения частоты ситуативной (реактивной) тревожности приходится на высокий (44%) и умеренный (39%) уровни. При проведении теста Дженкинса тип В, соответствующий низкому уровню коронарного поведения, не был обнаружен ни у одной студентки. Группа АВ (умеренный риск коронарного поведения) составляла 1/3, а группа А (высокий риск коронарного поведения) 2/3 случаев. Формируемая у первокурсниц «деловая» модель поведения вполне соответствует реалиям студенческой жизни, однако существуют сомнения, насколько она адекватна их адаптационным способностям: высокий уровень реактивной тревожности может оказывать отрицательное влияние на психическое благополучие, умственную и физическую работоспособность студенток, а высокий риск коронарного поведения представлять потенциальную опасность для здоровья.

### **УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ У СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ СТИЛЕМ САМОРЕГУЛЯЦИИ**

**О.Н. Сидорова, А.Ю. Горькавая, Т.Н. Климкина, Р.И. Погорелов, К.А. Курочкина**

*Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия*

На здоровье молодого поколения влияет много факторов, в том числе психофизиологические характеристики, к которым относится стиль саморегуляции. Индивидуальный стиль саморегуляции является результатом взаимодействия механизмов экстра-интроверсии и вегетативного статуса. Цель исследования – оценить влияние стиля саморегуляции на уровень физического состояния студентов по интегральному показателю, в который включены антропометрические данные и состояние сердечно-сосудистой системы. Обследовано 50 студентов медицинского университета в возрасте 18-20 лет. Уровень экстраверсии выявляли тестом Айзенка, вегетативный статус по индексу Кёрде. Уровень физического состояния большинства студентов оценивался как средний (33,3 %), выше среднего (45,8 %) и высокий (12,8 %). Студентов с уровнем физического состояния ниже среднего – 8,3 %, студентов с низким уровнем физического состояния не выявлено. У 28 % обследованных студентов обнаружен гармоничный стиль саморегуляции – это экстраверты с высокой энергетикой. Большинство же студентов (38 %) относились к амбивертам по уровню экстраверсии и нормотоникам по вегетативному статусу, что позволило определить их как промежуточный тип. Меньше всего студентов с экономным стилем саморегуляции (интроверты с низкой энергетикой) – 8,6 %. Наиболее высокие показатели физического состояния выявлены у промежуточного и гармоничного типов, низкие показатели – у накопительного стиля саморегуляции, который обнаружен у 15 % обследованных студентов. Представители экономного стиля показали средний уровень физического состояния. Небольшое количество студентов с затратным стилем (10,4 %) – экстраверты с тропотропным реагированием – демонстрировали достаточно высокий уровень физического состояния. Знание индивидуального стиля саморегуляции позволяет прогнозировать физическое состояние студентов в различных ситуациях и осуществлять регуляцию психофизиологического состояния на основе индивидуально-ориентированных систем обучения методам саморегуляции.

### **РОЛЬ МЕЖСЕНСОРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ЭФФЕКТАХ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ СЕНСОМОТОРНЫХ СТЕРЕОТИПОВ**

**Е.К. Айдаркин** *Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия*

Важным элементом поведения человека являются упорядоченные последовательности сенсомоторных реакций, интегрируемые в устойчивые стереотипы с помощью последовательных эффектов, в основе которых лежат механизмы ожидания. Для исследования роли межсенсорного взаимодействия в последовательных эффектах регистрировали время реакции (ВР), связанные с событием потенциалы (ССП), а также сенсорные и моторные латеральные потенциалы готовности в условиях равновероятной бимодальной реакции выбора (чередование всплеск и щелчков, межстимульного интервала (МСИ) 4 с, девиация 20%, каждому из 26 испытуемых предъявлялась одна серия из 1600 стимулов без перерывов). Наряду с привыканием, девиацией МСИ, вариацией локальной вероятности особое внимание уделено исследованию такого последовательного эффекта, как моно – и гетеромодальное взаимодействие чередующихся в последовательности стимулов. С этой целью оценивалась зависимость регистрируемых параметров от роста количества предшествующих в последовательности стимулов (от 1 до 4) той или иной модальности. Результаты показали, что при увеличении количества предшествующих мономодальных стимулов в условиях доминирования сенсорного решения ( $250 < \text{ВР} < 550$  мс) на текущий слуховой стимул наблюдалось уменьшение ВР и РЗ<sub>a</sub>, а на текущий зрительный – уменьшение ВР и позитивизация фрагмента N1-N2. При увеличении количества предшествующих стимулов альтернативной модальности на текущий слуховой стимул отсутствовали изменения ВР и наблюдалась позитивизация комплекса N2-P3, а на текущий зрительный – увеличение ВР, С1 и Р3. Доминирование моторного решения ( $\text{ВР} < 250$  мс) было связано с усилением всех компонентов СПП. При этом на текущий зрительный стимул в моно – и гетеромодальных ситуациях наблюдались изменения, сходные с таковыми при сенсорном доминировании. В условиях мономодальной ситуации на текущий слуховой стимул наблюдалось ослабление процессной негативности (PN) и РЗ, а в гетеромодальных условиях – рост PN. Выявлены механизмы межсенсорного взаимодействия на претентивном и аттентивном уровне, обсуждается их роль в формировании последовательных эффектов.

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОДНОМОДАЛЬНОЙ И КРОССМОДАЛЬНОЙ СЕНСОРНОЙ МАСКИРОВКИ**

**М.А. Павловская**

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия*

Для изучения механизмов лабильности внимания к отдельным стимулам в паттерне использовалась сенсорная (прямая, обратная) маскировка. Регистрация ЭЭГ и времени реакции осуществлялись с помощью энцефалографа «Энцефалан-131-03» (Таганрог, Россия). ЭЭГ записывалась в 21 стандартном отведении с полосой пропускания 0,5-70 Гц. Обработка проводится в

среде MATLAB. В качестве целевых слуховых стимулов использовались тоны частотой 1,0 и 1,2 кГц, интенсивностью 80 дБ, длительностью 30 мс или 1-2 вспышки, длительностью 2 мс, яркостью 9 кД. Вероятность целевых стимулов составляла 0,85; 0,5 и 0,15. Маскерами были 30 мс тон частотой 1,1 кГц, 90 дБ или 5 мс вспышка, яркостью 9 кД. Межмаскировочные интервалы (ММИ) составляли 500, 300, 200, 100 и 50 мс. Протестировано 115 человек без видимых патологий органов зрения и слуха. Показано, что латентный период различения одномодальных и кроссмодальных целевых стимулов в условиях маскировки зависит от вероятности их предъявления и ММИ. Следовательно, механизм одномодальной маскировки связан с рефрактерностью исследуемого сенсорного канала, а в условиях кроссмодальной маскировки – механизмами коактивационной параллельной обработки. Фильтрация ритмов ССП в условиях одно – и кроссмодальной прямой и обратной маскировок, показала, что независимо от модальности и порядка следования целевого стимула и маскера: 1) восприятие маскера связано с десинхронизацией дельта-ритма и доминированием тета-ритма ССП, что, возможно, связано с его игнорированием; 2) дифференцировка целевых стимулов связана с повышением дельта-ритма и снижением тета-ритма, что может быть связано с формированием направленного \ селективного внимания к ним; 3) альфа-ритм (лобный и теменно-затылочный фокусы), возможно, организует межмодальную сенсомоторную интеграцию посредством направления внимания на воспринимаемый стимул. Однако взаимодействие дельта – и тета-ритмов, по литературным данным, проявляется в фазово-амплитудной координации ритмов (Buzsaki, 2012; Lakatos et al., 2007), что позволяет обрабатывать и передавать информацию по иерархии частотного диапазона (Calderone et al., 2014; Harmony, 2013). Следовательно, ритмические колебания в мозге, создавая гибкую динамичную систему, работают по принципу суперпозиции / синергичности или мультиплексирования.

### **ПРИСПОСОБЛЕНИЯ AIRES SHIELD НЕЙТРАЛИЗУЮТ ИНФОРМАЦИОННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ МОБИЛЬНОГО ТЕЛЕФОНА НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА**

**В.Н. Сысоев, И.Н. Серов, А.В. Чебыкина, М.А. Душкина, Н.С. Кривцова**

*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Опасность информационного воздействия мобильных телефонов (МТ) стандарта GSM-900 заключается в генерации ими при работе определенного спектра частот (217 Гц, 8,35 Гц, 2 Гц.), которые в результате резонансного взаимодействия с ритмами головного мозга могут нарушать его функцию. В качестве варианта защиты возможно использование приспособлений Aires Shield (AS), представляющих собой пространственно-волновой фильтр Фурье. В результате взаимодействия электромагнитного поля (ЭМП) с AS происходит его структурное преобразование, что может погасить влияние резонансных для головного мозга частот. Цель работы – оценить эффективность использования AS для снижения негативного влияния ЭМП, возникающего при работе МТ, на биоэлектрическую активность головного мозга. Участвовало 18 здоровых мужчин в возрасте от 18 до 22 лет. Каждый испытуемый принимал участие в двух исследованиях – фоновом (использование МТ без AS) и в основном (использование МТ с применением AS). Процедура регистрации продолжалась непрерывно около 40 минут и включала запись ЭЭГ: в покое; при расположении МТ около уха в режиме ожидания вызова; в режиме вызова; в режиме общения и после выключения телефона. Использовали мобильный телефон стандарта GSM-900. Анализ сравнительной динамики относительной мощности ритмов биоэлектрической активности головного мозга при использовании МТ без AS и с его применением позволил определить статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия в ее характеристиках. Определено, что увеличение относительной мощности дельта (на 24%) и альфа (на 17%) – ритмов ЭЭГ, выявляемые при использовании МТ на стороне его воздействия без применения AS, практически отсутствуют в случае его использования. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что применение приспособления Aires Shield при работе мобильных телефонов стандарта GSM – 900 препятствует взаимодействию электромагнитного излучения с собственной биоэлектрической активностью головного мозга на частотах альфа и дельта-ритмов, что может быть расценено как защитный эффект.

### **ОСОБЕННОСТИ ОТРАЖЕНИЯ СЛУХОВОГО И ЗРИТЕЛЬНОГО ВОСПРИЯТИЯ В СТРУКТУРЕ ЭЭГ-ПАТТЕРНА У СТУДЕНТОВ**

**В.В. Турчина, О.А. Залата** *Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия*

Целью настоящей работы явилось установить особенности в отражении слухового и зрительного восприятия в структуре ЭЭГ-паттерна студентов. Выполнили регистрацию ЭЭГ у 56 студентов 18-20 лет, обучающихся в Медакадемии г.Симферополя. ЭЭГ-активность отводили монополярно от 16 локусов, согласно международной системе «10–20». В 1-й группе студентов ( $n=27$ ) в течение 60 с записывали фоновую ЭЭГ (глаза закрыты/открыты), в качестве специальной сенсорной нагрузки давали прослушивать музыку разных стилей через наушники. Во 2-й группе студентов ( $n=29$ ) после предъявления стандартных проб в качестве сенсорной нагрузки предлагали просмотр 2-х беззвучных видеороликов: индифферентного и значимого с кадрами жестокости и насилия. Для анализа использовали  $M \pm SD$ , критерий Стьюдента ( $t$ ), программа Statistica. Межгрупповое сравнение показало, что в пробе «глаза закрыты» соотношение долей ритмов ЭЭГ существенно не отличались, но при пробе «глаза открыты» обнаружили разницу в соотношении доли дельта – ( $p=0,000$ ) и альфа-ритма ( $p=0,01$ ) у студентов 2-й группы по сравнению с 1-й. Наиболее существенным для ЭЭГ-активности мозга испытуемых оказалось прослушивание клубной и поп-композиций: увеличение в общей картине спектральной мощности ЭЭГ-активности доли тета-ритма ( $p=0,05$ ), что может свидетельствовать об эмоциональном реагировании субъектов. У студентов 2-й группы просмотр индифферентного видеофрагмента вызвал увеличение доли медленно-волновых ритмических ЭЭГ-диапазонов ( $p \leq 0,0001$ ) и снижение доли альфа-ритма ( $p \leq 0,0001$ ), то есть подобие реакции десинхронизации. Более выраженной и существенной по количеству отреагировавших ритмических диапазонов была реакция на просмотр значимого видео. К изменениям в медленно-волновой части ЭЭГ-паттерна ( $0,01 < p < 0,000$ ) добавилось увеличение доли бета-2-ритма ( $p=0,002$ ), что указывало не только на усиление эмоционального фона, но и внутренней психической активности. Таким образом, более сложные слуховые и зрительные стимуляции обнаруживают не только реакции подобные десинхронизации, но и дополнительные изменения в структуре ЭЭГ-паттерна, свидетельствующие об отражении эмоционального реагирования и внутренней психической активности индивидов.

**АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ СЕНСОМОТОРНЫХ РЕАКЦИЙ И АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СЕРДЦА****Е.С. Волошин** *Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина*

Проблема адаптации индивидуума в современной среде, которая стремительно меняется, определяет актуальность комплексного анализа специфики психофизиологических процессов и физического развития организма. При этом целесообразно учитывать эффективность сердечной деятельности, которая существенно влияет на диапазон адаптационных возможностей. В работе исследовали показатели скорости зрительно-моторной реакции, корректурной пробы и ряда антропометрических параметров у лиц с разной физической работоспособностью сердца с помощью диагностической компьютерной программы «Физиолог» и метода антропометрических индексов. Установлено, что показатель весо-ростового индекса у лиц с высокой работоспособностью сердца по индексу Руфье (первая группа) соответствует норме, а у обследованных с удовлетворительным уровнем работоспособности (вторая группа) на  $7,00 \pm 2,80$  г/см превышает границу нормы и на  $17,00 \pm 3,60$  г/см – значение лиц первой группы. Показатель индекса двойного произведения у лиц с удовлетворительным уровнем индекса Руфье на границе нормы и на  $32,90 \pm 1,85$  превышает результат первой группы. Значение жизненного индекса находится в пределах нормы у всех обследованных, однако у лиц с высокой работоспособностью сердца числовое выражение этого индекса на  $2,60 \pm 1,84$  мл/кг превышает результат второй группы. Оценка скорости зрительно-моторной реакции показала отсутствие достоверной разницы между группами при определении времени простой пробы. Однако на дифференцированную пробу представители второй группы потратили на  $0,15 \pm 0,04$  с больше, а количество ошибок на  $0,17 \pm 0,02$  превысило показатель лиц первой группы. Корректурную пробу участники первой группы выполнили на  $4,40 \pm 5,65$  с быстрее (при большем количестве подсчитанных букв), чем лица с удовлетворительной работоспособностью сердца. Это можно объяснить лучшим уровнем концентрации и переключением внимания сравнительно с лицами второй группы: на  $1283,00 \pm 2,30$  и  $2,40 \pm 0,85$  соответственно. Следовательно, лучшие показатели антропометрических параметров характерны лицам с высокой работоспособностью сердца. Подобная тенденция при исследовании сенсомоторных реакций отмечена с возрастанием уровня сложности задания, при этом лица с высоким уровнем индекса Руфье показали более высокую эффективность нервных процессов.

**ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ САМОК КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ****Ю.П. Милютин<sup>1</sup>, А.Д. Щербицкая<sup>2</sup>, К.В. Черноштан<sup>3</sup>***<sup>1</sup>НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта; <sup>2</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; <sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*

Установлена причинно-следственная связь между повышением уровня гомоцистеина (ГЦ) в сыворотке крови и когнитивными нарушениями, прежде всего ухудшением памяти [Nurk E, Refsum H, 2005]. Пренатальное развитие, протекающее в условиях гипергомоцистеинемии (ГГЦ), приводит к повышенной склонности нейронов к гибели, с чем связывают глубокие нарушения когнитивных функций. Целью исследования стало изучение различных видов памяти половозрелых самок крыс при хронической ГГЦ. Эксперимент был выполнен на 6–7 мес. крысах-самках линии Вистар. Группа контрольных животных получала в течение 30 дней воду, а опытным животным, в тот же период, через зонд перорально вводился метионин в концентрации  $0,6$  мг/кг массы животного. После окончания введения метионина в стадии диэструса для тестирования рабочей памяти проводили модифицированный тест распознавание новых объектов (Mello et al., 2008). Для оценки пространственной памяти в течение 10 дней проводили тестирование в двухуровневом 8-лучевом лабиринте (Буреш Я. с соавт., 1991). В результате проведенного теста по распознаванию новых объектов показано, что контрольные крысы больше внимания уделяли исследованию новых объектов, по сравнению с уже известным. У животных после 30-тидневной метиониновой нагрузки наблюдались признаки нарушения кратковременной и долговременной памяти, при этом не отмечено предпочтения обследования новых объектов, они тратили одинаковое время на исследование знакомого и нового объектов во всех предъявлениях. После проведения тестов в 8-лучевом лабиринте было обнаружено, что у животных с метиониновой нагрузкой по сравнению контролем процент правильных посещений кормушек был достоверно снижен в течение всех дней тестирования, что может говорить о нарушении пространственной памяти у таких крыс. Молекулярные механизмы влияния ГГЦ на когнитивные функции не изучены. Однако не вызывает сомнений, что процессы синаптической пластичности в целом, обучение и память в частности, во многом базируются на механизмах, в которых ключевую роль играют NMDA-рецепторы, активация которых ГЦ и его производными сопровождается повышением уровня ионизированного кальция в клетке и усилением генерации АФК, что может служить сигналом к запуску апоптоза. Выражаем благодарность профессору И.А. Журавину в проведении данного исследования.

**РЕАЛИЗАЦИЯ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ: ЭФФЕКТЫ ОКСИТОЦИНА****О.Л. Лопатина, А.А. Шабалова, Ю.А. Панина, Я.В. Горина, Ю.К. Комлева, А.Б. Салмина***Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия*

Регулирование эмоционального состояния и социального поведения в соответствующих физиологических и социальных условиях требует жесткого контроля секреции нейропептидов. Гормон окситоцин состоит из девяти аминокислот, синтезируется в супраоптических и паравентрикулярных ядрах гипоталамуса и транспортируется в заднюю долю гипофиза (нейрогипофиз), где накапливается и выделяется в центральную нервную систему, а затем в кровь. Окситоцин участвует в различных типах реализации социальных взаимодействий млекопитающих обоих полов, включая как грызунов так и человека. В то время как секреция окситоцина через гипофиз хорошо изучена, механизмы, лежащие в основе центральной секреции окситоцина, далеки от полного понимания. Молекулярные механизмы регуляции поведенческих реакций могут быть связаны с CD38/АДФ-рибозилциклазой (бифункциональным рецептором/энзимом), присутствующей во многих тканях организма, катализирующей образование цАДФ-рибозы и NAADP. цАДФ-рибоза и NAADP являются эндогенными регуляторами внутриклеточной мобилизации  $Ca^{2+}$  и высвобождения окситоцина. Изучение роли конкретных внешних факторов при патологии головного мозга играет важное значение в определении молекулярных и клеточных механизмов действия средовых модуляторов. Однако большинство моделей патологий головного мозга воспроизводится на животных, содержащихся в «стандартных условиях». Опыт-

индуцированная пластичность головного мозга и генетическая предрасположенность определяют формирование социального поведения. В работе исследовали изменение когнитивных, социальных показателей, показателей тревожности и реакции на страх у мышей линии CD-1, помещенных в обогащенную среду или содержащихся индивидуально в сравнении с животными, находящимися в обычных условиях содержания. В динамике были оценены изменения поведенческих реакций, уровень окситоцина в плазме крови. Так же были забраны образцы тканей головного мозга (гипоталамус, гипофиз) для оценки уровня окситоцина, АДФ-рибозилциклазной активности и выявлению опыт – и среда-индуцированных изменений структурно-функциональной пластичности головного мозга. Проект поддержан Министерством здравоохранения Российской Федерации.

### **РОЛЬ ПЕПТИДОВ ТИМУСА В ПРОЦЕССАХ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ**

**Н.М. Киселева<sup>1</sup>, А.В. Новоселецкая<sup>2</sup>, А.Н. Иноземцев<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Не смотря на то, что в последнее время стали появляться исследования, указывающие на мнемотропные свойства пептидов тимуса, регуляторным гормонам и пептидам вилочковой железы не нашлось места в современных представлениях о процессах обучения и памяти. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния пептидов тимуса на процессы обучения и памяти в норме и после тимэктомии. Эксперимент выполнен на 360 крысах. Проведено три серии экспериментов на интактных, ложно оперированных и тимэктомированных животных. В течение месяца животным вводили внутривенно: тимозин фракция 5–0,5 мг/кг, тимулин – 0,15 мг/кг, физиологический раствор – 0,5 мл (контроль 1) и 0,5% раствор ZnCl<sub>2</sub> в PBS – 0,5 мл (контроль 2). Использовались методики выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) и пищевого условного рефлекса на комплексный раздражитель (ПУР). Через месяц после тимэктомии у животных контрольных групп не удалось выработать УРАИ. Введения пептидов тимуса тимэктомированным крысам привело к тому, что животные достигли критерия обученности (80% реакций избегания). У интактных и ложнооперированных животных пептиды тимуса улучшали динамику формирования УРАИ в первые пять дней выработки ( $p < 0,05$ ). Через месяц после тимэктомии у животных контрольных групп также не удалось выработать и ПУР, а введение пептидов тимуса позволило выработать рефлекс. В первый день выработки ПУР у интактных и ложнооперированных животных наблюдались различия в количестве положительных реакций между опытными и контрольными группами. Статистически достоверные различия между опытными и контрольными группами наблюдаются в первые четыре дня. Количество положительных реакций становится равнозначным лишь в последний день эксперимента. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что пептиды тимуса выполняют важную роль не только в регуляции иммунных процессов, но совместно с известными структурами центральной нервной системы принимают участие в процессах обучения и памяти. Таким образом, нарушение когнитивных функций, вызванное тимэктомией, может быть восстановлено с помощью некоторых иммуноактивных пептидов тимуса.

### **СИСТЕМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ОРИЕНТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА: АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ**

**М.А. Крылова, И.В. Изъюров, Н.Ю. Герасименко, А.В. Славущая, Е.С. Михайлова**  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Выделение линий базовых (горизонталь и вертикаль) и наклонных ориентаций является одним из первых основных этапов анализа формы объекта и играет важную роль в формировании зрительного поведения человека и животных. В данном исследовании мы изучали динамику вовлечения зрительных и незрительных областей мозга и изменение паттерна функциональных связей между ними в процессе определения ориентаций линий у человека. В эксперименте участвовал 41 испытуемый (20 мужчин). Стимулами являлись решетки линий разных ориентаций (0°, 90°, 45° и 135°). Испытуемых просили определить ориентацию линий в решетке и нажать на соответствующую клавишу выносной клавиатуры. Регистрацию вызванных потенциалов (ВП) проводили на 128-канальном электроэнцефалографе. Моделирование источников осуществляли методом взвешенных минимальных нормальных оценок (wMNE) со стандартной анатомией ICBM152 и моделью головы OpenMEG BEM. По результатам моделирования дипольных источников было выделено два этапа анализа ориентации: ранний (P100 и N150) – соответствующий этапу принятия перцептивного решения и поздний (P300 и N400) – соответствующий принятию когнитивного решения. Для временных интервалов в 200 мс, соответствующих этим сенсорному (0–200 мс) и когнитивному (350–550 мс) этапам анализа, проводился анализ функциональных связей методом бивариантной причинности Грейнджера (Bivariate Granger causality). Мультивариационная авторегрессионная модель представляла собой совокупность временных рядов, отображающий динамику изменения средней плотности тока источников по 68 зонам интереса, соответствующих атласу анатомических структур Dessikan-Killiany. Порядок модели определялся с помощью информационного критерия Акаике (AIC) и был выбран 10. Наши результаты показали временные изменения в распределении связей в мозге. На сенсорном этапе переработки информации выявлены многочисленные связимежду зрительными (затылочными, теменными и височными) областями, а также связи этих областей с фронтальной и префронтальной корой. В период когнитивного этапа число связей между зрительными областями уменьшалось, за исключением связей затылок-висок, которые оказались более устойчивыми. Множественные связи между зрительными и лобными отделами сохранялись. *Работа поддержана грантами РГНФ № 15-36-01349a2 и РФФИ № 14-04-00706A.*

### **ДИПОЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОРГАНИЗАЦИИ ОРИЕНТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА**

**М.А. Крылова, И.В. Изъюров, Н.Ю. Герасименко, А.В. Славущая, Е.С. Михайлова**  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Чувствительность к ориентационным характеристикам окружающего мира – важная особенность зрительной системы человека и животных, однако вопрос о механизмах ориентационной чувствительности зрения человека остается во многом открытым. В данном исследовании мы изучали вовлеченность зрительных и незрительных областей мозга в процесс определения ориентаций линий. В эксперименте участвовал 41 испытуемый (20 мужчин). Стимулами являлись решетки линий разных ориентаций (0°, 90°, 45° и 135°). Испытуемых просили определить ориентацию линий в решетке и нажать на соответствующую

клавишу выносной клавиатуры. Вызванные потенциалы (ВП) регистрировали на 128-канальном электроэнцефалографе. Статистический анализ амплитуд компонентов ВП проводился с использованием дисперсионного анализа ANOVA RM с поправкой Гринхауса–Гейссера. При внутригрупповых *post-hoc* сопоставлениях использовался тест Ньюмена–Кейлса на множественные сравнения; для межгрупповых сравнений – критерий Стьюдента. Моделирование источников проводилось методом взвешенных минимальных нормальных оценок (wMNE) с стандартной анатомией ICBM152 и моделью головы OpenMEEG VEM. Статистический анализ дипольных источников проводился в пакете SPM8 программной среды MATLAB и выполнялся для временных интервалов, соответствующих пиками волн P100 (80–110 мс), N150 (140–160 мс), P300 (300–350 мс) и Late Negativity (LN) (400–600 мс). Наши результаты показали временную динамику топографии активности мозга. Наблюдалось четкое разделение активации на две разные стадии анализа ориентаций: ранняя (P100 и N150) – соответствующий этапу принятия перцептивного решения и поздняя (P300 и LN) – соответствующий принятию когнитивного решения. В сенсорном этапе (до 200 мс) наблюдалась большая вовлеченность зрительных областей и инвертированный эффект промежуточных ориентаций (*oblique effect*), который проявлялся в больших амплитудах ВП и более широкой области активации при ответах на наклонные ориентации, чем на базовые. Во время когнитивного этапа (200–500 мс) наблюдалась большая плотность тока дипольных источников в фронтальных и теменных областях и классический эффект промежуточных ориентаций: более высокие амплитуды ВП и более широкие области активации при ответах на базовые ориентации. *Работа поддержана грантами РГНФ № 15-36-01349a2; РФФИ № 14-04-00706A.*

### **НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА ПРИ ПРЕДЛЕЧЕНИИ**

**Н.А. Рябчикова<sup>1</sup>, Е.В. Дамянович<sup>2</sup>, Б.Х. Базиан<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Научный центр неврологии, Москва, Россия

Саккадические движения глаз и когнитивные процессы тесно взаимосвязаны. Для болезни Паркинсона характерно параллельное ухудшение моторных и когнитивных функций. В связи с этим в настоящем исследовании мы изучали изменения саккадических движений глаз, зарегистрированных по стандартной методике в различных состояниях от спокойного бодрствования с открытыми глазами до выполнения когнитивных заданий нарастающей сложности с использованием компьютерного варианта психологической методики «Прогнозис-2» пациентов с болезнью Паркинсона до начала лечения по сравнению со здоровыми испытуемыми. Оценивались внимание, память и процесс прогнозирования событий. Сравнялось среднее число саккад в 1 сек. Здоровые испытуемые демонстрировали хорошие показатели по всем тестируемым функциям. У них среднее число саккад в 1 сек достоверно увеличивалось при прогнозировании по сравнению со спокойным бодрствованием с открытыми глазами. Кроме того, увеличивалось и количество саккад в единицу времени при усложнении задания. У пациентов были хорошие показатели внимания и плохие показатели памяти и прогностической деятельности. Пациентам требовалось существенно больше времени для выполнения заданий. Число ошибок прогнозирования было в несколько раз выше показателя эффективности прогностической деятельности. При этом у пациентов не было ошибок отвлечения. Число саккад в единицу времени в фоне в этой группе не отличалось от такового у здоровых испытуемых. При выполнении когнитивных заданий этот показатель увеличивался, но в меньшей степени, чем в группе здоровых, и по мере усложнения заданий не увеличивался, а уменьшался. Известно, что саккады подавляют познавательные процессы, требующие внимания. Поэтому хорошие показатели внимания у пациентов можно объяснить подавлением саккад, нарастающим по мере усложнения заданий. Увеличение времени, необходимого для выполнения когнитивных заданий связано не только с их сложностью, но и с необходимостью совершения большого числа саккад при их решении. Следовательно, уменьшение числа саккад в единицу времени требует увеличения времени для выполнения каждого из заданий. Настоящее исследование выполнено в содружестве с лабораторией нейрокибернетики НЦН РАМН, поддержано международными организациями Bodiflo (Австралия) и ITAG (США).

### **РОЛЬ АНГИОТЕНЗИНА II В МЕХАНИЗМАХ АЛКОГОЛЬНОЙ МОТИВАЦИИ**

**А.Ф. Рустамова, З.Т. Бахшиева, А.Ш. Рустамзаде, Г.А. Гасанова, Г.Дж. Велиева, Т.М. Исмаилов**

*Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан*

Изучение особенностей включения основного эффекторного пептида PАС – ангиотензина II (А II) в механизмы искусственно выработанной алкогольной мотивации, сформированной на структурно-функциональной основе тех биологических влечений, в метаболические механизмы которых в первую очередь включается алкоголь-жажда и избегание опасности (страх), представляет специальный интерес. На крысах линии Вистар создавалась «модель избегания», основанная на псевдоподкреплении мотивации страха (ожидаемое электрошоковое воздействие) 20% водным раствором этилового спирта. На протяжении 10-15 суток крысы содержались в индивидуальных клетках с электродным полом, через который им предъявляли хроническую неизбегаемую пороговую аверсивную электрокожную стимуляцию. Ежедневно у животных регистрировали прием воды, пищи и поведения. Было выявлено, что ожидание непрогнозируемой ноцицептивной стимуляции является мощным фактором, потенцирующим мотивацию избегания. Эта мотивация в условиях наших экспериментов обнаруживает своеобразную «разрядку» в различных видах поведенческой активности. При этом у некоторых животных такого «сдвига» мотивации избегания в сторону приема алкоголя не наблюдалось, поскольку резкого повышения приема алкоголя в процессе ожидания аверсивной стимуляции у них не обнаруживалось. У другой группы крыс постоянное ожидание электрошокового воздействия вызывало активное потребление алкоголя в течение суток. Внутримозговое введение А II этим крысам не подавляло, а увеличивало прием алкоголя, объем потребляемой воды при этом изменялся незначительно. У крыс, проявивших устойчивость к развитию алкогольной мотивации, внутримозговое введение А II вызывало увеличение приема алкоголя, причем прием воды превышал объем потребляемого алкоголя. У третьей группы крыс были обнаружены более выраженные эффекты потенциации приема алкоголя и подавления потребления воды. У них тип поведения, инициированный А II, зависел от стадии предпочтения крысами одной из жидкостей: если микроинъекция вводилась в стадию предпочтения алкоголя, то это вызывало потребление раствора этилового спирта, а если в стадию предпочтения воды, то – прием именно воды. Результаты исследования показали, что А II может участвовать не только в блокаде, но и в становлении и реализации приобретенной алкогольной мотивации.

**ОЦЕНКА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА ПО ВИБРОИЗОБРАЖЕНИЮ ГОЛОВЫ**

Ю.В. Кашина, И.Л. Чередник, А.В. Бурлуцкая, О.В. Киек, В.А. Минкин, А.Г. Пенжоян, А.В. Абушкевич, А.Ф. Гостищев, М.М. Рабданов, В.С. Велигурова, Ж.В. Пустовая *Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар*

Целью работы явилось апробация экспресс-метода определения психоэмоционального статуса человека по виброизображению головы. Наблюдения проведены на 432 лицах мужского и женского пола 16-52 лет: студентах, курсантах, военнослужащих, спасателях, беременных женщинах перед родами, больных перед операцией. Для регистрации виброизображения использовалась веб-камера AVerCam и датчик изображения 1/3 дюйма КМОП с разрядностью 8 бит. В качестве компьютера был взят стандартный ноутбук Samsung P40 TV001 с процессором Pentium M2000 и программным обеспечением VibrImage 6.1. Веб-камера устанавливалась на расстоянии 0,5 м напротив исследуемого лица человека так, чтобы голова была видна на мониторе компьютера достаточно крупно. В качестве контрольных методов использовали психологические тесты. У испытуемых были получены следующие характеристики психоэмоционального статуса. Агрессия, оцениваемая по шкале от 20 до 50 баллов, у беременных перед родами составляла  $30,7 \pm 0,8$  баллов, у военных  $42,3 \pm 0,4$  баллов, у спасателей  $33,6 \pm 0,6$  баллов, у курсантов  $32,6 \pm 0,3$  баллов, у студентов  $26,40,5$  баллов, у больных перед операцией  $30,2 \pm 0,7$  баллов. Умеренный уровень тревожности по шкале от 16 до 35 баллов был у студентов, курсантов, военнослужащих, спасателей, высокий (36–50) – у беременных женщин перед родами, больных перед операцией. Высокая уравновешенность (по шкале 50 – 100 баллов) отмечалась у курсантов, военнослужащих, спасателей, низкая (25–49 баллов) у беременных женщин перед родами, больных перед операцией, студентов. Высокой энергичностью (по шкале 25–40 баллов) обладали студенты, курсанты, военнослужащие, спасатели, беременные женщины перед родами. Низкая энергичность отмечалась у больных перед операцией (18–24 балла). Наибольший стресс по шкале 20–40 баллов отмечался у больных перед операцией, беременных женщины перед родами. Высокая стабильность по шкале 0–49 баллов отмечалась у военнослужащих, спасателей. Отмечено высокое совпадение результатов определения психоэмоционального статуса экспресс-методом виброизображения головы с данными психологического тестирования.

**ТИПЫ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ И УСПЕВАЕМОСТЬ СТУДЕНТОВ**

З. Гафурова *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Известно, что специализация левого и правого полушарий разная, но работают они всегда совместно. Благодаря их взаимодействию становятся возможными сложные психические процессы, отличающиеся от тех процессов, которые происходят в каждом полушарии в отдельности. Целью исследования явилось изучение распространенности типов межполушарной асимметрии у студентов и их успеваемости. Нами обследовано 992 студента II курса. У 815 из них использовали экспресс-тест, позволяющий определить ведущий палец, ведущий глаз, руку и кисть. Данная методика позволяет выделить 16 типов межполушарной асимметрии. У 177 студентов при помощи выявления ведущей руки, ведущей ноги, ведущего глаза, ведущего уха и психологического тестирования было выявлено 3 типа межполушарной асимметрии: 1) левополушарные («мыслители»); 2) правополушарные («художники») и 3) студенты, у которых активность обоих полушарий сбалансирована («учитель»). Успеваемость оценивали по результатам итоговых занятий по физиологии: 1) студенты с хорошей успеваемостью; 2) студенты с удовлетворительной успеваемостью; 3) студенты с неудовлетворительной успеваемостью и 4) студенты с крайне неудовлетворительной успеваемостью. Среди исследованных студентов 7,9% с хорошей успеваемостью. Из них 85,71% – левополушарные и 14,29% – те лица, активность полушарий которых сбалансирована. Правополушарных студентов-хорошистов в ходе исследования не выявлено, 38,4% из обследованных составляют студенты – со средней успеваемостью. Из них 85,29% – левополушарные, 2,94% – правополушарные и 11,77% – студенты с одинаковой активностью обоих полушарий. 53,6% составляют студенты с неудовлетворительной успеваемостью: левополушарные – 76,84%, правополушарные – 4,21% и 18,95% – студенты, у которых активность обоих полушарий сбалансировано. Среди абсолютно не успевающих студентов (5,65%) – все оказались левополушарные. Неудовлетворительная успеваемость у левополушарных студентов видимо связана с тем, что они не испытывают интереса к выбранной профессии и поэтому просто не занимаются. Из 16 типов межполушарной асимметрии наибольшее количество лиц (17,2%) среди студентов медицинского университета оказались по типу IIIIII. Для них характерным является консерватизм, ориентация на общепринятое мнение, они не любят конфликтовать, спорить и ссориться. 12% обследованных были по типу IIIIII. Для них характерным является решительность, чувство юмора, артистизм, они очень контактны. 11% – по типу LIIIII, для которых характерно дружелюбие и простота, некоторая разбросанность интересов и склонность к самоанализу. Таким образом, среди преуспевающих студентов большинство – левополушарные, тип мыслителей, для которых характерно рациональное и логическое мышление. Исследуя типы межполушарной асимметрии, можно более оптимально комплектовать академические группы.

**ВЛИЯНИЕ МУЗЫКАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ВЕГЕТАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЮНОШЕЙ С ПОГРАНИЧНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ**

А.Г. Казымов, Д.Г. Алиева, Л.А. Казымова *Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан*

Изучены особенности динамики психофизиологических коррелятов процедур медицинской резонансной терапевтической музыки (МРТМ) у практически здоровых юношей 15–18 лет и юношей той же возрастной группы с пограничными расстройствами. У испытуемых проведены исследования субъективных, электрофизиологических, психофизиологических и вегетативных показателей при однократных предъявлениях выбранных ими эмоционально приятных фрагментов медицинской резонансной терапевтической музыки, произведения Sonnen Symphonie или из современных спокойных национально-оркестровых мелодий. Юношам предлагалось провести рейтинговые оценки 5 музыкальных фрагментов продолжительностью по 7-балльной шкале. По результатам оценок определяли наиболее и наименее эмоционально приятные фрагменты музыки. Юноши младших возрастных групп (15–16 лет) предпочитали прослушивать мелодичные, но темповые музыкальные сочинения, что оказывало некоторое синхронизирующее влияние на лимбико-ретикулярные структуры мозга и проявлялось в повышении мощности альфа-ритма, снижении амплитуд быстрых колебаний и некотором седативном эффекте у здоровых – снижение уровня ситуативной тревоги, переживание положительных эмоций, нормализация вегетативной сферы. У юношей с невротическими расстройствами, при исходном эмоционально-вегетативном возбуждении, прослушивание таких сочинений приводило лишь к минимальному приросту альфа-активности, некоторой нормализации вегетативных показателей при сохранении



и даже повышении значений субъективно переживаемого эмоционального напряжения. Юноши старших возрастных групп (17–18 лет) предпочитали выбор мелодий более энергичных, с четким темпо-ритмом, умеренной громкости, что, очевидно, сопровождалось тонизирующими эффектами и проявлялось в неоднозначной динамике альфа-ритмики, увеличением амплитуд и индексов быстрых колебаний ЭЭГ. Однако, при этом наблюдались позитивные сдвиги в вегетативной сфере, снижение значений гемодинамических показателей, а также степени ситуативной тревожности (нормализация эмоционального фона). Часть юношей 17–18 лет с невротическими расстройствами выбирали темповые музыкальные фрагменты, сочетающиеся с мелодичными мелодиями. Возможно, именно такой музыкальный ряд в наибольшей степени соответствовал их исходному негативному эмоциональному фону с высоким уровнем тревоги. Это приводило после процедур МРТМ к разнонаправленным сдвигам значений ЭЭГ, некоторой оптимизации вегетативного статуса при сохранении и даже повышении уровня ситуативной тревоги. Влияние различных фрагментов МРТМ зависит также не только от их частотных и ритмических характеристик, но и от индивидуальных особенностей обследуемых юношей.

### **ОЦЕНКА ВЫСОКОЧАСТОТНОГО СЛУХА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА**

**И.А. Вартанян, Е.М. Цирульников** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Вопрос о последовательности развития тонального слуха в пренатальном онтогенезе человека до настоящего времени не решен. Считают, что плод человека реагирует на акустические стимулы с 12-14 недели внутриутробного развития. Однако онтогенетические исследования морфогенеза внутреннего уха человека позволяют считать, что проявление слуховых функций плода человека возможно к 20-22 неделе развития, а описанные в литературе реакции на звук плода раннего возраста (12-14 недель) возникают в результате механических воздействий низкочастотных звуковых волн на сенсорные поверхности его тела. Эффективность влияния внешних звуков высокой (в том числе и ультразвуковой) частоты на плод более поздних сроков развития и возможность их слухового восприятия не изучена. Задача работы – установить возможность восприятия высокочастотных акустических колебаний, не оказывающих механического воздействия на соматосенсорные структуры тела плода и оценить его высокочастотный слух. Обследованы 25 здоровых беременных женщин и 34 женщины с инсулин-зависимым диабетом (срок беременности 22-38 недель). Оценивали частоту ЧСС и движения плода до, во время и после воздействия звуков 16–24,5 кГц. Высокочастотный излучатель располагали на животе беременной в области проекции спины плода. Регистрировали ЧСС и двигательную активность. Только при сроках беременности 26-28 недель плод реагирует на высокочастотные звуки слабо выраженным увеличением ЧСС и возрастанием двигательной активности. Небольшое увеличение ЧСС на звуки в сроках 26-28 недель (в среднем на 8,7%) отмечено у плодов здоровых и больных женщин. На 32 неделе ЧСС плода здоровых женщин увеличивалась (в среднем на 11,5%), и достигала максимума на 36-38 неделе (в среднем на 13,6%). У женщин с инсулин-зависимым диабетом возрастание увеличение ЧСС плода на высокочастотные звуки при сроках 26-28 недель такое же, как у здоровых (в среднем на 8,9%). При сроках 32 и 36 недель динамика ЧСС слабо выражена (в среднем на 9,1%). Таким образом, плод человека при сроке внутриутробного развития 26-28 недель уже реагирует на акустические колебания ультразвукового диапазона (20-24 кГц). Реакции на высокочастотные акустические колебания у плода 32-38 недель говорят о развитии структур внутреннего уха, воспринимающих ультразвуковые колебания, вплоть до рождения.

### **АДАПТАЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ НЕЙРОНОВ СЛУХОВОГО ЦЕНТРА СРЕДНЕГО МОЗГА К ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМ ЗВУКОВЫХ ИМПУЛЬСОВ**

**М.А. Егорова, Е.С. Малинина, Г.Д. Хорунжий**

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

Одной из актуальных проблем физиологии слуха является раскрытие роли адаптации в обработке временной структуры сложных акустических сигналов, в том числе речи человека и коммуникационных сигналов животных. В настоящей работе мы проверяли гипотезу об участии адаптации нейронов слухового центра среднего мозга домашней мыши в обработке звуковых последовательностей, имитирующих временную структуру коммуникационного сигнала мышшей. Оценка временной динамики постстимульной адаптации различных типов нейронов центрального ядра заднего холма была выполнена при предъявлении звуковых последовательностей, образованных четырьмя 100-мс тональными сигналами, следующими с разными межстимульными интервалами (0, 2, 4, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 700, 1000 или 1500 мс). Данные показали, что индивидуальные временные шкалы адаптации нейронов варьировали как по форме кривых восстановления ответа, так и по времени начала и окончания процесса восстановления. Две трети нейронов имели монотонно возрастающие кривые восстановления ответа. У таких нейронов после ответа на первый сигнал при коротких межстимульных интервалах (0–50 мс) ответы на 2-ой, 3-ий и 4-ый сигналы полностью подавлялись или значительно уменьшались. Увеличение межстимульного интервала приводило к постепенному восстановлению ответа на следующие за первым сигналы. Все нейроны, у которых ответы на 2-ой – 4-ый сигнал полностью подавлялись, имели фазные или пачечные разряды и широкие частотные рецептивные поля. Полное восстановление ответов наблюдалось при межстимульных интервалах 200 – 700 мс. У трети нейронов функции восстановления имели немонотонный характер, с подъемами и спадами. Для таких нейронов был характерен тонический тип разряда (тонический, фазно-тонический, паузный и позднелатентный ответы) и узкие частотные рецептивные поля. Обсуждается вклад адаптации нейронов с различными частотными рецептивными полями и паттернами активности в формирование оптимальных временных окон при анализе группирования и разделения биологически значимых звуковых событий.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-05234).*

### **ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ СВЕРЧКА *PHAEOPHILACRIS BREDOIDES* НА ЗВУК В НОРМЕ И С ИНАКТИВИРОВАННЫМ ЦЕРКАЛЬНЫМ АППАРАТОМ**

**А.М. Луничкин А.Н. Князев** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Представители Gryllidae обладают развитой внутривидовой коммуникацией, которая обеспечивается «дистантной» механосенсорной сигнализацией в виде видоспецифичной «песни». Показано (Князев, 1986, 1990), что основные дистантные механосенсорные системы сверчка *Gryllus bimaculatus* Deg. (тимпанальная, церкальная и субгенуальная) образуют единый механосенсорный комплекс (МК). Его компоненты взаимосвязаны и оказывают друг на друга модулирующее влияние. Одной из

главных задач МК является детектирование конспецифичных звуковых сигналов и обеспечение адекватного поведения (агрессивного, репродуктивного, территориального, оборонительного и т. п.). Другие «поющие» представители Gryllidae, по-видимому, обладают схожими МК. Сверчок *Ph. bredoides* лишен тимпанальной системы (ТС), органов звукоизлучения и, соответственно, классической звуковой коммуникации. По-видимому, у этих сверчков так же имеется МК, главными составляющими которого являются церкальная (ЦС), субгенуальная (СС) и, возможно, Джонстонова системы. Особенности взаимодействия компонентов такого МК, а так же биологически значимые сигналы, которые он воспринимает, должны отличаться от «поющих» видов. Можно предположить, что МК *Ph. bredoides*, аналогичен/гомологичен имеющемуся у личинок «поющих» видов Gryllidae, так же лишенных функционирующей ТС. Этологическим методом показано, что в норме при интенсивности звука  $111 \pm 3$  дБ УЗД *Ph. bredoides* отвечает двигательной реакцией (ДР) на звуковое раздражение в диапазоне 100–6000 Гц. Восприятие стимулов, по всей видимости, обеспечивается СС и ЦС. После инактивации ЦС глицерином, диапазон частот, которые запускают ДР при заданном УЗД, сокращается. При интенсивности  $111 \pm 3$  дБ УЗД полностью исчезают реакции в пределах 1.6–6 кГц. После самостоятельной очистки сверчка от глицерина, ДР полностью восстанавливаются в пределах всего диапазона. Аналогичная картина наблюдается и при более низких показателях УЗД. По всей видимости, наличие ЦС необходимо для формирования адекватного двигательного ответа на высокие частоты воспринимаемого диапазона. СС, таким образом, отвечает за восприятие и запуск ДР на низкие частоты. Роль Джонстоновой системы предстоит выяснить. *Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 13-04-00610 и № 14-04-31042*

### **ХАРАКТЕРИСТИКИ ЧАСТОТНЫХ РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЕЙ МУЛЬТИПИКОВЫХ НЕЙРОНОВ ПЕРВИЧНОЙ СЛУХОВОЙ КОРЫ МЫШИ**

**Г.Д. Хорунжий, М.А. Егорова** *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

В исследованиях слуховых центров ствола мозга и слуховой коры млекопитающих были описаны нейроны, отличавшиеся сложной формой частотных возбудительных рецептивных полей, имевшие несколько характеристических частот возбуждения (ХЧВ) и названные комплексными, или мультипиковыми (Егорова, 2005; Егорова и др., 2012; Sutter, Schreiner, 1991). У домашней мыши свойства рецептивных полей и характеристики активности мультипиковых нейронов слуховой коры детально не изучались, несмотря на активное использование этого животного в нейрофизиологических исследованиях механизмов слуха. В работе выполнен анализ свойств активности мультипиковых нейронов первичного слухового поля AI (27 единиц), переднего слухового поля AAF (16 единиц) и ультразвукового поля UF (6 нейронов). Доля мультипиковых нейронов составила 35%, 32% и 43% в полях AI, AAF и UF соответственно. Все нейроны имели две ХЧВ – низкочастотную (ХЧНЧВ) и высокочастотную (ХЧВЧВ). Диапазон ХЧНЧВ составил 8–18 кГц в поле AI, 5–18 кГц в поле AAF и 10–17 кГц в поле UF. Диапазон ХЧВЧВ составил 11–30 кГц, 10–38 кГц и 43–57 кГц в полях AI, AAF и UF соответственно. Выраженное в октавных отношениях частотное расстояние между низкочастотным и высокочастотным пиками чувствительности (т.е. ХЧНЧВ и ХЧВЧВ) нейронов полей AI и AAF составляло в среднем  $0.78 \pm 0.24$  и  $0.82 \pm 0.49$  октавы соответственно. Метод линейной регрессии с высокой степенью достоверности ( $p < 0.001$ ) выявил жесткую взаимосвязь между ХЧНЧВ и ХЧВЧВ нейронов в этих полях, причем полученные зависимости практически совпадали, а коэффициент линейной регрессии был близок к 1.5 как в поле AI, так и в поле AAF. В поле UF расстояние между максимумами чувствительности было больше и составляло в среднем  $1.88 \pm 0.41$  октавы. Взаимосвязи между ХЧНЧВ и ХЧВЧВ в этих нейронах отмечено не было. Выявленные особенности расположения пиков чувствительности в рецептивных полях мультипиковых нейронов первичной и передней слуховой коры у взрослых мышей могут указывать на их участие в обработке частотных составляющих вокализаций детенышей, обладающих гармонической структурой, например, второй и третьей гармоник контактного крика дискомфорта мышат. *Работа поддержана РФФИ (гранты №12-04-00969 и 15-04-05234) и госбюджетом по госзаданию в 2013-2017 гг. (№ госрегистрации 01201351571).*

### **ВЛИЯНИЕ ЧАСТОТНОГО СПЕКТРА СЛОЖНЫХ АКУСТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТТЕРНОВ ОТВЕТОВ В ЧАСТОТНЫХ РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЯХ НЕЙРОНОВ СЛУХОВОГО ЦЕНТРА СРЕДНЕГО МОЗГА ДОМОВОЙ МЫШИ**

**А.Г. Акимов<sup>1</sup>, М.А. Егорова<sup>1</sup>, Д.В. Сниткин<sup>2</sup>, А.В. Михалева<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; <sup>2</sup>Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова МО РФ;

<sup>3</sup>Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

Нейроны слухового центра среднего мозга проявляют специализацию в ответах на звуковые сигналы различной частоты и интенсивности. При изучении паттернов ответов нейронов заднего холма среднего мозга мыши, вызванных одиночными тональными сигналами, была показана их зависимость от параметров сигнала и типа рецептивного поля нейрона (Егорова, 2008; Хорунжий, Егорова, 2014). Однако, подавляющее большинство акустических сигналов в природе, включая коммуникационные сигналы животных и речь человека, имеют сложный частотный спектр. Влияние характеристик сложных звуков на паттерны ответов нейронов центрального ядра заднего холма не исследовано. Проведение такого исследования принципиально для установления вклада нейронов с различными частотными рецептивными полями в формирование ответа на сложные акустические сигналы. В работе исследовали взаимосвязь паттернов ответов и частотных характеристик активности нейронов центрального ядра заднего холма домашней мыши *Mus musculus* методом электрофизиологического картирования их частотных рецептивных полей двухтоновыми звуковыми сигналами. Один из сигналов представлял собой тон характеристической частоты нейрона уровнем 10 дБ над порогом ответа, а второй изменялся в широком диапазоне частот и интенсивностей. Анализ полученных результатов выявил связь между строением частотных рецептивных полей нейронов и особенностями их ответов на двухтоновые сигналы. Характерный для трети нейронов центрального ядра фазный разряд не изменялся при изменении частотного спектра и интенсивности звуков. Около четверти таких нейронов имели широкие частотные рецептивные поля V-образного типа. Нейроны с позднелатентным ответом также отличались постоянством разряда при всех частотах и интенсивностях акустического сигнала. Наибольшим модификациям подвергались паттерны ответов с выраженным тоническим компонентом: фазно-тонический и паузный. У четверти нейронов в ответах на двухтоновые сигналы появлялся off-компонент в

области границ тормозных рецептивных полей. Такие нейроны имели преимущественно тормозно-зависимые частотные рецептивные поля. *Поддержано РФФИ (грант № 15-04-05234) и гос. бюджетом по госзаданию на 2013-2017 годы (№ з.р.01201351571).*

**СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ НАСЕКОМЫХ В РАМКАХ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОГО И ИНТЕГРАЛЬНОГО ПОДХОДОВ**

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

К настоящему времени на насекомых в острых (электрофизиологических), этологических и других экспериментах получены многочисленные данные по акустической и иным формам коммуникации. Изучение механизмов коммуникации невозможно без анализа работы сенсорных систем (СС). Традиционно исследования каждой СС и каждой формы коммуникации проводили и проводят, пользуясь дифференциальным подходом – по отдельности. Именно эти результаты легли в основу большинства современных представлений о механизмах функционирования СС различных модальностей и различных форм поведения (коммуникации). В результате организм животного (и человека) постепенно перестал быть «единым целым». Наряду с традиционным «дифференциальным» мы попытались применить «интегральный» подход к изучению ряда дистантных механорецепторных систем насекомых (тимпанальной, подколенной и церкальной СС сверчков), механизмов акустической коммуникации и сравнить результаты этих исследований. Сравнительный анализ литературных данных, результатов собственных электрофизиологических и этологических экспериментов показал, что адекватная интерпретация всего многообразия данных о деятельности СС и об их роли в реализации адаптивного акустического поведения невозможно в рамках «дифференциального» подхода. Такой подход не позволяет приблизиться к пониманию механизмов сложного, в том числе и акустического, поведения, как в норме, так и при различных патологиях. Напротив, предпринятое нами «интегральное» исследование комплекса СС и его роли в реализации адекватного акустического поведения позволило выявить на чем основан механизм ориентации сверчков в условиях звукового поля (ближнего и дальнего), а также объяснить от чего зависит реализация адекватного акустического поведения насекомых в природе, их направленной двигательной активности в рамках различных форм поведения, например, репродуктивного и оборонительного у животных разного пола и возраста. Понятно, что анализируя результаты исследований СС и их вклада в реализацию сложных форм поведения, необходимо учитывать в рамках какого подхода – интегрального или дифференциального они получены, так как результаты такого анализа, как правило, сильно отличаются. Эти выводы могут быть важны не только для фундаментальной энтомологии, но для общей этологии и медицины.

**ВЫСОКАЯ ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРИЗЫВНОГО СИГНАЛА СТАРОГО САМЦА *GRYLLUS BIMACULATUS* КОМПЕНСИРУЕТ ЕГО СЛАБУЮ ПРИВЛЕКАТЕЛЬНОСТЬ ДЛЯ САМОК**

**М.К. Жемчужников, А.Н. Князев**

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

Степень давления полового отбора на самцов определяется избирательностью реакций самок, например, реакций положительного фонотаксиса (ПФ) в ответ на призывной сигнал самца у поющих прямокрылых семейства Gryllidae. В свою очередь избирательность и выраженность ПФ может зависеть от многочисленных экзо – и эндогенных факторов, в том числе от возраста самца. Еще одним доминирующим параметром сигнала, определяющим его привлекательность, является интенсивность. Данный параметр хоть и меняется с возрастом самца, но одновременно находится в зависимости от удаленности источника звукового сигнала. Таким образом, при альтернативном выборе менее привлекательный по частотно–временной структуре призывной сигнал может оказаться более привлекательным при повышении его интенсивности. Определение данной зависимости было целью нашего эксперимента. Для построения моделей призывного сигнала (ПС) молодого (14 сут) и старого (40 сут) самцов были использованы следующие характеристики: длительность пульса – 20 мс (молодой) и 13 мс (старый), период повторения пульса – 37 мс и 39 мс, период повторения серии – 340 мс и 454 мс, несущая частота пульса – 4737 Гц и 4555 Гц. Каждая самка (n=18) участвовала в 5 сериях экспериментов: в одной из них интенсивность моделей сигнала молодого и старого самца были одинаковы (85 дБ УЗД), а в остальных четырех интенсивность модели ПС молодого самца составляла 81, 77, 73 и 69 дБ УЗД соответственно. Оказалось, что более интенсивный (выше на 8–16 дБ УЗД) ПС старого самца в равной степени с ПС молодого привлекателен для самок. В то время как при равных интенсивностях или при незначительном их различии (на 4 дБ УЗД) самка отдает предпочтение молодому самцу с достоверностью  $p < 0.01$  и  $p < 0.05$  соответственно. Так как интенсивность призывного сигнала наряду с его временными параметрами так же является доминантной характеристикой при определении привлекательности самца, старый самец может получить преимущество за счет изменения стратегии поведения, например, более выгодного расположения в пространстве.

**ТАКТИЛЬНАЯ РЕЦЕПЦИЯ РЫБ**

**Г.В. Девицина<sup>1</sup>, Д.Н. Лапшин<sup>2</sup>** *<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия*

Наблюдения за поведением рыб указывают на большую роль их тактильной рецепции при поиске пищи и при ориентации в пространстве. Задачей настоящей работы являлось исследование физиологических характеристик тактильных рецепторов в коже рыб. С помощью оригинальной методики неинвазивной регистрации потенциалов на коже рыб впервые выявлены ответы тактильных рецепторов тонического, фазного и смешанного типа на механическую стимуляцию поверхности кожи головы серебряного караса (*Carassius auratus gibelio*). В качестве источника тактильных стимулов использовали набор упругих поводков из нейлона. Минимальное усилие, развиваемое на поверхности кожи наиболее мягким поводком составляло 0,04 г, максимальное усилие – 1,3 г. В ходе экспериментов были зарегистрированы две основные формы реакций на стимулы – тонические ответы медленно адаптирующихся рецепторов и фазные ответы быстро адаптирующихся рецепторов в виде on-, of- и on-of потенциалов, возникавших в моменты давления на кожу со стороны стимулирующего поводка. Особенно часто наблюдались ответы смешанного типа (фазно-тонические). В ряде случаев реакции на тактильные стимулы выражались в медленном нарастании потенциала, длительность которого превышала время действия четырехкратного цикла стимуляции (1,4 с). Полу-

чены результаты, указывающие на существование эфферентной регуляции возбудимости кожных механорецепторов. Характер распределения рецепторных ответов различных форм и пороговая тактильная чувствительность отличались в разных зонах кожной поверхности головы рыбы. Самая высокая чувствительность с пороговой величиной воспринимаемого усилия 0,04 г обнаружена в околоротовой зоне. Таким образом, было показано, что рыбы, также как и наземные позвоночные, обладают высокочувствительными тактильными рецепторами фазного и тонического типов. Различная чувствительность и особенности распределения тактильных рецепторов в разных зонах кожной поверхности, по-видимому, отражают функциональную значимость этих зон в поведении рыб.

### **ВЛИЯНИЕ КАТЕГОРИАЛЬНОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ И НИЗКОЧАСТОТНОЙ ФИЛЬТРАЦИИ МАСКИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЯМОЙ МАСКИРОВКИ СЛОЖНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ИХ КАТЕГОРИЗАЦИИ**

**Н.Ю. Герасименко, А.Б. Киселева, Я.В. Безрукавая, Е.С. Михайлова**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

В повседневной жизни зрительная система человека перерабатывает информацию о множестве различных объектов. Прямая маскировка – удобная экспериментальная модель для изучения процессов опознания. Показано, что ее эффективность зависит от уровня сложности и категориальной принадлежности стимула и маски. Цель работы – оценить влияние категориальной близости маски и стимула на эффективность маскировки при категоризации изображения на базовом и суперординатном уровне, а также проанализировать влияние низкочастотной фильтрации маски. В исследовании приняли участие 27 здоровых испытуемых в возрасте от 20 до 32 лет. Масками и тестовыми стимулами служили черно-белые фотографии. Испытуемые выполняли два вида задач по категоризации: 1) на базовом уровне (например, кошка, кролик и т.п.); 2) на суперординатном уровне (животное или предмет). Четкое или низкочастотно фильтрованное маскирующее изображение одной из 4-х категорий (дома, лица, животные, предметы) предъявляли 102 мс, после чего появлялся стимул (85 мс), следом – шумовая маска (50 мс). Регистрировали время реакции (ВР) и правильность ответа с помощью Serial Response Box (E-prime Psychology Software Tools Inc., USA). Показано, что эффективность прямой маскировки зависит от типа экспериментальной задачи. При опознании изображений на базовом уровне эффективность маскировки была максимальной при совпадении категориальной принадлежности стимула и маски. При выполнении категоризации на суперординатном уровне наибольшее ВР и наименьшая точность наблюдались при маскировке изображениями другой категории – животными для предметов и предметами для животных. Лица и дома оказывали меньший маскирующий эффект, чем изображения других категорий. Низкочастотная фильтрация маски снижала эффективность прямой маскировки. Наши данные подтверждают гипотезу о временном и пространственном разделении в мозге процессов базовой и суперординатной категоризации. Мы предполагаем, что меньшая эффективность маскировки изображениями домов и лиц связана с существованием специализированных областей, ответственных за обработку зрительной информации об этих стимулах. Снижение маскировки при низкочастотной фильтрации маски указывает на важную роль вентрального пути в механизме прямой маскировки. *Работа поддержана грантом РФФИ № 15-06-08447.*

### **ИНДИВИДУАЛЬНОСТЬ ГИПЕРАКТИВАЦИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И ИНСОМНИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА СНА**

**Е.В. Вербцкий** *Институт аридных зон ЮНЦ РАН, Ростов на Дону, Россия*

Стойкое преобладание влияния активационных процессов на деятельность нервной системы во время бодрствования и ночного сна – гиперактивация как, выяснилось, имеет индивидуальные особенности. Наиболее выраженными из них являются свойства, обусловленные высоким уровнем личностной тревожности. В бодрствовании это, прежде всего, низкие пороги возбудимости и разномодальных вызванных потенциалов, а также слабая габитуации их амплитудных комплексов при повторении раздражений. А во время ночного сна это, преимущественно, плоская гипнограмма с доминированием неглубокого медленного сна при значительной пространственно-временной диссоциации паттернов «сонных» веретен, нарушения в цикличности развития сна за счет большого количества спонтанных активаций разной этиологии, что сказывается на высокой сегментации стадий сна. Указанные процессы при развитии сна, в значительной степени, отражают нарушения цикличности нейрохимических превращений, направленных на экскрецию гормонов и метаболитов для адекватного поддержания последующего бодрствования. Подтверждение этому получено в модельных экспериментах, проведенных на животных, где инициирование гиперактивации нервной системы ухудшало развитие медленного сна по инсомническому типу, негативно влияя на электрофизиологические показатели последующего бодрствования и характеристики поведения животных. Использование животных с высоким и низким уровнями базовой тревожности выявило основные тенденции развития индивидуально обусловленных расстройств сна, имеющих сходство с инсомнией, что позволило опробовать подходы, направленные на снижение негативных последствий указанных расстройств. Исследование вышеописанных нейрофизиологических механизмов нацелено на понимание природы риска инсомнических расстройств ночного сна у лиц с высокой личностной тревожностью. Подчеркивается значимость персонализированного подхода к пациентам, страдающим первичной инсомнией и отличающимся высоким уровнем личностной тревожности.

### **РЕАКЦИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ НА ПОСТУПЛЕНИЕ МЕЛАТОНИНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СВЕТОВЫХ УСЛОВИЙ**

**Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева, В.С. Гордова** *Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия*

Исследования, посвященные мелатонину, актуальны: в клинической практике он находит всё более широкое применение в терапии различной патологии, при этом действие мелатонина на организм не является однозначным ещё в связи с зависимостью синтеза этого гормона от внешнего освещения. Изучалось влияние мелатонина (препарат «Мелаксен» Unipharm, Inc., США при поступлении в течение 28 дней в концентрации 4 мг/литр с питьевой водой) на макрофаги селезенки половозрелых белых нелинейных мышей-самцов двухмесячного возраста ко времени начала эксперимента в условиях естественного освещения (n=20) и круглосуточного затемнения (n=20), контролем служили интактные мыши (n=40). В среднем на одно животное приходилось 30 мкг мелатонина в сутки. Само пребывание мышей в условиях постоянного затемнения не сказывается на из-

менении микроморфологии селезенки. Поступление мелатонина, вне зависимости от условий освещения, увеличивает в селезенке количество первичных лимфоидных узелков: в условиях естественного освещения в 2,2 раза, в условиях затемнения в 1,4 раза по сравнению с интактными мышами ( $p < 0,05$ ). При естественном освещении мелатонин уменьшает плотность расположения макрофагов (Iba-1+) во всех морфофункциональных зонах селезенки по сравнению с интактными мышами: в 1,5; в 1,3; в 2,17 раз для периартериоллярных макрофагальных муфт, маргинальной зоны и красной пульпы соответственно. В условиях постоянного затемнения мелатонин также уменьшает плотность расположения макрофагов (Iba-1+): в 1,5; в 1,3; в 2,17 раз для периартериоллярных макрофагальных муфт, маргинальной зоны и красной пульпы соответственно. Поступление мелатонина изменяет в селезенке мышей и количество активированных макрофагов (MHCII+), при этом в селезенке животных, содержащихся при естественном освещении, оно уменьшается в 1,5; в 1,3; в 2,17 раз для периартериоллярных макрофагальных муфт, маргинальной зоны и красной пульпы соответственно. В условиях постоянного затемнения количество активированных макрофагов уменьшается в 1,5; в 1,3; в 2,17 раз для периартериоллярных макрофагальных муфт, маргинальной зоны и красной пульпы соответственно. Таким образом, поступление мелатонина в организм мышей с питьевой водой в течение четырех недель независимо от условий освещения, приводит к уменьшению плотности расположения макрофагов, в том числе и активированных, во всех морфофункциональных зонах селезенки. При этом максимально плотность макрофагов селезенки на единицу площади изменяется в красной пульпе при условиях естественного освещения.

### **ДИНАМИКА СОПРЯЖЕННОСТИ ЭЛЕКТРО – И РЕОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЦИКЛЕ БОДРСТВОВАНИЕ – СОН У ЛИЦ С ПОВЫШЕННЫМ СИМПАТИЧЕСКИМ ТОНУСОМ**

**В.П. Омельченко, Я.А. Хананашвили** *Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия*

Целью работы явилось изучение сопряженности биоэлектрической активности и кровоснабжения головного мозга в цикле бодрствование-сон у лиц с преобладанием тонуса симпатического отдела автономной нервной системы. У 14 практически здоровых лиц в возрасте 18-20 лет с повышенным симпатическим тонусом регистрировали с помощью анализатора «Энцефалан-131-03» ЭЭГ в лобных (F3, F4) и затылочных (O1, O2) отведениях, а также РЭГ во фронтотемпоральном (FML, FMR) и окципитотемпоральном (OML, OMR) отведениях. Фазы цикла идентифицировали по данным ЭЭГ, электроокулографии и электромиографии мышц шеи. В каждую из фаз анализировали 20-секундные фрагменты ЭЭГ и 60-секундные участки РЭГ, определяя при этом значения абсолютной мощности (АМ) спектра ЭЭГ, амплитудно-частотного показателя (АЧП) и реографического индекса (РИ) РЭГ. Уровень сопряженности биоэлектрической активности мозга с его кровоснабжением оценивали посредством определения коэффициентов корреляции ( $r$ ) между значениями АМ, АЧП и РИ при спокойном бодрствовании, дремоте, медленноволновой (МФ) и быстроволновой (БФ) фазах сна. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программного пакета STATISTICA 6.0. Установлено, что в состоянии спокойного бодрствования АМ  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\theta$  – и  $\delta$ -ритмов во всех отведениях отрицательно коррелировали с РИ в OML ( $r = -1,00$ ;  $p < 0,05$ ) и с АЧП в FML и FMR ( $r = -1,00$ ;  $p < 0,05$ ). В фазу дремоты наблюдались положительные корреляционные связи АМ  $\delta$ -ритма в F3, F4 и РИ в OML ( $r = 0,97$ ;  $p < 0,05$ ), а также положительные связи АМ  $\alpha$ -ритма в O1, O2 с РИ в OML ( $r = 0,98$ ;  $p < 0,05$ ), тогда как в OMR имела место отрицательная корреляционная связь ( $r = -0,99$ ;  $p < 0,05$ ). В МФ отмечены отрицательные корреляционные связи АМ  $\delta$ -ритма в O2 и O1 с РИ в FML ( $r = -0,97$ ;  $p < 0,05$ ), а в БФ были выявлены положительные корреляционные связи АМ  $\beta$ -ритма в F3 с РИ и АЧП в FML ( $r = 0,98$ ;  $p < 0,05$ ). Полученные результаты позволили выявить у лиц с повышенным симпатическим тонусом характерную динамику сопряженности между ЭЭГ и РЭГ показателями в разные фазы цикла бодрствование–сон.

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ТЯЖЕСТИ ИНСОМНИИ**

**Н.П. Романчук, А.В. Захаров, М.С. Сергеева, В.Ф. Пятин, Е.С. Коровина**  
*Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия*

Инсомния – синдром, характеризующийся триадой симптомов в виде трудности засыпания, поддержания сна и низкого качества ночного сна проявляющейся в виде снижения уровня дневной активности. Среди различных форм инсомнии наиболее часто встречающейся является психофизиологическая инсомния. К неспецифическим полисомнографическим изменениям относятся: уменьшение латентности глубоких стадий сна и сокращение длительности медленноволнового сна. Целью исследования выявление зависимости изменений полисомнографических данных и субъективной оценки тяжести инсомнии. Было обследовано 60 человек, обратившихся за сомнологической помощью с диагнозом психофизиологическая инсомния. Средний возраст составил 44,4±8,8 лет. Всем пациентам проводилось анкетирование с помощью анкеты индекса тяжести бессонницы (ISI), проводилось полисомнографическое обследование. В качестве основных полисомнографических показателей были использованы: общее время сна (TST), отражающее общее время нахождения в различных стадиях сна в течение всего обследования, относительное и абсолютное время нахождения в первой (N1), второй (N2) стадиях, дельта-сне (N3) и фазе быстрого сна (REM), а также их латентности. Первая группа состояла из пациентов легкими нарушениями сна с баллами по ISI от 8 до 14. Вторая группа средней степени – от 15 до 21 баллов и в третья группа с выраженными нарушениями – от 22 до 28 баллов. Для мультифакторного анализа на формирование инсомнии проводилось автоматизированное линейное моделирование, позволяющее оценивать выраженность вклада отдельных регистрируемых параметров на индекс тяжести инсомнии, по данным ISI. Можно выделить основные предикторы оказывающие достоверное влияние на тяжесть инсомнии: латентность REM сна, относительного времени медленноволнового сна и количества спонтанных активаций ЭЭГ. Данные предикторы свидетельствуют о важности в структурированности сна именно первого цикла, поскольку именно его нарушения приводят к удлинению латентности REM сна.

### **НОЧНОЙ СОН ДОЛГОЖИТЕЛЯ АЗЕРБАЙДЖАНА**

**У.Ф. Гашимова, А.Р. Аллахвердиев, А.А. Аллахвердиева**  
*Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан*

Исследована структура ночного сна долгожителя и пожилого жителя Ленкоранского района Азербайджана возраста 93 и 62 года, соответственно. Для регистрации и анализа сна использовался миниатюрный аппарат “Quasi” (производство Германии), эффективность которого при оперативном изучении сна показана в ряде исследований; он имеет ряд преимуществ для

изучения ночного сна «сложной» группы лиц, к которым относятся дети и пожилые люди. Аппарат обеспечен эксклюзивной программой анализа нейронных сетей с множеством информативных показателей и графическим представлением структуры сна. Анализировались показатели длительности и эффективности сна, процентное содержание и латентные периоды фаз и стадий в целом по сну и по циклам, время бодрствования и движений, и другие информативные характеристики. Анализу подвергались результаты повторного обследования, после проведенной первой адаптационной ночи. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что в структуре ночного сна долгожителя подавляющее большинство времени составляет фаза быстрого сна – 66,67%, в то время как у лиц зрелого возраста значение этого показателя в 2,5-3,0 раза ниже и с возрастом оно продолжает снижаться. При этом следует отметить почти нулевой уровень глубокого сна и двигательной активности. Существующие теории сна отводят медленному сну функцию восстановления гомеостаза мозговой ткани и оптимизацию управления внутренними органами, нарушенными в бодрствовании. В быстром же сне клетки мозга чрезвычайно активны, при этом связь с органами чувств нарушена и прерваны контакты с мышечной системой. Быстрому сну отводят роль переработки информации, полученной во время бодрствования и хранящейся в памяти. По гипотезе П.М. Жувье в фазе быстрого сна в память передается наследственная информация, имеющая непосредственное отношение к формированию поведения. Исходя из этого, можно предположить, что доминирование в структуре ночного сна долгожителя фазы быстрого сна отражает преобладание механизмов обработки наследственно-генетической информации над мозговыми гомеостатическими механизмами, нарушенными в процессе предшествующего бодрствования. Высказанное нами предположение, возможно, частный случай, требующий дальнейшего анализа и подтверждения результатов на статистически достоверном материале.

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УПРАВЛЕНИЯ ДВИЖЕНИЯМИ СПОРТСМЕНА В ФАЗЕ ПОЛЕТА**

**Л.В. Капилевич, А.В. Разуванова, Е.В. Кошельская, И.А. Карпова, Е.В. Медведева** *Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*

С точки зрения спортивной физиологии безупрочное положение является нестандартным условием выполнения любого двигательного действия, и для адаптации к нему необходима сложная многосторонняя перестройка функциональных систем организма. В исследовании приняло участие 30 мужчин в возрасте от 18 до 25 лет, 15 – контрольная группа, 15 – основная (баскетболисты, разряд не ниже 1 взрослого). Обе группы выполняли двигательное действие – бросок в прыжке в кольцо с линии «штрафного броска». Для биомеханического анализа использовался метод Motion Tracking. При анализе видео и графических данных были выявлены расхождения у двух групп в модели выполнения «рабочей» фазы. Одно из главных различий регистрируется в момент выброса мяча. Выпуск мяча у баскетболистов основной группы происходит в самой высокой точке полета. В контрольной группе картина иная, выпуск мяча происходит раньше отрыва от земли, то есть сначала испытуемый выкидывает мяч, потом прыгает. Во второй части работы мы проанализировали динамику сгибания и разгибания анатомических углов у испытуемых из двух групп. Совершая невысокий прыжок, представители контрольной группы сгибаются сильнее в грудной части позвоночника. При этом абсолютно отсутствует плавность сгибания-разгибания – динамика величины угла прерывистая, то есть в безупрочном положении в этой части тела происходят сильные колебания. Полученные результаты свидетельствуют, что у начинающих спортсменов бросок мяча в прыжке представляет сочетание двух двигательных актов, слабо скоординированных друг с другом. Каждое движение (прыжок и бросок) осуществляется по самостоятельной программе. Перестройки в системе движений у баскетболистов высокой квалификации обеспечивают в первую очередь адаптацию к безупрочному положению, скороодиничность движения и превращают зависание тела в воздухе в технический навык. Происходит формирование единого двигательного навыка, в котором именно выполнение прыжка является пусковым фактором для выполнения броска мяча. Закрепление навыка выполнения сложных двигательных актов в безупрочном положении происходит за счет формирования нового двигательного стереотипа. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №16-18-00016)*

### **ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЛОКОМОТОРНЫХ И УДАРНЫХ ДВИЖЕНИЙ НА СКОЛЬЗКОЙ ПОВЕРХНОСТИ (НА ПРИМЕРЕ ЗИМНЕГО ФУТБОЛА)**

**А.А. Ильин, Л.В. Капилевич** *Томский университет систем управления и радиоэлектроники, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*

Игра в зимний футбол получила большую популярность в России сравнительно недавно, поэтому научному анализу еще не была подвергнута. В связи со спецификой проведения занятий по зимнему футболу на открытом воздухе в зимнее время наблюдается высокая плотность урока. У студентов, интенсивно выполняющих упражнения, находящихся в постоянном движении с минимальными интервалами отдыха до неполного восстановления на фоне частичной усталости, улучшается общее функциональное состояние организма, повышается работоспособность всех органов и систем организма. Различные системы организма настраиваются на необходимый рабочий уровень гетерохромно (равномерно). Так, двигательный аппарат, обладая высокой возбудимостью и лабильностью, настраивается быстрее, чем вегетативная система. Однако скелетные мышцы не в состоянии проявлять необходимые двигательные качества сразу, им для этого требуется определенное время. Работа отдельных внутренних органов, показатели деятельности вегетативных систем еще более инертны. Если сердечный ритм хотя и нарастает с первых секунд, к максимальному своему значению он приближается уже через минуту. Вработывание дыхательных функций происходит в течение нескольких секунд и т.д. Игра в зимний футбол характеризуется высокой двигательной активностью игроков и требует отличной разносторонней физической подготовленности. Деятельность футболистов носит преимущественно динамический характер, в которой периоды значительного напряжения чередуются с периодами относительного расслабления. Интенсивность работы во время игры колеблется от умеренной до максимальной. Так, частота сердечных сокращений поднимается до 204 ударов, а большей частью находится в пределах 150 – 180 уд/мин, потеря веса доходит до 2–3 кг. В среднем за игру спортсмен бегаёт в течение 20 – 42 мин, пробегаая расстояние от 5 до 8,5 км, а о стальное время ходит или стоит. При этом в среднем за игру он выполняет от 48 до 78 рывков, от 40 до 62 ускорений, от 224 до 310 пробежек. За игру футболист владеет мячом в общей сложности от 22 сек. до 2 мин. 45 сек., а владеет мячом от 34 до 70 раз. Наибольшее число раз мячом владеют игроки средней линии, наименьшее – центральные защитники. Построение режимов тренировочного процесса необходимо осуществлять с учетом особенностей зимнего футбола.

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТОЧНОСТИ УДАРНЫХ ДЕЙСТВИЙ В СПОРТИВНОМ КАРАТЕ**

**Ф.А. Гужов, А.А. Ильин, Ю.П. Бредихина** *Томский университет систем управления и радиоэлектроники, Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия*

Формирование спортивного мастерства у каратистов проявляется, в первую очередь, в совершенствовании координации движений и повышении эффективности мышечных сокращений. Прежде всего формируется координация движений во фронтальной плоскости (она выражена уже в группе средней квалификации), формирование координации в сагиттальной плоскости завершается на этапе высшего спортивного мастерства. Одновременно отмечается рост амплитуды биоэлектрической активности мышц нижних конечностей. В группе спортсменов высшей квалификации биоэлектрическая активность икроножных мышц организована синхронно, имеет более высокую амплитуду и частоту осцилляций при меньшей длительности периода активности. Изменения со стороны реакции ЦНС проявляются в укорочении латентного периода и увеличения амплитуды ЗВП и ССВП. На этапе спортивного совершенствования снижается длительность ЛП и увеличивается амплитуда ранних негативных компонентов (потенциалов ближнего поля), а на этапе высшего спортивного мастерства укорачивается ЛП и увеличивается амплитуда поздних позитивных компонентов, отражающих функциональное состояние стволовых структур и коры больших полушарий. Все вышеописанные физиологические изменения в организме спортсменов сопровождаются перестройкой системы вегетативного обеспечения деятельности. Причем перестройка этой системы происходит не линейно, в нее на разных этапах тренировки вовлекаются различные механизмы. С ростом спортивного мастерства происходило вначале усиление степени кровенаполнения мышц (регистрировалось уже у спортсменов среднего уровня), а затем – ускорение кровотока (в группе мастеров). У спортсменов средней квалификации какие-то показатели были ближе к показателям начинающих спортсменов, а другие уже приближались к показателям группы мастеров. По-видимому, формирование двигательных навыков на данном этапе опережает развитие физиологических систем вегетативного обеспечения. Все вышеизложенное позволяет рассматривать формирование мастерства в спортивном карате как единую функциональную систему, в которой чувство равновесия и координационные способности, определяющие уровень мастерства спортсменов, связаны с информационным полем зрительной и вестибулярной рецепции, с организацией сократительной активности мышц и вегетососудистым обеспечением деятельности.

**ТИПОЛОГИЯ ХЕМОРЕФЛЕКТОРНЫХ ОТВЕТОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ И ГИПЕРКАПНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ У СПОРТСМЕНОВ**

**С.Г. Кривошеков** *НИИ физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия*

Одним из важнейших условий функционирования органов и тканей организма, является необходимость их непрерывного кислородного снабжения и удаления углекислоты. Поскольку поддержание газового гомеостаза при изменении внешних условий является приоритетной задачей организма, научный и практический интерес имеет выделение наиболее характерных типов хеморефлекторных ответов у спортсменов. Было проведено исследование характерных типов хеморефлекторных ответов в кардиореспираторной системе на основе анализа данных для здоровых молодых мужчин, обследованных с использованием гипоксического, гиперкапнического и велоэргометрического тестов, и привязки их к отдельным видам спортивной тренировки. Установлено, что процесс формирования новых нейро-висцеральных взаимодействий находит отражение в динамике специфической реактивности ответов висцеральных систем организма на гипоксическое воздействие, которое зависит от характера индивидуального тренировочного процесса. Раздражение периферических хеморецепторов при пролонгированной плавной нарастающей ингаляционной гипоксии вызывает преимущественно кардиальную ответную реакцию. Избирательное раздражение хеморецепторов при ингаляционной нарастающей гиперкапнии в условиях повышенной концентрации кислорода, наоборот, вызывает преимущественно вентиляторный ответ системы внешнего дыхания. Выявляется четыре основных типа хеморефлекторного реагирования в звеньях кардиореспираторной системы (системы дыхания на гиперкарбию и сердечной функции на гипоксемию): слабое для обоих звеньев (1 тип), слабое для реакции сердца и сильное для дыхания (2 тип), сильное для реакции сердца и слабое для дыхания (3 тип), сильное для обоих звеньев (4 тип). Каждый из типов хеморефлекторного реагирования кардиореспираторной системы специфичен для определенных видов спортивной тренированности: 1 тип – плавание, 2 и 3 типы – лыжные гонки, 4 тип – бокс, штанга, борьба. Для группы физически нетренированных лиц выявляется резко выраженная индивидуальная вариабельность хеморефлекторных ответов системы дыхания и сердечной функции в гиперкапническом и гипоксическом тестах, что может быть использовано для персонализированных рекомендаций по предпочтительному выбору вида спортивных занятий.

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ СПЕЦИАЛЬНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СПОРТСМЕНОВ**

**Ю.П. Денисенко, Л.Г. Яценко** *Набережночелнинский государственный педагогический университет, Набережные Челны; Санкт-Петербургский государственный технологический университет растительных полимеров, Санкт-Петербург, Россия*

Тенденции профессиональной деятельности последних лет связаны с неуклонным ростом физических и эмоциональных нагрузок. Следствием этого часто выявляются нарушения в работе регуляторных механизмов, что существенно снижает уровень физической работоспособности и может приводить к различным неблагоприятным вегетативным сдвигам в состоянии здоровья. Актуальной становится проблема обеспечения эффективной подготовки спортсменов в экстремальных условиях деятельности и создания функциональных предпосылок сохранения здоровья. В последнее время среди нетрадиционных средств воздействия на функциональное состояние организма человека пристальное внимание уделяется методикам миорелаксации. Значение функции расслабления мышц в спортивной и трудовой деятельности человека трудно переоценить. Нами проведены многолетние исследования, доказывающие ведущую роль тормозных систем ЦНС и скорости произвольного расслабления скелетных мышц в важнейших проявлениях жизнедеятельности целостного организма: в механизмах срочной и долговременной адаптации к большим физическим, гипоксическим и гипертермическим нагрузкам; в механизмах специальной физической работоспособности (СФР); в механизмах перенапряжений, травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата. Для контроля за сократительными и релаксационными характеристиками скелетных мышц, нами использовался метод

компьютерной полимиографии, разработанный Ю.В. Высочиным. В проведенных нами сериях экспериментов, в которых участвовало 600 спортсменов различной квалификации и разных специализаций, была установлена прямая высокодостоверная зависимость специальной физической работоспособности и, естественно, спортивных результатов от скорости произвольного расслабления (СПР) скелетных мышц. Перечисленные факты, на наш взгляд, достаточно значимы для понимания той важной роли, которую играет миорелаксация в росте СФР во всех видах спортивной деятельности, поскольку в каждом из них проявляются повышенные требования либо к скорости, скоростной выносливости, координированности, либо к различным сочетаниям этих качеств, находящихся в прямой взаимосвязи с СПР мышц. Поэтому необходима разработка принципиально новой комплексной системы специальной физической и функциональной подготовки.

#### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА СПОРТСМЕНОВ**

**Л.Г. Яценко, Ю.П. Денисенко** *Санкт-Петербургский государственный технологический университет растительных полимеров, Санкт-Петербург; Набережночелнинский государственный педагогический университет, Набережные Челны, Россия*

Проблемы устойчивости к физическим перегрузкам в экстремальных условиях спортивной деятельности относятся к числу наиболее актуальных проблем современной спортивной физиологии и медицины. Современная наука располагает множеством других фактов, свидетельствующих о чрезвычайно высокой вариативности индивидуальной устойчивости человека к различным факторам окружающей среды. Нами экспериментально доказано, что активизация релаксационных механизмов системы защиты (РМСЗ) организма обеспечивает возникновение эффекта экстренного повышения работоспособности. Установлено также, что по функциональной активности, или мощности РМСЗ, все испытуемые подразделяются по крайней мере на три типа (с высокой, средней и низкой) и что именно величина активности РМСЗ, оцениваемая по степени прироста в скорости произвольного расслабления мышц (СПР), предопределяет индивидуальный уровень устойчивости при срочной адаптации к физическим нагрузкам и другим факторам среды. При обобщении совокупности литературных и наших экспериментальных данных удалось определить главное стратегическое направление в решении проблемы повышения эффективности подготовки спортсменов – всестороннее совершенствование релаксационных характеристик мышц и целенаправленное формирование релаксационного типа долговременной адаптации (РТДА). И как следствие – обосновать основные пути и принципы построения специальной релаксационной подготовки, направленной на повышение эффективности тренировочного процесса на всех этапах становления спортивного мастерства. Под эффективностью двигательной деятельности мы понимаем достижение наивысших уровней специальной физической работоспособности при полном сохранении и улучшении состояния здоровья спортсменов. В связи с этим нами были разработаны основные принципы построения комплексной системы специальной релаксационной подготовки. При использовании релаксационной подготовки мы посчитали целесообразным использовать именно те факторы и средства, которые вызывают повышение СПР мышц, а значит, и целенаправленное формирование РТДА.

#### **ОБ ИЗМЕНЕНИИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЦА ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ НЫРЯТЕЛЬНОГО РЕФЛЕКСА У ЧЕЛОВЕКА**

**Л.Б. Заварина, Т.И. Баранова, Д.Н. Берлов** *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Погружение под воду без акваланга на задержанном дыхании в последнее время все больше привлекает не только спортсменов, но и людей, не имеющих специальной подготовки (рекреационный фридайвинг). В связи с этим необходимо обратить внимание на физиологические особенности функционирования организма человека под водой, а в наибольшей степени – на работу сердца как органа, обеспечивающего кислородом весь организм в условиях гипоксии ныряния. Нетренированный человек может пробыть под водой не больше 1 минуты, а спортивные мировые рекорды статического апноэ достигают 12 минут. Сбережению кислорода в условиях отсутствия внешнего дыхания под водой помогает реализация нырятельного рефлекса, основные компоненты которого – это остановка дыхания при воздействии воды на рецепторы, брадикардия, вазоконстрикция на периферии и преимущественное направление кровотока к головному мозгу и сердцу как жизненно важным органам. Замедление сердечного ритма под водой у некоторых спортсменов-фридайверов достигает 6–10 ударов в минуту. Однако подобный результат может быть получен и в лабораторных условиях. В этом случае реализация нырятельного рефлекса достигается при помощи функциональной пробы с имитацией ныряния, которая заключается в задержке дыхания с одновременным погружением лица в холодную воду (simulated human diving); при этом также регистрируются изменения в работе сердечно-сосудистой системы. Нами обследовано 80 человек в возрасте 18–20 лет. Функции сердца изучали методами ЭКГ и осциллометрическим измерением АД. ЭКГ и АД регистрировали в состоянии покоя, при имитации ныряния и в восстановительном периоде. ЭКГ регистрировали в положении лежа в стандартных и грудных отведениях. Для оценки электрической активности сердца во II стандартном отведении анализировали предсердный и желудочковый комплекс, диастолу, а также амплитуду зубцов P, R, T. По типу выраженности нырятельного рефлекса обследуемые были разделены на 4 группы: высокореактивные, реактивные, ареактивные, парадоксальные. Анализ динамики АД выявил его увеличение у всех обследованных при выполнении функциональной пробы. Проанализированы амплитудно-временные параметры ЭКГ и выявлены изменения хронотропной функции сердца и проведения в миокарде, отличающиеся у лиц с разной степенью выраженности нырятельного рефлекса.

#### **АДАПТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА РЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ РАЗЛИЧНЫХ ПОЛОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП**

**С.В. Погодина** *Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия*

Цель. Изучить адаптационные свойства реактивности организма высококвалифицированных спортсменов различных половозрастных групп для дифференциации групп с напряжением компенсаторно-приспособительных механизмов на уровне стресс-реализующих звеньев. Методы. В группах высококвалифицированных спортсменов мужчин юношеского, первого и второго зрелого возраста, представителей видов спорта с преимущественным развитием аэробной («выносливость») и силовой выносливости («сила»), высококвалифицированных спортсменок, имеющих ановуляторный (АМЦ) и овариально-менструальный (ОМЦ) цикл изучали содержание стероидных гормонов, показатели вариабельности ритма сердца, гемодинамики, вентилирования и газообмена, антропометрические параметры. Применяли иммунологический, пульсометрический, реографический, спиропневмотахометрический, термохимический, велоэргометрический методы. Результаты обработаны статистически. Результаты. В организме мужчин отмечено усиление, а у спортсменок ослабление ответных реакций на уровне гормонального и



неспецифического звеньев адаптации. Снижение устойчивости глюкокортикоидной реакции выявлено в динамике ОМЦ. У мужчин в юношеском и первом зрелом возрасте установлена изменчивость вегетативного профиля, обусловленная влиянием кумулятивных эффектов. Во втором зрелом возрасте вегетативный профиль имел однородный характер с нетренированными сверстниками. Устойчивость вегетативного контроля структуры кардиогемодинамической реакции в условиях субмаксимальной нагрузки в группе «выносливость» выше. В организме спортсменов основные различия в вегетативном профиле обнаружены в первой половине МЦ. В динамике ОМЦ преобладает парасимпатическая активность, в динамике АМЦ – симпатическая. Вторая половина МЦ у всех спортсменов связана с усилением спектра сверхвысококачественной составляющей. Вегетативный контроль структуры кардиогемодинамической реакции в динамике ОМЦ выражен сильнее. В организме мужчин устойчивость дыхательных показателей и способность усиливать газообмен в юношеском и втором зрелом возрасте преобладает в группе «выносливость». В первом зрелом возрасте эффективность вентиляторной реакции при малой и средней мощности работы выше в группе «сила». В организме спортсменов отмечается однородность вентиляторной реакции. Вентиляторные сдвиги усилены во второй половине МЦ. В динамике АМЦ выявлена высокая степень изменчивости показателей газообмена.

### **ТЕСТИРОВАНИЕ ПОСТУРАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У СПОРТСМЕНОВ-ЛУЧНИКОВ ВЫСОКОЙ КВАЛИФИКАЦИИ**

**Р.Н. Семенюк** МГУ им. М.В. Ломоносова Инновационный центр Олимпийского комитета, Москва, Россия

В стрельбе из лука выстрел является результатом выполнения комплекса сложнокоординационных двигательных действий, при этом именно способность стабильно совершать меткий выстрел в десятку отличает спортсмена высшей квалификации от менее квалифицированного спортсмена. Стабильность в данном случае обеспечивается за счет умения стрелка выстрел за выстрелом, обеспечивать оптимальное функциональное состояние. Многообразие современных научных приборов дает возможность проанализировать отдельные составляющие индивидуального для каждого спортсмена оптимального функционального состояния. В тестировании постуральной устойчивости приняли участие 6 спортсменов лучников с квалификацией не ниже мастера спорта. Стабилографические показатели регистрировали с помощью прибора «Стабилан 01-2» во время выполнения теста «Допусковый контроль» каждый день утром и вечером. Анализ стабилографических показателей проводили в программе StabMed 2.0. Ежедневное тестирование показало, что европейская постановка стопы на платформе является непривычной и неудобной для спортсменов лучников, и что это снижает результативность теста. Однако в дальнейшем идет привыкание, и стабильность поддержания позы улучшается, как у спортсменов с хорошей устойчивостью, так и у спортсменов с высокой. Измерение распределения давления между стопой и опорой проводили при помощи современной системы Pedar непосредственно во время тренировки. В обуви спортсмена размещали тонкие эластичные стельки, снабженные датчиками и реагирующими на давление. В программе Pedar анализировали распределения веса по стопе в процентах в течение 3х секундного интервала перед выстрелом на 3 метра и на 70 метров. Были выявлены особенности распределения веса между стопой и опорой для каждого спортсмена и даны рекомендации по улучшению стойки исходя из литературных данных (Кисик Ли, 2009) и рекомендаций тренеров. При корреляционном анализе результативности и процента распределения веса по стопе зависимости выявлено не было. По итогам работы было показано, что сочетание данных методик является оптимальным для развития у спортсменов навыка стабильного поддержания позы, необходимого для успешной соревновательной деятельности.

### **ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У БАСКЕТБОЛИСТОВ В УСЛОВИЯХ ВЫПОЛНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ**

**Р.М. Багирова** Азербайджанская государственная академия физической культуры и спорта, Баку, Азербайджан

Целью нашего исследования явилось – определение динамики изменения картины крови у высококвалифицированных баскетболистов до и после физической нагрузки. Результаты проведенных исследований показали, что количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина в периферической крови после физической нагрузки увеличивается у всех спортсменов, а через 30 мин отдыха возвращается к исходному уровню в покое. Однако определение объема циркулирующих эритроцитов, общего количества гемоглобина и объема циркулирующей плазмы показало, что если первые 2 показателя практически не меняются, то последний существенно уменьшается во время нагрузки и возвращается к исходному уровню после отдыха. Это позволяет предположить, что сдвиги в количестве эритроцитов и гемоглобина при физической нагрузке происходят в результате изменения соотношения между постоянным объемом циркулирующих эритроцитов и уменьшающимся объемом циркулирующей плазмы. Следует отметить, что после отдыха показатели периферической крови и объем циркулирующей плазмы возвращаются к исходным значениям. Изменение лейкоцитарной формулы и количества лейкоцитов при физической нагрузке, также частично, происходит за счет уменьшения объема циркулирующей плазмы, однако главной причиной является повышение скорости кровотока. Под влиянием физической нагрузки увеличиваются количество тромбоцитов, агрегация как тромбоцитов, так и эритроцитов. Проведенные нами исследования выявили определенную взаимосвязь между уровнем функционального состояния и агрегацией тромбоцитов и эритроцитов. Так, под влиянием физической нагрузки у лиц с недостаточно высоким уровнем функционального состояния отмечалось значительное увеличение указанных показателей, что связано, по-видимому, с нарушениями в системе микроциркуляции. Таким образом, под влиянием физической нагрузки в периферической крови спортсменов наблюдаются эритро-, тромбо- и лейкоцитоз, изменение лейкоцитарной формулы, степень выраженности которых зависит от мощности и интенсивности нагрузки. Однако при оценке этих изменений необходимо учитывать, что степень их изменений, прежде всего, зависит от соотношения объема циркулирующих эритроцитов и объема циркулирующей плазмы. Поэтому оценку показателей периферической крови следует проводить с учетом возможного изменения последних.

### **АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА IL-15R-АЛЬФА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА У ВЫСОКОТРЕНИРОВАННЫХ МУЖЧИН И ЖЕНЩИН**

**Ю.Л. Масленникова** Рыбинский государственный авиационный технический университет имени П.А. Соловьёва, Рыбинск, Россия

Изучали особенности полиморфных вариантов гена IL-15R-альфа и количественные характеристики популяции клеток Т-системы у высокоотренированных мужчин и женщин. Группу спортсменов составили лица, регулярно получающие нагрузку аэробной направленности (КМС, МС, МСМК в лыжных гонках, кросс, марафонский бег, горный бег) в возрасте от 18 до 29 лет (n=66); контрольная группа – студенты основной группы без специально организованной двигательной активности (n=25, рост 169,6±3,3 см., масса тела 67,32±2,02 кг.). У всех обследованных лиц определяли величину максимального потребления

кислорода (МПК и МПК/МТ), иммунологические характеристики в венозной крови методом проточной цитометрии на лазерном цитофлюориметре FACS – Калибур (фирмы Бэктон-Диккинсон, США); ДНК выделяли из образцов венозной крови, амплификацию проводили с помощью амплификатора «Терцик», замены одиночных нуклеотидов определяли с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия). Определяли полиморфные варианты гена интерлейкина-15 рецептор-альфа (IL-15R-альфа). Проведённое исследование показало, что напряжённая аэробная работа приводит к большим абсолютным и относительным значениям МПК, но сопровождается напряжением механизмов иммунологической защиты. Анализ аллельного состава полиморфных маркеров гена IL-15R-альфа показал, что в группе высокоотренированных мужчин достоверных различий по данному полиморфизму не обнаружено, но зафиксированы маркеры нестабильности и напряжённости иммунологической защиты, за счёт повышенной активности гуморального звена. В то время как в группе высокоотренированных женщин с большим спортивным стажем достоверно чаще (на 23 %) встречается гетерозиготный вариант (АС) так называемого «гена выносливости» IL-15R-альфа, гена, способного активировать пролиферацию Т-лимфоцитов и естественных киллеров, но отмечается меньшая активности клеточного компонента иммунитета. Таким образом, можно предположить связь между наличием АС варианта гена IL-15R-альфа и оптимальным иммунологическим ответом у высокоотренированных женщин с длительной спортивной карьерой в видах спорта аэробной направленности. И, напротив, меньшая встречаемость варианта АС гена IL-15R-альфа у мужчин сопровождается повышенной иммунологической защитой в пределах референсного интервала.

### **ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ В НОРМЕ И НА ФОНЕ ДОБАВОК СЕЛЕНА**

**С.Э. Агаева**

*Государственная академия физической культуры и спорта, Баку, Азербайджан*

В работе исследовалась активность фермента глутатионпероксидазы (ГПО) в субклеточных фракциях (митохондриях и цитозоли) скелетных мышц у крыс при острых и хронических физических нагрузках. Опыты проводились на животных, которые были подвержены регулярным физическим нагрузкам в течение 4-х недель 5 дней в неделю (бег в барабане со скоростью 25 м/мин, 30 мин/день) и не подверженных таким нагрузкам в качестве контрольных. В аналогичных условиях эксперимента также исследовалось влияние добавок селена на субклеточную активность ГПО в скелетных мышцах. Группы животных с селеновой нагрузкой получали в течение 4-х недель (период физических тренировок) перорально 2,5 мкг/кг веса селена в виде водного раствора (суспензии) биодобавки селен-актив 1 раз в день. Результаты показали, что под влиянием тренировочных нагрузок отмечается проявление индуцируемой однократной нагрузкой активности ГПО в митохондриальной фракции белой и красной мышц (*m.gastrocnemius*). Базовая ГПО-активность цитозольной фракции, соответствующая состоянию покоя, в белой мышце с тренировками повышается, но реакция на острую нагрузку не проявляется. В красной мышце базовый уровень цитозольной активности ГПО не меняется, однако индукция острой нагрузкой имеет место. Не обнаружено изменений активности ГПО в скелетных мышцах под действием физических нагрузок на фоне добавок селена у нетренированных животных. У тренированных животных селеновая диета приводит к повышению базовой активности ГПО митохондриальной фракции белой и красной мышц. Результаты указывают на то, что роль ГПО в антиоксидантной адаптации скелетных мышц к физическим нагрузкам может быть охарактеризована с учетом скоростных качеств мышц и субклеточной принадлежности фермента. Повышение базовой активности ГПО в митохондриальной фракции белой и красной мышц только в тренированном организме можно объяснить тем, что адаптационный ответ на регулярные тренировочные нагрузки требует увеличения ГПО-активности в этих тканях и, как следствие, растет необходимость в дополнительном количестве принимаемого селена. Повышение активности фермента только в митохондриальной фракции указывает на то, что распределение этого микроэлемента в субклеточных компартментах неоднородно.

### **ПРОФИЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИММЕТРИИ – АСИММЕТРИИ КАК ФАКТОР ЭФФЕКТИВНОЙ АДАПТАЦИИ СПОРТСМЕНА**

**Е.М. Бердическая, Т.В. Крайнова, А.Ю. Мишенин, А.А. Тамбовцева, А.С. Тришин, Е.С. Тришин, Л.В. Черенкова, И.Н. Швыдченко** *Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Краснодар, Россия*

Принципиально важно, что у спортсменов высокой квалификации оптимальная адаптация наблюдается при использовании нагрузок, ориентированных на максимальное развитие генетически обусловленных индивидуальных задатков. Специалисты в области молекулярной генетики спорта признают, что первое место занимают генетические особенности центральной нервной системы. Поэтому стратегической целью наших исследований является выяснение наиболее типичных вариантов индивидуального профиля функциональной асимметрии (ИПА) у спортсменов, специализирующихся в различных видах спорта, и сопутствующей им специфике психофизиологических характеристик, вегетативной реактивности, параметров поддержания вертикальной позы и ее центральной организации за счет межполушарного и внутриполушарного взаимодействия. Показано, что для художественной, спортивной и эстетической гимнастики, пулевой стрельбы, гребли на каноэ, греко-римской борьбы, настольного тенниса, баскетбола характерен «узкий» спектр вариантов ИПА, подтверждающий элиминацию неадекватных вариантов. Этот выбор разнообразен и определяется, прежде всего, спецификой требований к симметрии – асимметрии двигательной деятельности. Он сопровождается особенностями морфо-функциональных, регуляторных и психофизиологических характеристик. Следует отметить, что одним из важнейших методологических требований к исследованиям влияния симметрии–асимметрии на различные физиологические характеристики человека является проведение их в выборках, предельно четко структурированных по характеру сенсомоторного профиля асимметрии. Спектр ИПА, адекватный потребностям избранного вида спорта, формируется, видимо, путем сочетания многолетнего спортивного эмпирического отбора лиц со сходными генетическими сетями и долговременной адаптации к специфике тренировок. Многолетние исследования продемонстрировали, что своевременный учет профиля асимметрии начинающего спортсмена и его ранняя индивидуальная коррекция может изменить степень сенсомоторного доминирования. Это служит научным обоснованием для дальнейшего совершенствования состава и технологии применения комплекса специальных упражнений с целью уменьшения или увеличения асимметрии двигательных навыков у юных спортсменов.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ БАСКЕТБОЛИСТОВ В ГОДИЧНОМ ТРЕНИРОВОЧНОМ ЦИКЛЕ****Р.М. Багирова, Г.Р. Мамедова, Г.Г. Гусейнова, М.А. Гасанова***Азербайджанская государственная академия физической культуры и спорта, Баку, Азербайджан*

Целью нашего исследования явилось – провести сравнительный анализ функциональной работоспособности баскетболистов в годичном тренировочном цикле (подготовительном, соревновательном и переходном периодах) по абсолютному показателю PWC170. Сравнительный анализ уровня физической работоспособности на различных этапах годичного цикла показал, что в соревновательный период отмечалась тенденция его повышения на 10% по сравнению с подготовительным и понижение его значений в переходном периоде на 6% относительно подготовительного периода и 15% относительно соревновательного. Аналогичная картина отмечалась и в отношении МПК. Так, относительные показатели МПК повышались в соревновательный период на 20%, относительно подготовительного и отмечалась тенденция ее понижения относительно соревновательного периода на 30%, а подготовительного на 17%. Показатели физической работоспособности по данным тестирования выявили тенденцию их ухудшения к концу соревновательного и завершающему переходному периоду, что свидетельствует о снижении эффективности игровой деятельности и наступлению утомления. Средние показатели ЧСС покоя в наших экспериментах варьировали в пределах 60-80 ударов в минуту, при этом АД составляло в среднем 115/70. В первые минуты после выполнения теста PWC170 ЧСС и АД повышались и составляли соответственно: 110-160 ударов в минуту и 140/80. Прирост ЧСС составлял 83-100%, а АД 14-21%. Следует отметить, что в различные периоды годового цикла эти показатели несколько отличались. Так отмечалось некоторое повышение ЧСС и АД в соревновательном периоде годового цикла и значительное понижение его в переходном периоде. Сравнительный анализ уровня физической работоспособности на различных этапах годичного цикла показал, что в соревновательный период отмечалась тенденция его повышения по сравнению с подготовительным и понижение его значений в переходном периоде

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАЖА СЛУЖБЫ У СОТРУДНИКОВ МЧС****Н.Ю. Власенко<sup>1</sup>, Е.А. Евстифеева<sup>1</sup>, С.И. Филиппченкова<sup>1</sup>, И.И. Макарова<sup>2</sup>, А.В. Аксенова<sup>2</sup>** *<sup>1</sup>Тверской государственный технический университет Минобрнауки РФ; <sup>2</sup>Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, Тверь, Россия*

Цель работы – исследование особенностей вариабельности сердечного ритма (ВСР) у 240 пожарных-спасателей Тверской области (возраст 25 – 47 лет) со стажем службы 1-25 лет. Были выделены три группы: первая (n=82) – 1–6 лет службы (период профессиональной адаптации); вторая (n=70) – 7–15 лет (этап устойчивого профессионализма); третья (n=88) – 16–25 лет (период возможного формирования синдрома профессионального выгорания). Режим службы испытуемых – одни рабочие и три сутки отдыха. Исследование проводилось утром в начале рабочей смены. Сердечный ритм регистрировался на комплексе «Кредо» («ДНК и К», Россия). Учитывали индекс напряжения (ИН, отн.ед.) и параметры спектрального анализа ритма: общую мощность волн (TF, мс<sup>2</sup>) и относительный вклад высокочастотных (HF), низкочастотных (LF), очень низкочастотных (VLF) волн в общий спектр (%). Оценивали значимые различия средних на уровне p<0,05. В целом среднее ИН составило 68,8±12,4 отн.ед (норма 80 – 140 отн.ед.). У 43 пожарных (18%) ИН находился в пределах нормы, а у 113 (47%) и 84 (35%) – ниже и выше нормы соответственно. У лиц с нормальным ИН: TF – 3400±330 мс<sup>2</sup> (норма 3466±1018 мс<sup>2</sup>), HF – 23–29% (норма 15–25%), LF – 38–45% (норма 35–40%), VLF – 10–17% (норма 15–35%). С низким ИН: TF – 8770±680 мс<sup>2</sup>, HF – 65–75%, LF – 13–18%, VLF – 2 – 7%. С высоким ИН: TF – 950±98 мс<sup>2</sup>, HF – 10–17%, LF до 47–55%, VLF – 23–30%. Таким образом, у 47% пожарных обнаружен вагусный тип регуляции с автономным энергосберегающим контуром управления и потенциально высоким адаптационным потенциалом, но возможно низким тономом функционального состояния. У 35% – симпатический и надсегментарный тип с центральным контуром управления со сниженными ресурсами и большими энергозатратами. Лишь у 18% – сбалансированный тип. Средние ИН в первой и третьей группах находились значимо ниже показателя второй и нормативных параметров. В первой группе обнаружено парадоксально низкие параметры TF и всех его составляющих. Вероятно, разноректорность результатов отражает сложный характер адаптации. Во второй они соответствовали нормативным. В третьей оказались в пределах нормы, однако обнаружено значимое уменьшение HF и повышение LF по сравнению со второй группой, что расценивается как снижение ресурсов организма на последнем этапе службы.

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ****С.А. Авдюшенко, В.П. Ганапольский, М.К. Ржепецкая***Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия*

В физиологии военного труда большое внимание уделяется вопросам безопасности профессиональной деятельности, однако показатели травматизма, заболеваемости и гибели остаются достаточно высокими. Особенностью военно-профессиональной деятельности являются неблагоприятные и экстремальные условия, негативно влияющие на организм человека (напряженная физическая деятельность, гипоксия, жаркий или холодный климат и др.). Одним из вариантов сохранения уровня работоспособности при действии различных эколого-профессиональных факторов может быть комплектование подразделений с учетом устойчивости организма военнослужащего к подобным факторам. В настоящее время комплектование подразделений определяется на основе проведения мероприятий профессионального отбора – диагностике уровня профессиональной пригодности человека к работе по заданной специальности путем определения соответствия требований конкретной специальности индивидуальным качествам кандидата. В существующей системе профессионального отбора соответствие физиологических возможностей кандидата требованиям военной профессии не предусматривается. Индивидуальные физиологические качества напрямую влияют на выполнение профессиональной деятельности, поэтому предлагается ввести термин физиологические профессионально важные качества, которые представляет собой характеристику наличия физиологических возможностей организма специалистов, необходимых для эффективного выполнения профессиональной деятельности, прежде всего, при действии различных эколого-профессиональных факторов. В перечень физиологических профессионально важных качеств предлагается включить: устойчивость к физическим нагрузкам; устойчивость к гипоксии; устойчивость к

жаре; устойчивость к холоду; устойчивость к повышенному давлению; устойчивость к угловым ускорениям; устойчивость к гравитационным перемещениям и устойчивость к шумовым воздействиям.

### **ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА И РАБОТОСПОСОБНОСТИ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ТЕМПЕРАТУРНО-БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ**

**В.Н. Сысоев, К.Ю. Марцынишина, В.Ю. Игнатъева, Д.Ю. Будко, Е.Н. Плохотюк**  
*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.*

Цель исследования – совершенствование методов экспресс-диагностики неблагоприятных изменений функционального состояния организма (ФС) специалистов, занятых умственным трудом, сопряженным с высоким нервно-эмоциональным напряжением. Оценивали годовую динамику ФС организма специалистов. Исследования проводили в течение последней недели каждого месяца годового рабочего цикла. Для характеристики порогов температурно-болевого чувствительности (ПБ) использовали модифицированный термочувствительный тест, который проводили с применением отечественного аппарата «Рефлексомастер». Анализировали взаимосвязь ПБ с другими показателями всех уровней ФС организма. В исследовании участвовали 34 мужчины в возрасте от 29 до 43 лет. Определено, что ПБ незначительно повысился к концу первого месяца и практически не изменялся в последующие три месяца. В дальнейшем, начиная с пятого месяца, была отмечена тенденция к снижению ПБ, которая достигла достоверных различий ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем к восьмому месяцу. Коэффициент асимметрии порогов болевой чувствительности постепенно снижался, начиная с шестого месяца, достигнув достоверных различий ( $p < 0,05$ ) к десятому месяцу. Результаты корреляционного анализа обнаружили различные по направлению и силе связи ПБ с ФС организма. Выявлена отрицательная связь между порогом болевой чувствительности и ЧСС ( $r = -0,68$ ), САД ( $r = -0,67$ ), МОК ( $r = -0,61$ ), индексами Робинсона ( $r = -0,53$ ) и Рида ( $r = -0,59$ ), реактивной тревогой ( $r = -0,65$ ). Обнаружена положительная связь с показателем качества профессиональной деятельности ( $r = 0,60$ ) и КЧСМ ( $r = 0,51$ ). Эти данные указывают на взаимосвязь болевой чувствительности со всеми уровнями ФС организма. Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что степень относительного изменения ПБ в различные периоды годового рабочего цикла позволяет прогнозировать динамику функционального состояния организма и работоспособности, а, в дальнейшем, диагностировать начальные проявления хронического утомления.

### **К ИЗУЧЕНИЮ СВЯЗИ МЕЖДУ ИММУННЫМИ И ЛИПИДНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У СПОРТСМЕНОВ**

**С.С. Алибекова** *Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Государственная академия физической культуры и спорта, Баку, Азербайджан*

Постоянные высокие нагрузки могут приводить к перенапряжению в разных органах и системах у спортсменов и, следовательно, снижению их адаптивных возможностей. Важнейшей проблемой адаптации к интенсивной мышечной деятельности является сохранение основных биохимических и физиологических параметров гомеостаза организма в тех границах, в которых еще возможно полное регулирование функций органов и систем. Данные о влиянии обмена липидов на иммунную реактивность противоречивы; некоторые результаты указывают на метаболическую иммунодепрессию, другие характеризуются активацией иммунной системы. Взаимосвязь между продуктами обмена липидов и иммунными показателями представляет особую важность для биохимии спорта. Липидный профиль крови широко изучается в связи с сердечно-сосудистыми рисками, что также важно для спортивной деятельности. Для коррекции липидных показателей, в частности, уменьшения «плохого», повышения «хорошего» холестерина, люди обращаются к спорту. Однако, при этом, не учитывается то, что физические нагрузки влияют на иммунную резистентность организма, и это зависит еще и от вида спорта. Отсюда задача выявления вероятной корреляции между изменениями метаболического и иммунного процессов становится необходимой. Следовательно, сравнительное изучение динамики липидного спектра и состояния иммунной системы спортсменов в различных видах спорта в ходе тренировочно-соревновательного процесса может иметь как фундаментальное, так и прикладное значение, особенно, для проблемы адаптации к спортивной деятельности высоких достижений, но и для процессов дезадаптации. Предложенная цель может быть достигнута выполнением следующих задач: оценка динамики функционального состояния, липидного профиля (уровней общего холестерина, триглицеридов, HDL, LDL, VLDL) сыворотки, иммунных показателей крови (количества лейкоцитов, лимфоцитов, концентраций А, М, G-иммуноглобулинов и CRP) и общей оксидантной и антиоксидантной активности в крови у спортсменов – борцов на разных этапах тренировочно – соревновательного процесса – общеподготовительном, тренировочном, предсоревновательном и соревновательном периодах. Полученные результаты будут полезными для того, чтобы избежать несоответствий между функциональной подготовленностью спортсмена и иммунной резистентностью его организма.

### **СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА» У КОНЬКОБЕЖЕК В ТЕЧЕНИЕ ГОДИЧНОГО ТРЕНИРОВОЧНОГО ЦИКЛА**

**Е.И. Львовская, Н.А. Буторина, И.В. Мартыненко**

*Уральский государственный университет физической культуры, Челябинск, Россия*

Стресс любой природы, в том числе и гиперкинетический, сопровождается повышенным образованием в тканях активных форм кислорода, развитием окислительного стресса. Обследованы в состоянии высокой тренированности конькобежки – спринтеры и многоборки 18-23 лет, имеющие высшую спортивную квалификацию. Продукты ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах слюны определяли спектрофотометрическим методом по Волчегорскому И. А. с соавт. (1989), интенсивность индуцированного ПОЛ по Львовской Е. И. (1998). Антиокислительную активность – по Волчегорскому И. А. с соавт. (1989). У спортсменов выявлено более высокое содержание продуктов ПОЛ в покое, особенно, гептанфильных липопероксидов, по сравнению с контролем и снижение показателей АОС (на 28,521-82,6% у спринтеров и до 93,6% у многоборков). В среднем содержание липопероксидов было выше у многоборков (на 117,16%), а показатели АОС – у спринтеров (на 5,4 – 8,9%). Содержание липопероксидов и показатели АОС изменялись по тренировочным периодам: у женщин-многоборков содержание гептанфильных и первичных изопропанолрастворимых продуктов увеличилось к специально-подготовительному периоду, затем уменьшилось в соревновательный период, а содержание вторичных изопропанолрастворимых продуктов уменьшалось на

протяжении всего тренировочного цикла; у спринтеров – снижение содержания гептанофильных и увеличение изопропанолрастворимых продуктов ПОЛ в базовый период, и повышение концентрации гептанофильных и вторичных изопропанолрастворимых продуктов при уменьшении концентрации первичных изопропанолрастворимых в соревновательный период. Показатели антиокислительной активности и окисляемости липидов имели одинаковую динамику – уменьшались к специально-подготовительному периоду и увеличивались в соревновательный период. Система ПОЛ-АОЗ адаптируется не к физической нагрузке вообще, а к конкретному виду мышечной деятельности. Направленность тренировочного процесса существенно влияет на ее состояние, т. к. адаптивные изменения в метаболизме, свойственные разным видам спорта, носят специфический характер.

### **ПРОЯВЛЕНИЕ ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕХАНИЗМОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ПРОЦЕССЕ УРОЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

**Н.П. Абаскалова, Э.М. Казин, А.С. Шинкаренко** *Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск; Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

В исследованиях ряда авторов особенностей межуровневых взаимосвязей в системе психической саморегуляции у детей с разными типами вегетативного регулирования показано, что для ваготоников оптимальное состояние регуляторных систем с минимальными затратами функциональных резервов создают условия для развития гармоничной системы произвольной саморегуляции; у симпатотоников процессы произвольной саморегуляции реализуются на фоне психического, эмоционального и функционального перенапряжения; у эйтоников пластичность регуляторных процессов нейро – и психофизиологического уровней создает предпосылки формирования гармоничной системы произвольной саморегуляции. В работе анализировался комплекс нейродинамических показателей с помощью автоматизированного программно-технического комплекса «Статус-ПФ» и изучались функциональные возможности и конституциональные особенности вегетативной регуляции сердечного ритма с использованием автоматизированной кардиоритмографической программы «Орто». Сопоставляя полученные данные с уровнем функционального состояния учащихся, следует подчеркнуть, что у младших подростков наибольший процент лиц со значительным напряжением механизмов физиологической адаптации отмечается у «симпатотоников» (57,2%), тогда как оптимальное функциональное состояние в большем числе случаев регистрируется либо у лиц с высокой парасимпатической активностью, либо у «нормотоников». Данная тенденция сохраняется и у старших подростков, но в связи с увеличением объема учебной деятельности, оптимальное функциональное состояние выявляется лишь в редких случаях (5%), тогда как школьники эйтонического типа демонстрируют сбалансированный уровень функционального напряжения в 100% случаев. Показано, в частности, что у девятиклассников характер и выраженность способов поведения, помогающего школьникам справиться с ситуационным стрессом, в значительной мере определяется типом исходного вегетативного тонуса: с увеличением активности парасимпатической нервной системы возрастает балл разрешающего поведения, тогда как в случае с доминированием симпатических воздействий на висцеральную сферу увеличивается уровень избегания. Таким образом, выявлена существенная зависимость состояния физиологической адаптации у обучающихся от исходного типа вегетативного тонуса.

### **ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ УЧАЩИХСЯ НАЧАЛЬНЫХ КЛАССОВ С ДЕПРИВАЦИЕЙ СЛУХОВОЙ СЕНСОРНОЙ СИСТЕМЫ**

**О.А. Белова** *Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань, Россия*

Сохранение здоровья учащихся с особыми способностями – важнейшая проблема общества. Физическое развитие (ФР) индивидуума характеризуется основными соматометрическими показателями. Длина тела – интегральный показатель ФР. ФР учащихся начальной школы подчиняется особым закономерностям. Проанализировав средние показатели соматометрического развития учащихся с депривацией слуховой сенсорной системы за 5 лет получили, что мальчики 7-10 лет школы-интерната стали выше на 4,2см, показатели МТ увеличились на 0,4 кг, а ОГК стала меньше на 2,24см. Достоверных различий между соматометрическими показателями учащихся начальной школы не обнаружено. От первого к последнему обследованию наблюдается положительная достоверная динамика изменения ростовых процессов девочек, депривированных по слуху, по показателям роста, веса и ОГК ( $p < 0,05$ ). Эти данные подтверждаются также коэффициентами корреляции:  $r_1 = 0,87$  (рост);  $r_2 = 0,85$  (масса тела);  $r_3 = 0,71$  (ОГК). Наиболее значимые изменения соматометрических показателей отмечаются по показателю длины тела в возрасте от 9 к 10 годам. Данные величины соответствуют среднему уровню ФР. при сравнении с табличными величинами учащихся без данной патологии. При анализе соответствия ДТ – массе тела оказалось, что в 7 лет преобладает средний уровень ФР. В 8 лет картина резко меняется, возможно, на это влияет процесс адаптации в стенах школы – интерната: у 65% – среднее; у 25% – ниже среднего; у 20% – выше среднего; в 9 лет физическое развитие улучшается – у 80% – среднее; у 10% ниже среднего; у 10% – выше среднего. В 10 лет – среднее физическое развитие у 75% учениц выше среднего – у 15% и ниже среднего – у 10%. Все данные показатели соответствуют среднему ФР. мальчиков и девочек, без депривации слуховой сенсорной системы ( $p < 0,01$ ), а использование метода совокупного сочетания при оценке физического развития, где длина тела – интегральный показатель, повышает значительно надежность полученных результатов.

### **ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ШКОЛЬНИЦ В КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА**

**О.А. Ботяжова** *Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

Оценка физического развития на основе антропометрических показателей имеет большое значение для комплексного подхода в определении уровня здоровья детей и подростков. Особо пристальное внимание специалистов должны привлекать кризисные периоды онтогенеза. В ходе школьного обучения к ним относят возрастные группы 7 – и 12-16-летних детей, когда организм характеризуется изменением интенсивности процессов морфофункционального развития в новых для ребенка условиях. Цель работы: оценка физического развития школьниц 6–7, 12–13 и 16–17 лет. Установлено, что в обследованных группах школьниц длина и масса тела увеличиваются с возрастом, что свидетельствует о нормальном развитии морфометрических признаков. Наибольший достоверный прирост длины и массы тела отмечается у девочек 12–13 лет, показателя окружности грудной клетки – у 16–17-летних. Полученные данные указывают на чередование периодов интенсивных и замедленных изменений соматометрических признаков в процессе развития организма. Выявлено, что большинство учениц 12–13 и 16–17 лет

имеют пропорциональное телосложение, соответствующее возрастным нормам, у 25% 6–7-летних девочек коэффициент пропорциональности ниже нормы. В группах учениц младшего (87%) и среднего (83%) школьного возраста преобладают девочки с астеническим типом конституции. Среди 16–17-летних большую долю составляют нормостеники (80%), что хорошо согласуется с морфометрическими характеристиками в этой возрастной группе. Отмечено, что внутригрупповые антропометрические характеристики и уровень физического развития достаточно широко варьируются во всех возрастных группах, что, вероятно, связано с индивидуальными особенностями темпов развития девочек на этапах возрастных кризисов. В целом в обследованном контингенте преобладают школьницы со «средним» и «выше среднего» уровнем физического развития (57%), которые характеризуются соответствием длины, массы тела и окружности грудной клетки возрастным стандартам. Выявленную ситуацию можно считать благополучной, т.к. достоверно доказано, что дети, имеющие соответствующее возрасту физическое развитие, наиболее благополучны и по состоянию здоровья в целом.

### **НЕРВНЫЕ И ЭНДОКРИННЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ**

**М.В. Шайхелисламова, Н.Б. Дикопольская, Г.А. Билалова, Ф.Г. Ситдииков, А.В. Крылова**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Согласно принципу гетерохронии развития функциональных систем на каждом этапе онтогенеза происходит созревание именно тех нейроэндокринных механизмов, которые необходимы для обеспечения жизненных функций и оптимального приспособления организма к условиям существования, свойственным возрасту. Исключительную роль в этом играют нервные и гормональные механизмы симпатoadреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем, активно взаимодействующие в пусковых реакциях на уровне ЦНС, на этапах биосинтеза катехоламинов и кортикостероидов, в деятельности периферических вегетативных путей, на уровне мембран, ферментов и рецепторов в эффекторных органах – сердце, мышцах, сосудах. Исследовались школьники 7-15 лет, I и II групп здоровья, обучающиеся в общеобразовательных школах г.Казани. О функциональной активности регуляторных систем судили по суточной экскреции катехоламинов и ДОФА, метаболитов глюкокортикоидов и андрогенов. Возрастная динамика изучаемых параметров оценивалась по данным непрерывного наблюдения, проводимого в течение 6 лет. Проведенное исследование показало, что возрастное развитие и приспособительная деятельность детей 7-15 лет обеспечиваются сложными, взаимообусловленными реакциями симпатoadреналовой системы и коры надпочечников, направленными на удовлетворение основных метаболических и адаптационных потребностей растущего организма. Константируя наличие определенной синхронности в проявлении функциональной активности регуляторных систем, отмечается гетерохронный характер их созревания в возрастно-половых группах, а также разнонаправленная динамика экскреции норадреналина, метаболитов андрогенов и глюкокортикоидов на протяжении учебного года. Это указывает на особую роль катехоламинов и кортикостероидов в обеспечении нейроэндокринного механизма адаптационных реакций у детей 7-15 лет.

### **ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА И КАДМИЯ В ВОЛОСАХ ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ И ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ ФИЗИЧЕСКОГО И ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ**

**А.Е. Слюсаренко, Е.В. Евстафьева**

*Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Россия*

Спектр воздействий факторов окружающей среды, в частности химической природы, во многом зависит не только от концентрации и длительности экспозиции, их комбинации с другими антропогенными факторами, но и от предшествующего состояния здоровья и особенностей развития растущего организма. С целью выявления уровней в организме известных своей токсичностью свинца и кадмия у практически здоровых детей (1 год–6 лет, n=25, 1 группа) и детей с отягощенным социальным и неврологическим анамнезом (до 3 лет, n=36, 2 группа) выполнено биомониторинговое обследование. Концентрацию металлов в волосах определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Достоверных отличий в их содержании между группами обнаружено не было, однако выявлены некоторые особенности. При нормальном распределении количества металлов в волосах средние значения содержания свинца в обеих группах находились в пределах нормы: у практически здоровых детей оно составило  $3,01 \pm 0,47$  мкг/г; у детей с задержкой развития –  $3,55 \pm 2,1$  мкг/г. В то же время при индивидуальном анализе обнаружили, что у 32% здоровых детей и у 22,2% детей с нарушением развития было отмечено превышение нормативных значений содержания свинца в волосах. Содержание кадмия ( $0,73 \pm 0,13$ ) мкг/г в волосах 1-й группы детей соответствовало норме, а во 2-й группе этот металл не был выявлен. Полученные данные демонстрируют необходимость дальнейшее более углубленного изучения элементного статуса детей с разным состоянием физического и психического развития, а также его значимости для функционального состояния систем организма.

### **ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ АКТИВАЦИИ В КАРТИНЕ ЭЭГ-ПАТТЕРНА У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ПСИХИЧЕСКОГО И УМСТВЕННОГО РАЗВИТИЯ**

**О.А. Залата**

*Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Россия*

С целью установить особенности в реакции активации в картине ЭЭГ-паттерна выполнили электрофизиологическое тестирование 20 детей (9,1±1,6) лет, учащихся одной из специальных школ г. Симферополя. С учетом особенностей психического развития детей разделили на подгруппы: с задержкой психического развития (ЗПР) – 5, с умственной отсталостью (УО) – 9, с аутичными расстройствами – 6 человек. Обследование было выполнено при письменном согласии родителей или опекунов ребенка. Регистрацию ЭЭГ осуществляли в звукоизолированной комнате в положении сидя, используя две пробы (глаза закрыты и глаза открыты). ЭЭГ-потенциалы отводили монополярно от 16 локусов (Fp1/2, F3/4, F7/8, C3/4, T3/4, T5/6, P3/4, O1/2) согласно международной системе «10–20». С помощью значений медиан (Me) оценивали доленое распределение ЭЭГ-ритмов, зарегистрированных в состоянии покоя и простой сенсорной нагрузки (глаза открыты/закрыты), анализировали характер паттерна ЭЭГ детей в разных подгруппах в функциональных пробах. Внутригрупповое сравнение производили с помощью непараметрических критериев Вилкоксона, межгрупповое – U-критерия Манна-Уитни. Несмотря на то, что не зависимо от диагноза, так называемый средневольтный тип ЭЭГ-паттерна был характерен для 90 % от всех обследованных детей удалось обнаружить некоторые особенности в реакции активации обследуемых детей в подгруппах. Так, наиболее близкой к

известной реакции десинхронизации была картина ЭЭГ-паттерна у детей с диагнозом ЗПР. У них наблюдали уменьшение долевого вклада альфа-ритма при открывании глаз ( $p=0,05$ ) по сравнению с исходными данными и на уровне тенденции увеличение вклада быстро-волновых диапазонов (бета1-, бета2-). Практически без изменений в долевом соотношении ЭЭГ ритмов был переход в реакцию активации у детей с УО: депрессию альфа-ритма отметили на уровне тенденции, а медленно – и быстро-волновые диапазоны вообще не претерпели изменений. Так как у детей с диагнозом «аутизм» удалось записать ЭЭГ только при открытых глазах, выполнили межгрупповое сравнение для этого функционального состояния. В пробе «глаза открыты» у детей с аутичными расстройствами по сравнению с подгруппой детей с ЗПР были более выраженными отличия в соотношении альфа-ритма с другими ритмами ЭЭГ ( $p=0,02$ , U критерий), для детей с УО такие различия не обнаружили.

### **ЗАПОМИНАНИЕ И ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ТЕКСТОВЫХ ПРОПОЗИЦИЙ У ДЕТЕЙ С ДЦП**

**О.В. Ломтатидзе, А.С. Алексеева, С.А. Недопекин, М.М. Ицкович, В.В. Воронин**

*Уральский федеральный университет, Специальная школа-интернат №17, Екатеринбург, Россия*

Детский церебральный паралич (ДЦП) — это группа патологических синдромов, возникающих вследствие внутриутробных, родовых или послеродовых поражений мозга и проявляющихся в форме двигательных, речевых и психических нарушений, которые могут затрагивать и познавательную сферу. Согласно концепции инклюзивного образования, дети с отклонениями в развитии (ОВЗ) должны быть полностью интегрированы в систему общего образования. В связи с чем возникает вопрос об особенностях познавательной сферы у детей с ОВЗ. Пилотное исследование было проведено на выборке из 31 ребенка с синдромом ДЦП в возрасте 10–17 лет. В основе исследования лежит компьютерная методика, составленная по классическому тексту Торндайка «Остров круга», характеризующегося особым расположением слов и предложений, объединенных в четыре уровня пропозиций разной степени значимости. Текст подавался на монитор последовательно по пропозициям. Нажатие на пробел переключало на пропозицию на следующую. Время просмотра каждой пропозиции фиксировалось, так же, как и общее время прочтения текста. После прочтения текста испытуемый писал эссе, стараясь максимально полно донести содержание прочитанного. Подсчитывалось количество воспроизведенной информации по каждому уровню пропозиций, а также общий объем воспроизведенной информации. Полученные данные обрабатывались с использованием статистических методов. Согласно полученным результатам кривая воспроизведения информации по пропозициям различных уровней для детей 5–7 классов соответствует классическому распределению Торндайка: пропозиции вышележащих уровней воспроизводятся в большем объеме. Кривые воспроизведения для выборки 10–12 классов соответствует ранее полученным авторами данным по взрослой выборке испытуемых (студенты 18–22 лет, без особенностей в развитии) – полнее воспроизводятся пропозиции второго уровня. На воспроизведение пропозиций 2–4 уровней оказывает влияние возраст испытуемых. Общее время прочтения связано значимой обратной связью с воспроизводимостью пропозиций 4 уровня. Авторами планируется расширение исследования с включением контрольной выборки, увеличением числа испытуемых с ОВЗ различного возраста, подключение к работе психофизиологических методов исследования, а также коррекционных методов, с целью определения их эффективности.

### **АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОРГАНИЗМА ПОДРОСТКОВ С УЧЕТОМ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ**

**Л.Д. Цатурян, Р.Х. Кувандыкова** *Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия*

Адаптация к комплексу факторов внешней и внутренней среды обеспечивается за счет взаимодействия всех систем организма. Функциональные изменения одной системы влекут за собой изменения в деятельности других систем. При этом, чем более выражены эти взаимовлияния, тем меньшим диапазоном адаптивных реакций обладает организм. Нами обследовано 84 мальчика-подростка русской и 91 мальчик туркменской национальности. Проведен корреляционный анализ Пирсона уровня кортизола (К), тестостерона (Т), эстрадиола (Э) в сыворотке крови с показателями морфофункционального статуса, варибельности сердечного ритма (ВСР). В группе русских мальчиков установлены прямые взаимосвязи кортизола с показателями спектрального анализа ВСР LF ( $r=0,993$ ) и VLF ( $r=0,708$ ), отражающими активность симпатического отдела регуляции. Обнаружены выраженные связи тестостерона с показателями вариационной пульсометрии АМо ( $r=0,679$ ), SI ( $r=0,539$ ), также с весом ( $r=0,585$ ) и ростом ( $r=0,637$ ). Э коррелировал с показателем LF ( $r=0,688$ ). В группе туркменских мальчиков выявлены достоверные прямые взаимосвязи изучаемых гормонов с показателями периферической гемодинамики: К и систолического артериального давления (САД) ( $r=0,967$ ); Т и САД ( $r=0,989$ ); Э и частоты сердечных сокращений ( $r=0,935$ ). Установлена прямая связь Э с показателем VLF ( $r=0,622$ ) и обратная – с показателем статистического анализа сердечного ритма RMSSD ( $r=-0,942$ ) и спектральной составляющей HF ( $r=-0,837$ ). Таким образом, нами выявлен диапазон многоуровневых ассоциаций, отражающих единство организма в реализации адаптационных возможностей. В связи с тем, что в организме русских подростков установлено большее количество взаимосвязей, можно предположить о снижении их функциональных резервов.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ БЕНТОНИТА И ХЛОРЕЛЛЫ НА ОРГАНИЗМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Е.К. Макашев, А.М. Калекешов** *Институт физиологии человека и животных, Алматы, Казахстан*

В настоящее время положительные свойства природных адсорбентов широко известны. Они не имеют побочных эффектов и абсолютно безвредны для организма. Профилактически-лечебное действие природных адсорбентов на обмен веществ и клиническое состояние животных объясняется их способностью впитывать и отдавать разные вещества и воду. Они адсорбируют низкомолекулярные соединения, в том числе токсические образующиеся при распаде в органах пищеварения. Нами было исследовано влияние биологически активной добавки на основе бентонита и хлореллы на организм сельскохозяйственных животных и птиц. Препарат на основе бентонита и хлореллы, является как эффективный энтеросорбент для выведения из организма токсинов и иммуномодулятор, повышающий уровень естественной резистентности, способствующий повышению эффективности кормления. Объектом исследований являлись овцы казахской тонкорунной породы. Для проведения эксперимента были сформированы две группы животных по 20 голов в каждой, аналогичных по возрасту (годовалые) и живой массе. Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Животным контрольной группы в качестве основного рациона давали 2 кг сена, 0,5 кг комбикорма, воду. Таким образом, мы специально создавали зимнее стойловое содержание

животных. Так как именно в это время животные подвергаются к нехватке витаминов и микро-макроэлементов, и в последствии к различным заболеваниям. Животные опытной группы, помимо основного рациона, получали кормовую добавку из расчета 5г на 1кг веса животных в сутки в течение месяца. До и после эксперимента измеряли вес животных. Через 30 дней в плазме крови определяли: общий белок, альбумин, глюкозу, щелочную фосфатазу, холестерин, триглицериды, АлАТ, АсАТ. В результате исследований установлено, что включение в состав рациона овец кормовой добавки позволяет получить больше прироста живой массы овец за месяц на 11,7%, составляя среднее суточное привес 103 г. Тогда как в контрольной группе среднее суточное привес было на уровне 63г и за месяц прирост живой массы достиг всего 6,2%. Сравнительный анализ эффективности введения препарата показал, что экономический эффект от использования адсорбентов и биологически активных добавок превышает затраты на препараты в 2-4 раза, в зависимости от вида животного. Ввиду высокой эффективности этих препаратов, их выпуск может быть налажен на малых технологических модулях в объемах десятков тонн. По предварительным данным БАД обеспечит восполнение дефицита белка и некоторых микроэлементов в кормлении сельскохозяйственных животных и максимально полного усвоения корма животными. Повысит продуктивность животных, снизит заболеваемость, улучшит усвоения фуража, предотвратит отравления, стабилизирует правильный белковый обмен, повысит сохранность поголовья, убойный выход и качество мяса. Включение в рацион БАД позволит также предсказать целесообразность и эффективность включения в разные рационы для разных видов животных БАДы для новой концепции в регуляции обменных процессов, создавая условия для максимального использования микрофлорой источников протеина, а ценные белки его, как источник незаменимых аминокислот. В экспериментальном плане показано физиологическое состояние животных при новом способе содержания и кормления их; потребность в витаминах и минеральных веществах; повышении минерально-витаминной-аминокислотной обеспеченности животных; пути восполнения дефицита за счет добавок биологически активных веществ; степень использования питательных веществ и их всасывания.

Используя кормовую добавку в некоторых регионах можно решить проблему заболеваемости и падежа молодняка животных при их выращивании в условиях загрязненности кормовых угодий.

#### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ И ПРОДУКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ «ЗАЩИЩЕННОЙ» ФОРМЫ L-КАРНИТИНА В РАЦИОНАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**В.Н. Романов, Н.В. Боголюбова, В.А. Девяткин**

*Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. Л.К. Эрнста, Подольск, Россия*

Изучена эффективность применения «защищенной» формы L-карнитина на молодняке крупного рогатого скота и молочных коровах. Первый опыт проведен на 6 бычках черно-пестрой породы в возрасте 8 месяцев, прооперированных с наложением рубцовых фистул. Животные были разделены на две группы, по 3 головы в каждой, одна из которых получала с комбикормом препарат «Карнипасс» (содержание L-карнитина 18%) из расчета 15 г/голову в сутки в течение 30 дней. У каждого животного определяли показатели рубцового метаболизма в пробах, взятых до – и спустя 1, 2, 3, 4 ч после кормления после кормления. Второй опыт продолжительностью 180 дней проведен на 16 новотельных коровах красно-пестрой породы со среднесуточным удоем на уровне 30 кг. «Защищенный» L-карнитин скармливали 8 животным в количестве 15 г на голову в сутки в течение 130 дней лактации, с изучением его продуктивного последствия в течение последующих 40 дней. Другие 8 животных служили контролем. У бычков, получавших «защищенный» L-карнитин, выявлена тенденция к увеличению микробальной массы, с улучшением видового состава бактериального сообщества, снижение уровня аммиака и увеличение содержания ЛЖК в рубцовой жидкости, тенденция к повышению переваримости питательных веществ кормов, увеличение использования азота, улучшение показателей обменных процессов в организме, повышение приростов живой массы на 24,0% против контроля ( $p < 0,05$ ). У коров скармливание «защищенного» L-карнитина на сбалансированных рационах способствовало увеличению молочной продуктивности на 8% в перерасчете на 4% молоко, при увеличении общего выхода жира на 7,6% и белка на 5,9%, с сохранением положительного эффекта последствия. По данным биохимических исследований крови, взятой у животных через 50 дней после отела, установлена тенденция изменения показателей обменных процессов в организме, характеризующих улучшение функциональной деятельности печени у коров, получавших «защищенную» форму L-карнитина. Установлено снижение послеотельных осложнений и сокращение сервис периода до 99 дней против 105 дней в контроле.

#### **ВЛИЯНИЕ ПРИЛИТИЯ КРОВИ АРХАРА (*OVIS AMMON*) НА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У ОВЕЦ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ СЕННОГО ТИПА РАЦИОНА**

**Н.В. Боголюбова, В.Н. Романов, В.А. Девяткин, В.А. Багиров, Н.А. Зиновьева**

*Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. Л.К. Эрнста, Подольск, Россия*

Изучение особенностей пищеварительных процессов вновь полученных селекционных форм животных является актуальной проблемой в свете максимальной реализации генетического потенциала продуктивности. Уровень структурных углеводов в кормах и рационах оказывает существенное влияние на потребление питательных веществ и ферментативные процессы в рубце. Целью данных исследований являлось изучение особенностей процессов пищеварения у гибридов романовской породы овец (*Ovis aries*) с архаром (*Ovis ammon*) при скармливании сеного типа рациона с различным содержанием нейтрально-детергентной клетчатки (НДК) для последующей разработки программ кормления с учетом физиологических потребностей. Опыт проведен в условиях вивария ВИЖ им. Л.К. Эрнста на четырех группах животных с фистулами рубца: I-B – чистопородные романовские валухи, I-M – чистопородные романовские матки, II-B – гибридные валухи F3 с 87,5% крови романовской овцы и 12,5% крови архара и II-M – гибридные матки F3 с 87,5% крови романовской овцы и 12,5% крови архара. Независимо от уровня НДК в рационах, отмечались межгрупповые различия в показателях рубцового пищеварения. О более интенсивном протекании ферментативных процессов у гибридных животных свидетельствуют данные повышения содержания в них общего количества микробальной массы в рубце. Так, количество бактерий в группе II-M увеличилось на 11,2-44,2%, количество инфузорий – на 10,2-48,5%, а общее количество микроорганизмов – на 16,7-39,4% по сравнению с контролем I-M. В группе II-B по сравнению с группой I-B разница в показателях составила, соответственно 13,6-28%, 19,3-39,9% и 16,4-33,6%. В связи с этим у гибридных животных возрастала амилотическая активность и общее количество кислот ферментации. Повышение уровня НДК в рационе способствовало снижению у животных всех групп потребления сухого вещества до 21,9%,



переваримости питательных веществ и изменению направленности ферментативных процессов в рубце. Наиболее существенные изменения наблюдались у чистопородных романовских овец. *Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту 14-36-00039.*

### **БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ МОЛОЧНЫХ КОЗ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЕРИОДА РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА**

**Е.Н. Зарудная, С.Ю. Зайцев, И.И. Кочиш**

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия*

Правильная оценка физиолого-биохимического профиля организма животных при определении процессов его жизнедеятельности является неотъемлемой частью научно-технического прогресса в развитии животноводства на современном этапе. Материалом для биохимического исследования служила сыворотка 90 клинически здоровых коз альпийской породы с жирномолочностью 4-5% за предыдущую лактацию, которые были разделены на 5 групп по принципу аналогов: сухостойные в возрасте 1,3-1,5 года (перед 1 лактацией), в возрасте 1,5-4 лет (перед 2-3 лактацией) и 4-6 лет (перед 4 лактацией); лактирующие козы в возрасте 1,5-4 года и 4-6 лет. Лактирующие животные находились на пике лактации (начало 3-го мес). Все животные получали рацион зимнего типа в соответствии с нормами кормления. Биохимические показатели крови соответствовали нормативным для данного вида животных. У лактирующих коз содержание общего белка (64,4 г/л) на 5,4%; альбуминов (42,6 г/л) на 8,4%; мочевины (11,7 ммоль/л) на 8,8%; холестерина (4,2 ммоль/л) на 18,0%; триацилглицеролов (0,4 ммоль/л) на 7,0%; креатинина (96,4 ммоль/л) на 6,2%; фосфора (4,2 ммоль/л) на 14,9% и активность ферментов АсАТ (126,9 МЕ/л) на 8,9%; АлАТ (33,5 МЕ/л) на 14,0% были выше по сравнению с сухостойными тех же возрастных групп. С возрастом у коз повышается содержание общего белка и альбуминов, что особенно проявляется у животных во время лактации (с 62,2 до 66,2 г/л и с 39,0 до 46,3 г/л, соответственно), при этом, уровень мочевины достоверно изменяется только у сухостойных животных при переходе от 1,5-4 года к группе 4-6 лет (от 10,4 до 11,5 ммоль/л). Уровень холестерина с возрастом понижается: у сухостойных – с 3,8 до 3,3 ммоль/л; у лактирующих – с 4,5 до 3,8 ммоль/л. Более высокий уровень общего холестерина в крови лактирующих животных может быть связан как с усилением обмена веществ и мобилизацией жировых ресурсов в период максимальных удоев, так и с увеличением количества железистой ткани вымени. Наблюдаемая динамика биохимических показателей крови коз в зависимости от возраста и периода репродуктивного цикла демонстрирует различия интенсивности метаболических процессов в их организме, что необходимо учитывать при составлении рационов и планировании зоотехнических мероприятий. *Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект №14-16-00046).*

### **ИНГИБИРОВАНИЕ АРОМАТАЗЫ ДО ИНКУБАЦИИ ЭМБРИОНОВ КУРИЦЫ ВЫЯВИЛО БОЛЕЕ РАННИЕ СРОКИ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА ПОЛОВЫМИ ГОРМОНАМИ**

**А.В. Трухина, Н.А. Лукина, А.А. Некрасова, А.Ф. Смирнов**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Половые гормоны регулируют разнообразные физиологические процессы, связанные с развитием пола. Они представляют собой группу липофильных сигнальных молекул, регулирующих репродуктивные функции живых организмов, и влияют на клеточный метаболизм. Они синтезируются в половых железах, которые изначально представляют собой бифункциональные органы, продуцирующие зародышевые клетки. Для развития зародышевых клеток в яйцеклетки требуется относительно высокая концентрация эстрогенов. Кроме того, эстрогены стимулируют рост и развитие половых органов самки, а также детерминируют развитие фолликулов. У взрослых животных эстрогены поддерживают структурную организацию половых органов и обеспечивают половые циклы. Они вызывают пролиферацию эпителия половых органов, повышают чувствительность яичников к действию гонадотропинов. Наша работа посвящена изучению влияния эстрогенов на развитие гонад у эмбрионов курицы *Gallus gallus domesticus*. Этой проблеме уделено довольно много исследований, но многие вопросы, связанные с их влиянием на развитие первичных и вторичных половых признаков у птиц, до сих пор не имеют ответов. Так, до сих пор обсуждаются разнообразные гипотезы о том, экспрессия каких генов активизируется эстрогенами. Согласно нашим данным, полученным в экспериментах с ингибированием ароматазы (фермента, участвующего в синтезе эстрогенов из андрогенов), существует, по меньшей мере, два этапа действия эстрогенов. При этом в каждом этапе ключевую роль играют разные эстрогены. На первом этапе (первые сутки эмбрионального развития) под влияние эстрогенов подпадают ключевые полоопределяющие гены, участвующие в детерминации пола у птиц. В этот момент клетками-мишенями для эстрогенов становятся малодифференцированные, возможно, стволовые клетки, а также пул первичных половых клеток. До сих пор считалось, что действие эстрогенов начинается на пятые сутки развития эмбриона, который практически полностью сформирован. Мы также предполагаем, что влияние эстрогенов на детерминацию пола происходит до момента откладки яйца. На последующих этапах под влиянием других эстрогенов экспрессируются гены, участвующие в дифференцировке пола и поддержании его структуры. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-00994-а).*

### **АКТИВНОСТЬ АНИОННОЙ АТФАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА, ОБУСЛОВЛЕННОГО КРОССОМ**

**И.П. Мосягина, В.В. Мосягин** *Гнездиловская средняя общеобразовательная школа Курского района, Курской области, Россия*

Известно, что анионные АТФазы, наиболее хорошо развиты в эритроцитах. Высокая эффективность системы транспорта ионов  $Cl^-$  и  $HCO_3^-$  в мембране эритроцитов обусловлена ее большой функциональной нагрузкой. Сопряжение активности этой системы с карбоангидразой, катализирующей обратимую реакцию гидратации  $CO_2$ , обеспечивает газообмен в тканях и легких. На активность этого фермента оказывают влияние различные физиологические факторы, в частности генетический потенциал, обусловленный кроссом. В связи с этим нами определена цель исследований – выявление особенностей анионной АТФазы эритроцитов цыплят-бройлеров в зависимости от кросса цыплят. Установлено, что кросс цыплят-бройлеров (генетический потенциал) определяет своеобразие активности анионной АТФазы эритроцитов цыплят-бройлеров. Так, у цыплят-бройлеров кросса «ISA» активность  $HCO_3^-$ -АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов описывалась уравнением регрессии  $y=8,7903\pm 0,3215x$ , у цыплят-бройлеров кросса «Бройлер-6» –  $y=8,685\pm 0,2695x$ , где  $y$  – активность АТФазы,  $x$  – возраст цыплят.

У цыплят-бройлеров кросса «ISA» активность  $\text{HCO}_3^-$ -АТФазы ядер эритроцитов описывалась уравнением регрессии  $y=10,334-0,0328x$ , у цыплят-бройлеров кросса «Бройлер-6» –  $y=10,937-0,0247x$ , где  $y$  – активность АТФазы,  $x$  – возраст цыплят. Таким образом, установлено, что физиологическое состояние, обусловленное генетическим потенциалом (кроссом) цыплят-бройлеров оказывает существенное влияние на динамику активности анионной АТФазы цитоплазматических мембран и ядер эритроцитов цыплят-бройлеров.

### **ПОСТНАТАЛЬНОЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА СВИНЕЙ В ЛОКАЛЬНЫХ АГРОБИОГЕОЦЕНОЗАХ ПОВОЛЖЬЯ**

**М.Н. Лежнина, Р.А. Шуканов, А.О. Муллакаев, В.Н. Еремеев, Л.Н. Ефимова, А.А. Шуканов**

*Филиал Санкт-Петербургского государственного экономического университета, Чебоксары; Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия*

Проведено XVI серий производственных и лабораторных исследований на 546 свиньях, подобранных с учетом физиологической зрелости, клинико-физиологического состояния, возраста, породы, пола и массы тела. В ходе наблюдений животных контрольных групп содержали на основном рационе, а опытных групп – с применением биогенных веществ (трепел, майнит, воднит, шатрашанит, сувар, комбиолак) разного происхождения и биопрепаратов («ДАФС-25», «Селенопиран», «Полистом») согласно утвержденным схемам и дозам. У 5 свиней из каждой группы на 2-, 15-, 60-, 240-, 300-й день жизни (соответственно периоды новорожденности, молочного типа кормления, полового и физиологического созревания) изучали параметры клинико-физиологического статуса, метаболизма, естественного иммунитета, роста тела, а у декапитированных в 300-дневном возрасте (продолжительность опытов) – качество мяса по общепринятым в биологии и ветеринарии современным методам исследований с использованием сертифицированного научного оборудования. Выявлено, что в моделируемых условиях экспериментов имела место корреляция между назначением животным вместе с основным рационом испытываемых биогенных веществ и соединений с учетом особенностей агропочвенных зон Чувашии, Татарстана и динамикой обменных, иммунных, ростовых процессов неодинаковой степени выраженности в разные фазы постнатального онтогенеза организма. При этом органолептические (консистенция, цвет и запах мяса; прозрачность, запах, вкус мясного бульона и наличие жировых капель в нем), биохимические (значение рН и аминокислотного азота, реакции на пероксидазу и с сернокислой медью), спектрометрические (концентрация кадмия, мышьяка, ртути, свинца, меди и цинка) показатели проб мяса свиней как контрольных, так и опытных групп были идентичными, что свидетельствует об экологической безвредности изучаемых кормовых добавок и биопрепаратов, а также об индифферентности мясных туш к ним.

### **ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО ЦЕОЛИТА ВОДНИТ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ СВИНЕЙ**

**В.С. Григорьев, Г.В. Молянова, В.И. Максимов** Самарская государственная сельскохозяйственная академия, Самара; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

Воднит Водинского месторождения Самарской области по физикохимическим свойствам является аналогом естественных полимерных руд алюмосиликатной природы. Воднит ввиду особенностей структурного строения микро-микротрубочек в организме животных адсорбирует и выводит из организма токсические вещества эндогенного и экзогенного происхождения, тем и способствует повышению процессов формирования и становления клеточных и гуморальных факторов резистентности. Воднит богат по содержанию жизненно важных химических элементов: С, О, Ма, Mg, Al, Si, P, S, Се, К, Са, Cr, Fe, Ni, не содержит свинец, ртуть, мышьяк, то есть, воднит биологически без вредный минерал. Химические элементы, содержащиеся в минерале воднит входят в состав структур клеток, ферментов, витаминов, гормонов, дыхательных пигментов, вне- и внутклеточной среды и биологически активных веществ, стимулируют физиологические процессы. Является сорбентом природы и восполнителем дефицита минеральных веществ в местных кормовых ресурсах, позволяющего профилактировать вторичные иммунодефицитные состояния, стимулировать уровень естественной резистентности и продуктивности животных. Влияние воднита на динамику фагоцитарной активности лейкоцитов изучали на 2-группах свиней: I группа – контрольная содержалась на основном рационе, II группа – опытная, в основной рацион которых включали 3% воднита от массы концентрированного корма. Установлено, что у 30-дневных свиней фагоцитарная активность лейкоцитов составила от 39,14 до 39,26%; фагоцитарное число – 2,49-2,54% соответственно. У 60-дневных свиней, выращенных на основном рационе с содержанием 3% минерала воднит в крови фагоцитарная активность лейкоцитов была выше на 15,12%, у 90-дневных свиней – 11,21%, а у 180-дневных свиней – 38,34% относительно контроля. Минерал воднит в организме животных повышает формирование и становление фактора резистентности. Воднит, как иммунокорректор в организме свиней содержащих в условиях промышленной технологии повышает фагоцитарную активность лейкоцитов в среднем до 25,48% обеспечивает более полному усвоению питательных веществ в корма и стимулирует процессы роста и развития животных.

### **ДИПЕПТИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ГУСЕЙ**

**Бвай Джеймс Данлади, С.С. Алданазаров** *Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан*

Процессы пищеварения у птиц, а в частности у гусей изучены относительно хорошо. Но такой вид пищеварения как мембранное исследован мало. Мы в своих опытах попытались восполнить этот пробел. Опыты проводились на гусях 2-месячного возраста. После забоя у гусей извлекался весь желудочно-кишечный тракт. Исследовалась ферментативная активность слизистой оболочки желудка, двенадцатиперстной кишки, тощей кишки, подвздошной и слепой кишок и содержимого желудка и химуса. Активность дипептидаз определяли по методу А.М. Уголева и Н.М. Тимофеевой. Результаты наших экспериментов показали, что наибольшая дипептидазная активность была выявлена на слизистой оболочке тощей кишки, что составило  $302,46 \pm 47,23$  мкм/мл/мин ( $p \leq 0,05$ ) и с некоторым уменьшением в подвздошной кишке до  $282,72 \pm 52,68$  мкм/мл/мин ( $p \leq 0,05$ ) образованного азота. А наименьшая ферментативная активность наблюдалась на слизистой желудка и слепой кишки. В отношении полного гидролиза дипептида следует отметить его больший уровень по сравнению с таковым на мембране слизистой пищеварительного тракта. Так наименьшая активность фермента была выявлена в химусе слепой кишки

118,53±32,73мкм/мл/мин ( $p \leq 0,05$ ) и содержанием желудка 127,61±32,73мкм/мл/мин ( $p \leq 0,05$ ). Фермент показал наивысшую активность в содержимом двенадцатиперстной кишки 502,67 ±87,68мкм/мл/мин ( $P \leq 0,05$ ). В химусе тощей кишки отмечалось некоторое снижение активности фермента с повышением ее в химусе подвздошной кишки. Наши исследование показали преобладание полостного гидролиза дипептида над мембранным у гусей 2-х месячного возраста.

### **ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ХЕЛАТНЫХ ФОРМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ У КОРОВ НА МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПОЛУЧАЕМОГО ОТ НИХ МОЛОКА**

**Л.Ю. Карпенко, А.А. Карпенко, А.И. Енукашвили, А.А. Бахта, А.Б. Андреева**

*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

Целью исследования являлось изучение минерального состава крови и молока высокопродуктивных коров при применении минерально-кормовой добавки «Хелавит». В задачу исследования входило: изучить влияния применение препарата «Хелавит» для коррекции нарушений минерального обмена у коров (влияние на концентрацию свинца, кадмия и хрома в крови молоке коров, на концентрацию микроэлементов в крови и молоке высокопродуктивных коров). Экспериментальная часть работы выполнена в ЗАО «Ударник» Волосовского района Ленинградской области, биохимические исследования проводили на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». В данном эксперименте сформировали две группы – опытная и контрольная – по 10 голов в каждой. Животных в группы подбирали по методу аналогов. Минерально-кормовую добавку "Хелавит" задавали согласно инструкции по применению коровам группы опыта с кормом в лечебной дозе 0,4 мл на 10 кг массы тела 1 раз в день в течение 30 дней. Взятие образцов крови и молока осуществляли перед началом применения минерально-кормовой добавки "Хелавит" и после окончания курса применения. Установили, что применение минерально-кормовой добавки «Хелавит» у высокопродуктивных коров в зимний период года приводит: – в крови к достоверному увеличению концентрации магния в 17%, цинка – на 23%, меди – на 33%, железа на 30%, йода на 46%, селена – на 31% ; к достоверному снижению в 2,5 раза свинца и в 2 раза кадмия – в молоке к достоверному увеличению микроэлементов; к увеличению концентрация цинка – в 1,4 раза, меди – в 1,3 раза, железа в 1,6 раза, йода в 1,8 раза, селена – в 1, 5 раза; к достоверному снижению кадмия в 4 раза, свинца 2,4 раза, Концентрация всех токсичных металлов в молоке подопытных коров не выходила за пределы ПДК. Таким образом, применение комплексной минерально-кормовой добавки «Хелавит» способствует нормализации минерального обмена у высокопродуктивных коров и улучшению минерального состава молока путем снижения концентрации в нем тяжелых металлов и увеличением концентрации ряда микроэлементов, в частности йода и селена, что способствует обогащению молока микроэлементами, являющимися дефицитными в условиях биогеохимической провинции в которую входит Ленинградская область.

### **ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕНЗИОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МОЛОКА КОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЕРИОДА ЛАКТАЦИИ**

**С.Ю. Зайцев, Е.Н. Зарудная, В.И. Максимов**

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва, Россия*

Молоко является одной из важных биологических жидкостей для изучения, как в прикладном, так и в фундаментальном аспектах. Знание его основных физико-химических свойств дает важную информацию оценки состояния здоровья животного и использования молока в производстве. Материалом служили пробы молока коров черно-пестрой породы, которые были разделены на группы по принципу аналогов: 1–2 месяц лактации, 3–4 мес., 5–7 мес. и 5–7 мес. лактации. Взятие молока у животных исследуемых групп производили перед утренним доением. Для изучения физико-химических свойств молока проводили измерение динамического поверхностного натяжения (тензиометр ВРА-1Р, Sinterface Technologies) и определяли тензиометрические параметры ( $\sigma$ ) в зависимости от времени ( $t$ ) «жизни» поверхности:  $t \rightarrow 0$  ( $\sigma_0$ ),  $t = 0,02$  с ( $\sigma_1$ ),  $t = 1$  с ( $\sigma_2$ ) и  $t \rightarrow \infty$  ( $\sigma_3$ ). Для этих же образцов молока проводили биохимический анализ и рассчитывали коэффициенты корреляции между исследуемыми параметрами. Проведенные исследования свидетельствуют об изменениях физико-химических свойств молока в динамике лактации. В начальные сроки лактации отмечаются наиболее низкие значения параметра  $\sigma_0$ , которые увеличиваются на всем протяжении лактации и к 8–10 месяцу достоверно возрастают на 4,6% и 34,7%, соответственно. Параметр  $\sigma_3$  на 1–2 мес. лактации также имеет наиболее низкие значения (44,20±0,53 мН/м), которые возрастают к 3–4 мес. на 2,4%, а к 5–7 мес. становятся на 6,0% достоверно выше по сравнению с 1–2 мес. и на 3,5% – по сравнению с 3–4 мес. лактации. Период активной лактации (3–4 мес., среднесуточный удой – 18,04±0,32 кг, содержание общих липидов 39,98±0,62 г/л, белка 33,54±0,35 г/л) сопровождается наиболее низкими значениями  $\sigma_2$ , возрастающими к 5–7 мес. на 6,2%, что на 4,2% достоверно выше, чем на 1–2 мес. лактации. Корреляционный анализ выявил наличие достоверных корреляционных связей  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$  с содержанием общего белка, углеводов и общих липидов (обратная кс) и  $\sigma_0 \dots \sigma_2$  – с концентрацией общего кальция (прямая кс). Характерно, что липиды молока активно адсорбируются на границе раздела фаз при всех временах «жизни» поверхности, тогда как у белков молока активная адсорбция проявляется только при средних и больших временах «жизни» поверхности.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-16-00046).*

### **ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АТФАЗ ОВЕЦ**

**В.Н. Суворова, Е.Ю. Федорова, В.И. Максимов** *Курская государственная сельскохозяйственная академия, Курск; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии, Москва, Россия*

В настоящее время установлено, что АТФазная активность изменяется с учетом возраста, периодов репродуктивной деятельности животных, гипертонических болезнях, неврозах, белковом голодании, ревматизме, болезнях щитовидной железы, депрессивных состояниях и т. д. (Alan Swann С., 1985, Болдырев А.А., 2001, Мосягин В.В., 2011 и др.). Как показали наши более ранние исследования (Федорова Е.Ю., 2014), АТФазная активность мембран эритроцитов крови крупного рогатого скота, свиней и птицы зависит от возраста, генотипа. Дальнейшее изучение АТФазной активности у различных видов сельскохозяйственных животных в указанном направлении позволит более глубоко раскрыть интимные биохимические процессы в организме не только в норме, но и при развитии патологических процессов. В связи с чем, проведенные нами исследования функциональных активностей аденозинтрифосфатаз эритроцитов крови овец в зависимости от возраста и породы являются

весьма актуальными. Выявлено, что АТФазная активность эритроцитов крови новорожденных ягнят как куйбышевской породы, так и породы тексель достоверно ( $p < 0,001$ ) в 7,62–7,81 раза выше чем в группах взрослых овец. Исследованиями установлено, что активность всех изученных АТФаз эритроцитов крови овец всех возрастных групп породы тексель незначительно выше аналогичных показателей в группах овец куйбышевской породы ( $p < 0,005$ ). Так, активность  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  – АТФазы выше в группе текселей, чем в группе овец куйбышевской породы на 4,93%, активность  $Mg^{2+}$  – АТФазы выше на 3,12%, активность  $Na^+$ ,  $K^+$  – АТФазы – на 4,61%. В результате двухфакторного дисперсионного анализа было выявлено, что активность общей,  $Mg^{2+}$  – и  $Na^+$ ,  $K^+$  – АТФаз эритроцитов достоверно ( $p < 0,001$ ) детерминирована возрастом овец на 91,51%; 89,62% и 82,13% соответственно. Порода овец оказывала достоверное ( $p < 0,01$ ) незначительное влияние на активность исследованных АТФаз, коэффициенты детерминации составили 1,92%, 1,28% и 2,36% соответственно.

### **ПРОЛОНГАЦИЯ БИОЭФФЕКТОВ ОБЕДНЕННОГО УРАНА В МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ИНТЕРПРЕТАЦИИ**

**З.А. Воронцова** *Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия*

Данные экспериментальных исследований о биоэффектах обедненного урана свидетельствуют о разобщенности на фоне различных способов моделирования, но констатируют об опасности для здоровья. В эксперименте после однократной урановой инкорпорации в дозе 0,1 мг на 100 г массы белых, лабораторных четырехмесячных крыс-самцов в количестве 116, из них 16 контрольных была проведена морфофункциональная оценка околоушной железы по некоторым критериям. Спустя 3 месяца светооптическая плотность распределения лактат и сукцинатдегидрогеназ (ЛДГ, СДГ) в сероцитах и эпителии исчерпанных выводных протоков показала, повышение активности СДГ в секреторных отделах. На уровне выводных протоков достоверных изменений не отмечалось, однако увеличивалась их протяженность. Светооптическая плотность ЛДГ испытывала подобную динамику, но с меньшей выраженностью ( $p < 0,05$ ). Дисгармония распределения дегидрогеназ также сохранялась спустя шесть месяцев. Отмечены признаки ослизнения появлением мукоцитов. Наблюдалась тенденция к уменьшению площади секреторной паренхимы на фоне гипертрофированной стромы. Сравнительный анализ динамики общего числа тучных клеток (ТК) показал их достоверное возрастание спустя три месяца по отношению к контролю с преобладанием дегранированных форм и через шесть месяцев общее число ТК было ниже контрольных показателей ( $p < 0,05$ ), с обратной зависимостью от территории стромы на фоне возрастания их вакуолизованных форм. Таким образом, постурановый эффект характеризовался признаками атипичной регенерации протоковой системы в хронодинамике эксперимента и предпосылками метаплазии в секреторных отделах спустя шесть месяцев.

### **ВЛИЯНИЕ НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КАТАЛАЗУ КРОВИ У КРЫС**

**М.Т. Аббасова, А.М. Гаджиев** *Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан*

Ранее нами было показано, что при воздействии электромагнитного излучения (ЭМИ) на организм в крови усиливается перекисное окисление липидов. Представляет интерес как действует облучение на антиоксидантные показатели крови. В данной работе мы поставили цель изучить влияние неионизирующего ЭМИ дециметрового диапазона на уровень активности каталазы в крови. Исследования проводились на белых крысах линии Вистар массой 250–300 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на экспериментальную и контрольную группы. Экспериментальную группу животных облучали излучением аппарата «Волна-2» (частота 460 МГц) в металлической цилиндрической камере. Облучение проводилось ежедневно в течение 20 мин до 1 месяца при плотности прямого потока 30 мкВт/см<sup>2</sup>. Содержание каталазы определяли по методу Корольюк М.А. и др. (1988). Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Полученные данные показывают что, продолжительное облучение животных в течение 14–21 дней приводит к повышению уровня активности каталазы в сыворотке крови до  $44,28 \pm 6,18\%$ , тогда как у контрольных животных уровень составляет  $34,24 \pm 4,7\%$  ( $p < 0,01$ ). При 7-дневном и 28-дневном облучении происходит снижение уровня каталазы ( $18,15 \pm 6,8$  и  $28,01 \pm 6,3\%$ , соответственно). Ранее в наших экспериментах было показано, что ЭМИ 460 МГц в течение продолжительного облучения в тех же условиях приводит к повышению концентрации продуктов ПОЛ в крови у крыс. Каталаза является первичным антиоксидантом, который катализирует разложение  $H_2O_2$  до воды, разделяя эту функцию с глутатионпероксидазой. При низком содержании  $H_2O_2$  органические перекиси преимущественно катализируются пероксидазой. Однако, при высоких концентрациях  $H_2O_2$  работает каталаза. Снижение активности каталазы приводит к повышению стационарной концентрации перекиси водорода. Инактивация каталазы может быть вызвана действием супероксидных радикалов и их продуктов. Возможно, инактивированная каталаза способна к разложению перекиси водорода, но при этом образуются не вода и кислород, а свободные радикалы гидроксила.

### **К ВОПРОСУ О ДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ**

**А.Б. Еланцев, А.А. Маутенбаев**

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

В ранее проведенных экспериментах мы показали, что под воздействием поляризованного света красного диапазона (длина волны 420–460 нм) малой мощности изменяет стойкость клеточных мембран в гипер- и гипотонических растворах. При этом было показано, что отмеченный эффект зависит от длительности воздействия, мощности источника и длины волны. Для подтверждения этого наблюдения мы использовали лазерные источники различного типа, но наибольший эффект был получен при применении гелий-неонового лазера. При этом были получены данные, свидетельствующие, что излучения малой мощности (0,20–0,60 Вт) и малой экспозиции (в пределах 20–60 с) приводят к значительному повышению стойкости клеточных мембран. В том же время увеличение мощности источника или удлинение воздействия не только не повышает этот показатель, но наоборот может снижать его. Было также показано, что подобный эффект может быть получен опосредованно – в результате облучения физиологического раствора используемого для отмывания клеток, гипотонического раствора в которой клетки переносят или нативного образца крови. Нами было также исследован результат воздействия излучения на препарат эритроцитов подвергнутой сушке, при этом стойкость эритроцитарной мембраны после помещения в раствор не отличалась от характеристик контрольных образцов. Полученные данные позволяют говорить, что изменение стойкости мембран связано с состоянием гидратной оболочки формируемой около нее, а воздействие лазерного излучения может изменить ее структуру.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБУСЛОВЛЕННОСТЬ СОСУДИСТЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ НЫРЯТЕЛЬНОГО РЕФЛЕКСА У ЧЕЛОВЕКА****Т.И. Баранова, Д.Н. Берлов, Л.Б. Заварина, А.Д. Минигалин, Е.А. Корф, О.С. Глотов, А.С. Глотов***Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Любая физиологическая функция находится под контролем генов, формирующих генную сеть. Логично предположить, что индивидуальная «динамическая норма» функции будет определяться полиморфизмом генов данной сети. В настоящее время весьма немногочисленны исследования, посвященные генетическим детерминантам вегетативной регуляции, и обусловленных ею стратегий приспособления. Вместе с тем адаптивность – основное свойство, определяющее здоровье организма. Цель работы состояла в изучении защитных сосудистых реакций, реализующихся в условиях гипоксии, сопровождающей ныряние у людей с различными полиморфными вариантами генов. Обследовано 80 человек (20–23 года). В лабораторных условиях использовали принятую модель ныряния – погружение лица в воду  $12 \pm 2,3^\circ\text{C}$ , при температуре воздуха  $22 \pm 2,5^\circ\text{C}$ . При этом регистрировали ЭКГ и фотоплетизмограмму. Кровенаполнение периферических сосудов оценивали по амплитуде систолической волны, их тонус – по времени распространения пульсовой волны. Полиморфизм гена ACE (I/D, rs4340) исследовали методом ПЦР, генов REN (G/A, rs2368564), AGTR1 (A/C, rs5186), BDKRB2 (T/C, rs1799722), ADBR2 (A/G, rs1042713) – с помощью двухэтапной мультиплексной ПЦР с добавлением флуоресцентно меченных праймеров и последующим проведением аллельспецифической гибридизации на биочипе. При имитации ныряния менее всего кровенаполнение сосудов снижалось у G/G гомозигот по гену ADRB2 в сравнении с носителями аллели A ( $p < 0,05$ ); наиболее выраженное повышение тонуса сосудов выявлено у C/C-гомозигот по гену BDKRB2 относительно представителей других генотипов этого гена ( $p < 0,05$ ), и D/D-гомозигот по гену ACE относительно представителей других генотипов ( $p < 0,05$ ). У D/D-гомозигот по гену ACE наблюдали наиболее длительное восстановление тонуса сосудов после имитации ныряния. Рефлекторное сужение периферических сосудов при имитации ныряния вызвано симпатическими норадренергическими влияниями на  $\alpha$  – и  $\beta$ -адренорецепторы их стенок. На выраженность констрикции оказывает влияние также текущий биохимический фон, который зависит от активности ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем. Он может либо потенцировать норадренергические влияния, либо, напротив, уменьшать их выраженность. Это необходимо учитывать при использовании нырятельной реакции в медицинской практике.

**ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА ПРОЯВЛЕНИЕ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ КМ****И.Б. Федотова<sup>1</sup>, К.Ю. Саркисова<sup>2</sup>, Г.М. Николаев<sup>1</sup>, Н.М. Сурина<sup>1</sup>, О.В. Перепелкина<sup>1</sup>, И.И. Полетаева<sup>1</sup>** *<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, <sup>2</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Генетическая модель судорожных состояний – аудиогенная эпилепсия (АЭ) – эпилептиформный припадок, который развивается у крыс или мышей в ответ на включение сильного звука. Уникальность крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) выражена в том, что практически у 100% этих животных через несколько секунд после включения звука развиваются интенсивные тонические судороги. Эта линия используется не только для исследования механизмов эпилептогенеза, но и для оценки эффективности антиконвульсантов. Влияние хронического (2 нед.) введения антидепрессанта флуоксетина (блокатора обратного захвата серотонина) в дозе 20 мг/кг ежедневно взрослым крысам линии КМ проявилось в достоверном снижении интенсивности судорог в ответ на звук. В тесте приподнятого крестообразного лабиринта наблюдали снижение общего уровня локомоторной активности – у них было меньше переходов между темными рукавами, меньше выходов в светлые рукава и ниже число вертикальных стоек. В тесте Порсолта отметили снижение показателей депрессии – увеличение времени плавания, увеличение латентных периодов наступления эпизодов неподвижности и т. д. Анализ изменений всех этих показателей после хронического введения флуоксетина у крыс 4 генотипов, включая крыс КМ (Саркисова и др. ДАН, 2016), показал, что межлинейные различия в интенсивности судорог, показателей тревожности и депрессии не обнаруживают «коморбидности», хотя у крыс КМ снижение интенсивности судорог после флуоксетина сопровождалось и его антидепрессантным эффектом в тесте Порсолта. Это свидетельствует о важности проведения оценки эффективности фармакологической коррекции поведения на животных разных генотипов. Введение детенышам крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) флуоксетина 30 мг/кг в течение 5 дней со 2-го по 7-й дни жизни не изменило предрасположенности животных к АЭ при их тестировании в возрасте 3 недель и 3 мес.. Однако в тесте приподнятого крестообразного лабиринта наблюдали снижение степени тревожности этих крыс по сравнению с интактными животными и контролем с болевой стимуляцией.

Эти данные позволяют заключить, что изменения тревожности крыс как отдаленный эффект неонатального введения флуоксетина могут развиваться по механизму, независимому от патологического процесса генеза судорожных состояний при АЭ. При выполнении работы авторы руководствовались правилами Декларации ЕС 2010 (2010/63/EU). Работа частично поддержана РФФИ, грант N 15-04-01732, тема «Нейробиологические основы поведения животных. Регистр. № АААА-А16-116021660055-1.»

**ВЫЯВЛЕНИЕ НОВЫХ МУТАЦИЙ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРОКИ РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У МЫШЕЙ, С ПОМОЩЬЮ ENU-ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА****Е.В. Борисова, Е.А. Епифанова, В.А. Салина, И.И. Белоусова, Е.А. Туровский, М.В. Туровская, А.А. Бабаев, В.С. Тарабыкин***Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Кора головного мозга представляет собой центр высшего познавательного потенциала, который отличает человека от других видов животных. Возникающие пороки развития коры головного мозга способствуют возникновению эпилепсии в детском возрасте, задержке в интеллектуальном развитии, неврологическому дефициту и умственной отсталости. Таким образом, выявление и описание новых мутантных мышей с пороками развития коры с дальнейшей идентификацией генов, которые отвечают за эти мутации, позволит улучшить наше понимание генетической регуляции развития коры. Для выявления генов, ответственных за морфофункциональную организацию коры головного мозга, используется модель ENU (N-этил-N-нитрозомочевина) -направленного мутагенеза, который вызывает нарушение структуры и функции головного мозга. В дальнейшем у выявленных мышей-мутантов будут определены соответствующие гены с использованием позиционного клонирования, а также будет охарактеризован фенотип генерируемых мутантов.

Для скрининга рецессивных мутантов мы использовали схему обратного скрещивания трех поколений. Самцы линии С3Н (возраст 12 недель) были трехкратно интраперитонеально инъецированы в следующих дозах 80, 90, 100, 120 и 150 мкг/кг ENU с интервалом в одну неделю. Полученные самцы после этого периода были скрещены с самками линии С3Н для получения поколения G1. На следующем этапе самцы из поколения G1 будут скрещены с самками линии С57BL6 Satb2-LacZ, нейроны верхних слоев коры которых экспрессируют LacZ как репортер (Dobrev G. et al., 2006). В результате эксперимента была подобрана оптимальная доза ENU – 100 мкг/кг. Был разработан и апробирован протокол генотипирования линии мышей Satb2-LacZ. В качестве образцов для проведения ПЦР реакции использовались образцы ДНК, выделенные из хвостовых проб мышей данной линии с помощью фенол-хлороформной экстракции после лизиса. Также был оптимизирован протокол окрашивания мозга мышей на наличие Satb2-LacZ-репортера. Бета-галактозидаза ( $\beta$ -gal), кодируемая геном LacZ, гидролизует бета-галактозиды, в результате чего появляется синие окрашивание. Самки, у которых было подтверждено наличие Satb2-LacZ репортера, будут в дальнейшем скрещены с самцами из G1 для получения второго поколения. *Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №15-14-10021).*

### **СВЯЗЬ РЕГУЛЯТОРНО-АДАПТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЧЕЛОВЕКА С ГЕНАМИ БИОСИНТЕЗА СЕРОТОНИНА TRH1, TRH2 И РЕЦЕПТОРОВ СЕРОТОНИНА HTR2C И HTR2A**

**Ю.В. Кашина, В.Ю. Горбунова, О.В. Гумерова, И.Л. Чередник**

*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар; Центр молекулярно-генетических исследований кафедры генетики Башкирского государственного педагогического университета, Уфа, Россия*

У здоровых испытуемых обоего пола регуляторно-адаптивные возможности определяли по индексу регуляторно-адаптивного статуса. Последний оценивали по параметрам пробы сердечно-дыхательного синхронизма. Одновременно был проведен молекулярно-генетический анализ полиморфных вариантов основного гена биосинтеза серотонина – триптофангидроксилазы TRH1 (A218C полиморфизм) и TRH2 (G703T полиморфизм) и рецепторов серотонина (гены HTR2C и HTR2A). По уровню регуляторно-адаптивных возможностей выделено три группы испытуемых. Первая группа включала лиц с хорошими (индекс регуляторно-адаптивного статуса 50-99) регуляторно-адаптивными возможностями. Вторая группа была представлена испытуемыми с удовлетворительными регуляторно-адаптивными возможностями (индекс. 25 – 49). Третью группу составили лица с низкими регуляторно-адаптивными возможностями (индекс 10 – 24). Установлено, что у лиц с хорошими регуляторно-адаптивными возможностями преобладали генотипы и аллели, определяющие достаточную активность биосинтеза серотонина и высокую скорость его рецепции. Показана ассоциация аллеля \*C гена TRH1, аллеля \*G и генотипа \*G/\*T по гену TRH2, аллеля \*G и генотип \*G/\*G по гену 5HTR2C, генотипа \*A/\*G по гену HTR2A с хорошими регуляторно-адаптивными возможностями. Таким образом, выявлена зависимость регуляторно-адаптивных возможностей человека от полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме серотонина и серотонинергических рецепторов.

### **ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПЕСТИЦИДОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ САЗАНА**

**С.И. Мамедова** *Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан*

Большинство пестицидов токсичны для гидробионтов, но их опасность определяется комплексным действием на всю экосистему водоёмов: токсическими эффектами, особенно при различных воздействиях, ухудшением газового и гидрохимического режимов водоёма и созданием заморных явлений деструктивных процессов и накоплением продуктов органического распада, явлением ряда гербицидов на воспроизводство гидробионтов. Объектом наших исследований является сазан (*Cyprinus carpio*), который обитает в реках и определённых участках Каспия. В эксперименте были использованы шестимесячные сазаны весом 30 г, длиной 11 см. Как известно пестициды делятся на ряд групп. Нами были использованы гербициды (Tarkor Super, Korfosat Star) и фунгициды (Mass Foset, Takistin 50 WP). Нами было установлено LC50 96 часов по методу D.J. Finney, который для Tarkor Super составляет 17,32 мг/л, Korfosat Star – 479, 42 мг/л, Mass Foset – 344, 57 мг/л, Takistin 50 WP – 96,63 мг/л. В наших экспериментах мы определяли реакцию оседания эритроцитов, которая в норме у сазана составляет 2 мм/ч и количество гемоглобина равно 40 %. После LC50 96 часовой экспозиции выявилось, что Tarkor Super резко понижает гемоглобин до 25 %, а РОЭ составляет 4 мм/ч, однако при изучении гербицида Korfosat Star – РОЭ держалось на уровне нормы, но количество гемоглобина повысилось до 55 %. При изучении фунгицида Mass Foset наши исследования показали, что данные после 96 часовой экспозиции не выявляют каких либо резких изменений как в количестве гемоглобина, так и в реакции оседания эритроцитов. Однако Takistin 50 WP вызывает повышение количества гемоглобина до 70 %, хотя реакция оседания эритроцитов держится на уровне нормы.

### **ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРАТАЦИИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ *CHOANOMPHALUS ROSSMAESSLERI* (A. Schmidt, 1851)**

**Е.М. Фомичева** *Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

Для ряда видов беспозвоночных животных характерно сохранение жизнеспособности при частичной или практически полной дегидратации. Такая способность характерна для организмов, сталкивающихся с периодическим снижением влажности окружающей среды, например обитателей временных водоёмов. В период осенне-летней межени водные организмы – обитатели прибрежных участков различных водоёмов – также сталкиваются с проблемой выживания в условиях пересыхания грунта. Брюхоногий моллюск *Choanomphalus rossmaessleri* является типичным обитателем пересыхающих затонов рек, различных полупериодических и периодических водоёмов. Цель работы: изучение выживаемости *Choanomphalus rossmaessleri* при дегидратации. Моллюсков предварительно взвешивали, помещали по одному в заполненную водой лунку лабораторного планшета (объем лунки равен 2 мл) и оставляли лунки открытыми до полного испарения жидкости. Через 5 суток проверяли выживаемость по наличию сокращения сердца и двигательной активности при помещении моллюска в воду. Результаты исследований показали, что снижение массы тела моллюска более чем на 44% в результате дегидратации, приводит к гибели организма. Для изучения влияния влажности среды на скорость дегидратации сравнивали выживаемость за равный промежуток времени при разных условиях влажности. Для этого в одном варианте опыта моллюсков оставляли в открытых лунках лабо-

раторного планшета, в другом – прикрывали увлажненной фильтровальной бумагой. Согласно полученным данным, выживаемость моллюсков выше при дегидратации в условиях влажной камеры лунки. Таким образом, на жизнеспособность моллюска *Ch. rossmaessleri* в условиях пересыхания грунта оказывает влияние влажность окружающей среды и уровень снижения массы тела за счет дегидратации.

### **РЕАКЦИЯ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ГИПОКСИЮ**

**М.А. Карапетян, Н.Ю. Адамян**

*Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека и животных, Ереван, Армения*

В результате взаимодействия функциональных систем разных уровней организаций (молекулярный, клеточный, тканевой, системный) между ними формируются межсистемные информационные сигналы. Эти, по сути интегративные сигналы возможно регистрировать на поверхности тела с помощью специально разработанного аппаратного комплекса «Биоскоп». Среди различных неблагоприятных экологических факторов особое место занимает гипоксия. Гипоксия выступает как центральное звено и в патогенезе многих заболеваний. Поэтому она остается одной из актуальных медико-биологических проблем. Некоторые параметры вышеупомянутого интегративного сигнала в условиях кислородной недостаточности, создаваемой в лабораторной барокамере, подвергаются определенным изменениям, которые сохраняются и после гипоксического воздействия в течение двух часов. Такое длительное последствие гипоксического фактора наблюдается и при исследовании биохимических показателей мозга животного. Многочисленными исследованиями показано изменение уровня амидированности белков мозга в зависимости от функционального состояния организма и его реакции на действие экстремальных факторов внешней среды. Установлено, что при преобладании процессов возбуждения в мозге животных происходит дезамидирование белков. И наоборот, при развитии тормозных процессов в мозге, в частности, при гипоксии происходит амидирование белков головного мозга. Через 24 часа после спуска животного в нормальные условия атмосферного давления, снижение содержания амидных групп белков мозга происходит всего на 25%. Такое длительное последствие гипоксического стресса не наблюдается при изучении других физиологических функций организма (ЭЭГ, импульсная активность нейронов, дыхание и сердечная деятельность), исходные показатели которых возвращаются к норме через 10–15 минут после гипоксического воздействия.

### **БИОЭТИКА КАК ЧАСТЬ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭТИКИ**

**М.А. Карапетян** *Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека и животных, Ереван, Армения*

Человечество переживает сложный и противоречивый период: с одной стороны промышленное развитие экономики, с другой – глобальные катастрофы, изменения климата, экономический кризис, войны, голод, эпидемии, демографические изменения и т.д. Картина становится ещё более ужасающей на фоне обострения экологической ситуации окружающей среды. Жизнь показывает, что для изменения этих тенденций и предотвращения экологической катастрофы не поможет ни один закон, штраф или наказание, т.к. корни этого состояния глубже, чем мы можем предположить: они в нашем сознании, в нашей психологии. Знание физиологических закономерностей живых организмов позволяет убедиться в том, что Земля живой организм со всеми физиологическими закономерностями и свойствами – раздражимостью, саморегуляцией, гомеостазом, иммунитетом, присущими всем живым организмам. Человек является лишь частью этого организма, называемой – Планета Земля. В Древней Греции Космос–Вселенная воспринимался как упорядоченность и согласованность. Космология как наука о Космосе выявляет законы его существования, рассматривая его как единое целое. Все работы В.И. Вернадского пронизаны идеей единства Земли, Человека и Вселенной. Космос наделяется Высшими этическими нормами, являющимися базой для нравственных законов человечества, в том числе и для биоэтических законов. Без знания этих Высших законов невозможно решение как экологических так и биоэтических вопросов. И когда страны стремятся создать здоровые образовательную, социальную, экономическую, медицинскую и другие системы, это им не удается, поскольку истинные знания и законы в образовательной, оздоровительной, социальной и экономической жизни заключаются не в сфере видимого вещества, а во Вселенских законах, пренебрежение которыми и приводит к тому, что мы имеем сегодня. Осознание того, что “Космос – живой организм”, поможет человеку менять свой взгляд во взаимоотношениях Человек–Вселенная, Человек–Природа, Человек–Человек. И биоэтика как «этическое учение, объединяющее смирение, ответственность и компетентность», должна следовать основополагающим мировым этическим принципам: «Относись к людям так, как хочешь, чтобы относились к тебе».

### **ДИСЦИРКУЛЯТОРНЫЕ РАССТРОЙСТВА В ТИМУСЕ, ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ И СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫХЛОПНЫХ ГАЗОВ**

**К.Э. Григорьянц, Т.У. Арипова, Г.Б. Хакимова** *Институт иммунологии АН РУз., Ташкент, Узбекистан*

Значительное увеличение автотранспорта в городах и населенных пунктах Республики Узбекистан приводит к соответствующему возрастанию в воздухе выхлопных газов, оказывающих воздействие на человека и окружающую среду. Одной из патогенетических причин такого неблагоприятного воздействия ВГ на организм является дефицитное состояние иммунного статуса. Учитывая, что иммунологическая функция тесно связана с морфологией иммунной системы, т.е. во многом обусловлена анато – физиологической организацией ее, становится ясна роль морфологических исследований иммунной системы. Целью исследования являлось изучение состояния органов иммунной системы: тимуса, лимфатических узлов и селезенки после острого воздействия ВГ в условиях эксперимента. Экспериментальное исследование выполнено на белых крысах обоего пола, весом 160–180 гр., 4–6-месячного возраста. Затравка животных осуществлялась при помощи острого воздействия ВГ в дозе 1/50 ЛК в затравочной камере. При забое животных на 2 сутки позволило установить в тимусе, лимфатических узлах и селезенке крыс определенные дисциркуляторные расстройства. Это подтверждается значительным возрастанием объемной доли сосудов в тимусе и лимфатических узлах, при незначительном изменении объемной доли лимфоидных элементов. Изучение содержания клеточных элементов в корковом и мозговом веществе тимуса позволило установить умеренное возрастание относительного содержания малых лимфоцитов и достоверное возрастание бластных клеток. Содержание средних, больших лимфоцитов, макрофагов и клеток с митозами достоверно снижается. В структурах лимфатических узлов наблюдается тенденция к возрастанию малых лимфоцитов. Средние лимфоциты в основном снижаются, за исключением коркового плато.

Относительное содержание больших лимфоцитов снижается. Плазмоциты снижены во всех структурах, за исключением коркового плато. Макрофаги снижены в корковом плато и паракортикальной зоне. Отмечается перераспределение по зонам эозинофилов. Ретикулярные клетки проявляют тенденцию к снижению. Достоверно снижается относительное содержание клеток с митозами. В лимфоидных узелках селезенки установлено снижение малых, средних и больших лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов и клеток с митозами, в то же время происходит возрастание бластных клеток. Изучение объема ядер лимфоцитов в тимусе, лимфатических узлах и селезенке показало их снижение по сравнению с контрольной группой.

### **ВЛИЯНИЕ ПОДОСТРОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫХЛОПНЫХ ГАЗОВ НА ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС**

**К.Э. Григорьянц, Т.У. Арипова, Г.Б. Хакимова** *Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан*

В больших городах к числу основных источников загрязнения атмосферного воздуха относится автотранспорт, который занимает 2 место по загрязнению окружающей среды. По данным Гос. комитета РУз по охране природы, за последние годы в городах и населенных пунктах Узбекистана наблюдается значительный рост автомобильного транспорта. Целью исследования явилось изучение состояния органов иммунной системы – тимуса, лимфатических узлов и селезенки после подострого воздействия ВГ в условиях эксперимента. Экспериментальное исследование выполнено на белых крысах обоего пола, весом 160–180 гр., 4–6 месячного возраста. Затравка животных осуществлялась при помощи подострого воздействия ВГ в дозе 1/100 ЛК в затравочной камере. Как показали наши исследования, подострое месячное воздействие выхлопных газов приводит к выявленному возрастанию объемной доли сосудов в органах иммунной системы, что свидетельствует о выраженных дисциркуляторных расстройствах. Изучение среднего объема ядер лимфоцитов в тимусе, лимфатических узлах и селезенки показало их достоверное снижение, вероятно, связанное с угнетением обменных процессов в них. В корковом и мозговом веществе тимуса происходит снижение относительного содержания малых и средних лимфоцитов, макрофагов и клеток с митозами. При этом относительное содержание больших лимфоцитов, бластов и ретикулоэпителиоцитов повышается. Это отражает резкое снижение процессов дифференцировки в тимусе. Возрастание числа больших лимфоцитов и бластов свидетельствует о реактивных изменениях в корковом и мозговом веществе тимуса под влияние тканевых антигенов, увеличивающихся при гибели клеток. В лимфатических узлах установлено повышение относительного содержания малых лимфоцитов, эозинофилов и ретикулоцитов. Относительное содержание средних и больших лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов и клеток с митозами значительно снижается. Отмечается однотипность изменений, происходящих в тимусозависимой и тимуснезависимой зонах, что связано с сильным токсическим воздействием ВГ. Снижение содержания плазматических клеток в мягкотных тяжах и герминативном центре лимфатического узелка свидетельствуют о торможении местного иммуногенеза. В фолликулах селезенки наблюдается снижение средних, больших лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов и клеток с митозами, при этом процентное содержание бластов и ретикулоцитов достоверно возрастает. Выявленные изменения в органах иммунной системы свидетельствуют об угнетении процессов дифференцировки клеток, а также о снижении обменных процессов в них.

### **СРАВНИТЕЛЬНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОЦИТОВ И ЦЕЛОМОЦИТОВ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**А.А. Присный** *Белгородский филиал института экспериментальной ветеринарии им Я. Р. Коваленко, Белгород, Россия*

Исследование становления различных физиологических систем предполагает детальное изучение организмов различного уровня организации. Клеточный состав внутренней среды позвоночных животных подвергнут интенсивному детальному изучению, а с эволюционно более низкоразвитыми организмами ситуация выглядит неоднозначной. Проблема систематизации и всестороннего исследования нативных форменных элементов циркулирующей жидкости беспозвоночных остается актуальной для современной сравнительной физиологии. Построение такой системы без прижизненного изучения клеток с применением различных функциональных нагрузок не представляется возможным. Беспозвоночные животные характеризуются огромным видовым разнообразием, поэтому гемоциты и целомоциты не поддаются классификации только на основе морфологических критериев. Наиболее адекватным подходом к типологии форменных элементов циркулирующих жидкостей беспозвоночных является комплексный анализ морфологических и функциональных свойств клеток. Морфофункциональной базой для осуществления объемных гомеостатических реакций клеток является мембранный резерв, т.е. запасы плазмалеммы, заложенные в ее складчатости. Исследование морфофизиологических показателей клеточных элементов циркулирующих жидкостей беспозвоночных животных в норме и при изменении осмотического давления инкубационной среды позволяет оценить адаптивные возможности и резистентность различных клеточных типов, таксономические отличия в реакциях клеточных элементов, получить новые данные об адаптивных механизмах системы циркуляции аннелид, моллюсков и членистоногих. Факторы окружающей среды действуют на живые организмы в самых различных сочетаниях, комплексно. Одним из подходов к мониторингу состояния окружающей среды должна быть оценка динамики клеточного состава гемолимфы беспозвоночных, интенсивности ответной реакции гемоцитов и целомоцитов на осмотическую нагрузку, компенсаторно-приспособительных механизмов, реализуемых клетками. Значимым показателем является доля фагоцитирующих гемоцитов, обеспечивающих захват и ликвидацию чужеродных структур, проникших во внутреннюю среду организма.

### **ЭЭГ-МАРКЕРЫ НАРУШЕНИЙ ВОЗРАСТНОГО РАЗВИТИЯ ЦНС ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В АРКТИЧЕСКОМ РЕГИОНЕ**

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

С целью оценки влияния суровых условий Арктики на уровень развития детей и подростков и выявления скрытых функциональных и патологических отклонений проведены комплексные медико-физиологические исследования детей и подростков с нормальным и патологическим развитием, проживающих в Заполярье. На основе математического анализа пространственных и временных взаимосвязей и взаимодействий биоэлектрических процессов мозга с использованием методов дискретной математики (теории графов, теории потоков) разработан метод оценки возрастного формирования основных алгоритмов межцентральных динамических взаимоотношений, позволяющий оценивать уровень развития системной деятельности мозга ребенка, характер перестроек при тех или иных функциональных и патологических нарушениях. Выделены локальные и пространственные ЭЭГ-маркеры, позволяющие выявлять детей с отклонениями в возрастном развитии ЦНС, осуществлять



компьютерную диагностику психоневрологических нарушений с вероятностью до 90%. Результаты дискриминантного анализа, в котором предикторами являлись значения величин вероятностей взаимодействия отдельных компонентов (волн) в диапазоне основных частот и по всем отведениям ЭЭГ (использовалось 21 отведение), показали, что доля правильных классификаций с учетом возраста (детей, попавшим по итогам классификации в более младшую возрастную группу) для контрольной группы составляла 90%, а для школьников с расстройством развития – 88,6%. В целом, чувствительность данного диагностического метода, определяемая как доля больных, у которых данное исследование выявляет нарушение, составила 89%. Однако, для совершенствования метода и определения пределов его практического использования требуется проведение дальнейших исследований с формированием обучающихся выборки по отдельным формам отклонений в развитии и контрольной группы детей разного возраста.

#### **КАЧЕСТВО ЖИЗНИ И СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ ОТДАЛЕННЫХ РАЙОНОВ КОЛЬСКОГО ПОЛУОСТРОВА** **Н.К. Белишева** *Кольский научный центр РАН, Анатимы, Россия*

Проведено исследование по выявлению влияния социально-экономических условий на оценку качества жизни представителями различных групп населения Кольского Севера. Разработаны новые, комплексные подходы для выявления субъективных и объективных составляющих качества жизни населения, включающих индикаторы здоровья. Объективные критерии здоровья и, следовательно, качества жизни, включали показатели variability сердечного ритма (BCP), клиническое исследование периферической крови, анализ генетических нарушений в клетках буккального эпителия и лимфоцитов крови. Субъективные критерии качества жизни оценивали на основе теста SF-36, вопросников САН, Спилбергера-Ханина, а также «меры субъективного счастья». Социально-экономические индикаторы позволяли оценить работу власти муниципального образования (места проживания), а также качества жизни. Респонденты и испытуемые, привлеченные к исследованию, относились к городскому и сельскому населению, к работникам горно-рудного производства, к медицинскому персоналу, работающему и проживающему в различных населенных пунктах, к студентам, беженцам из Донбасса и сотрудникам трудно доступной и отдаленной Морской биологической станции. Все группы респондентов были охарактеризованы по возрастному, гендерному составу, структурным особенностям семей, включающих родственников из ближайшего окружения. Проведено сравнительное исследование сходства и различия в оценках социально-экономических условий жизни и ее качества респондентами, относящимися к разным социальным, гендерным и возрастным группам. Состояние здоровья сельского и городского населения, а также работников горно-рудного производства было оценено с применением всего набора показателей, объективно и субъективно характеризующих уровень здоровья. Анализ связи между объективными, субъективными показателями здоровья и социально-экономическими индикаторами качества жизни показал, что объективные показатели здоровья зависят, в значительной мере, от экологических особенностей среды проживания, а субъективная оценка здоровья – от качества жизни с ведущей социально-экономической составляющей.

#### **СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ СИСТЕМА И РЕГУЛЯЦИЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ У ЖИТЕЛЕЙ АРКТИКИ** **С.Г. Кривошеков** *НИИ физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия*

У жителей Арктики и Сибири исследовалась центральная и периферическая гемодинамика, эластичность артерий (методом апplanationной тонометрии, Сфигмокор Atcor Medical), variability сердечного ритма (CP) и полиморфизм генов (ACE, AGT, eNOS3 и ADRA2B) ассоциированных с ремоделированием миокарда. Анализ показал, что у мужчин по мере увеличения полярного стажа при одинаковом возрасте линейно возрастают как абсолютные ( $r=0.34$ ,  $p=0.021$ ), так и относительные (аугментационный индекс,  $r=0.36$ ,  $p=0.017$ ) значения аугментационного давления в аорте, что обусловлено более мощной волной, отраженной от жестких периферических артерий. Это сопровождается повышением нагрузки на миокард, который вынужден совершать большую работу для создания необходимого давления и должного кровотока в периферических сосудах. Установлена прямая зависимость между параметрами артериальной жесткости и полярным стажем, которая указывает на опережающие возрастные изменения, огрубление артерий по мере увеличения длительности проживания на Севере. Возрастная динамика регуляции CP у жителей высоких и средних широт в сходных возрастных группах различается: у жителей высоких широт наблюдается снижение резервных возможностей организма уже в пределах возрастных когорт 20–29 и 30–39 лет, в то время как у жителей средних широт такое снижение происходит в возрастной группе 40–49 лет. Снижение вклада парасимпатической НС в регуляцию CP у жителей Севера в возрастных группах 20–29 лет и 30–39 лет свидетельствует о более высокой чувствительности населения к воздействию факторов среды разной природы. По частотам генотипов полиморфизма генов найдены достоверные отличия в частоте встречаемости по ACE II, ACE ID и ADRA2B II между группами «Ремоделированные» – «Популяция». Обращает внимание отчетливая тенденция ассоциации полиморфизма гена eNOS3, отвечающего за реактивность сосудистого ответа с процессами ремоделирования миокарда. Обнаруженные генетические предрасположенности к развитию гипертензии и ремоделированию миокарда с одной стороны демонстрируют индивидуальную уязвимость к действию экстремальных факторов, а с другой – открывают пути поиска генетических типов, устойчивых к условиям Арктики и формирования устойчивой популяции.

#### **МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ У ЮНОШЕЙ УРОЖЕНЦЕВ СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ ИЗ ЧИСЛА АБОРИГЕНОВ И УКОРЕНЕННЫХ ЕВРОПЕОИДОВ**

**А.Л. Максимов, И.В. Аверьянова** *Научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО РАН, Магадан, РФ*

Во второй половине XX века достаточно детально были изучены соматометрические и физиологические перестройки организма у аборигенов и мигрантов жителей различных приарктических регионов и только в последние 10–15 лет начали активно проводиться сравнительные морфофункциональные исследования в различных популяциях постоянных жителей уроженцев Севера в первом и последующих поколениях из числа укорененных европеоидов. Проведенное нами в период с 2009 по 2015 гг. в этом аспекте сравнительное изучение основных параметров физического развития и показателей сердечно-сосудистой системы у аборигенов и укорененных жителей из числа европеоидов, проживающих в различных регионах Северо-Востока России (Чукотка, Магаданская область) не выявило по большому числу изученных характеристик статистически значимых различий. Полученные данные свидетельствуют о сближении среднестатистических морфофизиологических показателей

между современными аборигенами и уроженцами Северо-Востока России на фоне конвергентного типа адаптации. Проанализированные за период с 1975 по 2015 гг. соматометрические характеристики показали, что у юношей–аборигенов, по сравнению с европеоидами, отмечаются более высокие темпы прироста длины тела, что свидетельствует о выраженной астенизации соматотипа. В различных этнических группах, изучение ряда биохимических характеристик крови отражающих состояние липидного и углеводного обмена показали, что ни один из основных показателей липидного пула не выходил за границы референтных значений, но их средние величины находились на нижней границе нормы. При этом статистическая значимая разница между всеми изучаемыми показателями липидного профиля свидетельствуют о сохранении определенных различий между аборигенами и укорененными европеоидами. Важно отметить, что выявленный в более чем 25% случаев повышенный (больше 5,6 ммоль/л) уровень глюкозы у представителей двух этнических групп предполагает высокую вероятность формирования у этих лиц состояния преддиабета. В целом анализ полученных нами данных о морфофункциональных перестройках позволяют говорить, что у современных молодых аборигенов и укорененных европеоидов Северо-Востока России формируются свои региональные границы так называемой «адаптивной вариабельности».

### **ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ КАЧЕСТВА ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА НА СЕВЕРЕ РОССИИ**

**М.И. Бочаров** *Ухтинский государственный технический университет, Ухта, Россия*

Исследования разных возрастных и популяционных групп позволили установить следующее. Рост и развитие детей 7-16 лет Заполярья (Воркута, 67°28' с. ш.) относительно таковых граничного региона (Сыктывкар, 61°40' с. ш.) направлены на увеличение метаболической массы тела (гиперметаболизм), поддержание эффективного внешнего дыхания, понижение теплоотдачи с поверхности тела за счет уменьшения его поперечных размеров и увеличения жираотложения. Среди детей севера (61°40' с. ш.), особенно после 10 лет, более 60% обладают пониженным уровнем адаптаспособности организма и повышенной напряженностью вегетативных процессов, что редко отмечается у сверстников умеренной зоны (Новочебоксарск, 56°06' с. ш.). Дополнительные техногенные нагрузки (выбросы ЛПК) на организм детей севера обуславливают еще большее напряжение механизмов вегетативной регуляции. Если у большинства девочек севера формирование высокого уровня «устойчивости произвольной внимания» отмечается к 10 годам, его «переклочения» – к 13 годам, то «распределения внимания» достигает должной зрелости к 17 годам и только в 6,6% случаях. У студентов северного ВУЗа (СыктГУ) отклонение «психического здоровья» от нормы среди девушек (n=857) составляет 51,2%, юношей (n=517) – 39,8%, а пограничное и клиническое проявление невроза отмечено в 47,9 и 23,39% случаях, соответственно. Судя по вегетатике, низким качеством «физического здоровья» отличаются 40,3% девушек и 39,1% юношей, нарушение гармоничности физического развития по дефициту массы тела имеют 30,6% девушек и 11,2% юношей. Выявлена нелинейная зависимость проявления невроза от дефицита массы тела и доминирования ваготонии. У мужчин севера с увеличением возраста (от 18-25 к 40-55 годам) зимой в ответ на локальное охлаждение уменьшается эффективность реакции гемодинамики и понижается реактивность периферических сосудов, ослабляется кардиоэффект на дополнительное введение системного бета-блокатора или адrenomиметика. При вызванном усилении, либо облегчении венозного возврата крови существенно понижается деполаризация базальных сегментов миокарда и замедляется атриовентрикулярное проведение; у гипертоников зимой селективный бета1-адреноблокатор вызывает более выраженные структурно-функциональные изменения левого сердца, приводя к повышению срочного гипотензивного эффекта.

### **ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ У ЖЕНЩИН-СЕВЕРЯН С ФОНОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ**

**А.С. Пан, С.Н. Игнатъева** *Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия*

Север – своеобразная климато-географическая зона нашей планеты, где организм человека испытывает воздействие целого комплекса факторов, сказывающихся на физиологических процессах в организме. Иммуной системе принадлежит ведущая роль в обеспечении и поддержании гомеостаза организма, а также формировании согласованных реакций его отдельных систем в ответ на внешние воздействия. Целью исследования являлось изучение особенностей иммунореактивности у женщин раннего репродуктивного возраста с фоновыми заболеваниями шейки матки, проживающих на Европейском Севере. В группу иммунологического обследования вошли 141 пациентка (49 женщин с эктопией шейки матки, 32 – с эрозией шейки матки, 60 – контрольная группа). Иммунологическое обследование включало изучение лимфоцитогаммы, фенотипирование лимфоцитов, определение в периферической крови иммуноглобулинов, цитокинов. Данные обследования выявили изменения иммунореактивности в виде дисбаланса иммунной системы: сокращение содержания в периферической крови фенотипов Т-л, дефицит IgA, фагоцитарной защиты на фоне пролиферативных процессов со стороны иммунокомпетентных клеток и высокой частотой токсикологических уровней ЦИК. Недостаточность отдельных звеньев иммунной защиты (уменьшение количества клеток, отражающих уровень апоптоза CD95) формируется на фоне пролиферативной реакции со стороны нейтрофилов, моноцитов, клеток-носителей CD10, увеличение концентрации CD4, цитотоксических клеток CD8, естественных киллеров CD16 и увеличения доли цитокиновой регуляции (ИЛ-2, ФНО-альфа) с одновременным сохранением актуальности активизации лимфоцитов (CD25-CD16-CDHLDR-CD71) по классическому типу. Данные позволили выявить и оценить особенности субпопуляционного состава лимфоцитов и цитокинового профиля ИС, что позволяет иммуномодулировать важнейшие звенья иммунобиологического ответа.

### **ОСОБЕННОСТИ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ У СТУДЕНТОВ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ**

**С.И. Игнатъева, А.С. Пан** *Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия*

Изучение механизмов адаптации, резервных возможностей организма в природных и производственных условиях является одной из важнейших биологических проблем. Эти сведения представляют интерес для региональных особенностей адаптивных сдвигов в условиях Севера – имеются в виду явления приполярной гипоксии, которые были обнаружены ранее на организменном уровне. Обследовались студенты III курса университета, коренные жители Архангельской области. Изучалась активность ферментов энергетического метаболизма: митохондриальной сукцинатдегидрогеназы (СДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в лимфоцитах периферической крови (по методу Р.П. Нарциссова, 1969) а также лизосомальных гидролаз (КФ, ЩФ) в

гранулоцитах (Goldberg, Barka, 1962). Наиболее низкая активность СДГ отмечалась в декабре. В начале весеннего семестра – в феврале, она повышалась, а к концу учебного года – в мае, уменьшалась, приближаясь к активности фермента в сентябре (контроль). Активность ГДГ постепенно возрастала, и в мае наблюдалось достоверное увеличение активности фермента. Более высокие уровни активности фосфатаз отмечены в декабре, мае, июле. В периоды психоэмоционального напряжения (экзамены) наблюдалось повышение активности СДГ, ГДГ, но следует отметить, что зимой дегидрогеназы активнее, чем во время летней экзаменационной сессии. Фазная динамика активности окислительных и гидролитических ферментов говорила о напряжении нейроэндокринного звена гомеостатической системы, которое проявляется изменением внутриклеточного обмена, в частности некоторой дезорганизацией цикла Кребса и явлениями биоэнергетической гипоксии, что послужило рекомендацией для применения метаболической терапии глицином у студентов. Проведенный курс коррекции данным препаратом показал улучшение психологических характеристик у студентов (снижение уровня напряженности и повышение эмоционального тонуса, снижение показателя тревожности) и положительный эффект на процессы клеточной энергопродукции (увеличилась активность СДГ), что повышает резервы адаптации и оптимизирует процесс обучения у студентов.

### **СРАВНЕНИЕ ЖЕЛАТЕЛЬНЫХ И РЕАЛЬНЫХ КАЧЕСТВ ЛИЧНОСТИ СТУДЕНТОВ И ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНКЕТИРОВАНИЯ**

**А.О. Щербаков, А.Т. Барабошин**

*Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

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

### **ОПТИМИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ К УГЛУБЛЕННОМУ ИЗУЧЕНИЮ ФИЗИОЛОГИИ**

**Ф.А. Шукуров, Ф.Т. Халимова**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Из теории функциональных систем организма следует, что любому целенаправленному поведению предшествует мотив – желание – актуальная потребность, способствующая гармонизации нашего внутреннего мира. Заставить человека изучать тот или иной предмет практически невозможно, если у него не формируется мотивация к повседневному изучению данного предмета. Формирование этого мотива осуществляется через ряд этапов, одним из которых является ВУЗ. С первых дней пребывания студента в ВУЗе необходимо формировать в нем мотивацию к самостоятельной работе, что будет способствовать более углубленному изучению любого предмета. Еще великий А. Фирдавси говорил: «Стремись к наукам, познавай их суть, в учении трудолюбивым будь». Путь подготовки специалиста через оптимизацию самостоятельной работы был еще определен в древние времена, о чем свидетельствует широко известный афоризм Плутарха «Ученик не чаша, которую надо наполнить, а факел, который надо зажечь». Для повышения интереса студента к самостоятельной работе, необходимо с первых дней пребывания в вузе убедить его, что его знания – это его интеллектуальная собственность, его капитал!!! При интерактивном обучении студент получает знания от преподавателя не в готовом виде, а в процессе собственной деятельности, что можно обеспечитьстройной системой самостоятельной работы. Для проведения самостоятельной работы нами разработана 7-уровневая система контроля усвоения знаний путём мобилизации различных познавательных умений: от уровня узнавания, воспроизведения и элементов логического мышления до решения различных ситуационных задач: первый уровень ориентирован на проверку знаний–узнавания; второй уровень ориентирован на проверку знаний и логического мышления, Этот уровень позволяет проверить понимание причинной связи и зависимости между физиологическими явлениями; третий уровень ориентирован на проверку знаний различных физиологических терминов, их значений; четвертый уровень определяет глубину знаний физиологического материала с использованием различных схем и умение использовать эти схемы для объяснения механизмов, происходящих процессов; пятый уровень определяет умение обобщать полученные знания и представить механизм физиологического процесса в виде схемы с различными обозначениями; шестой уровень определяет умение студента ориентироваться в различных физиологических понятиях и терминах; седьмой уровень определяет умение использовать теоретические знания для решения ситуационных задач. Таким образом разработанная нами система проведения самостоятельной работы позволяет формировать у студента мотив к более углубленному изучению одной из фундаментальной дисциплин в медицинском вузе – нормальной физиологии.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЕГЕТАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТУДЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФОРМЫ ОБУЧЕНИЯ****М.Б. Устоев, М.Т. Алиева, Б.Р. Устоев** *Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан*

В настоящее время получение высшего профессионального образования зависит от уровня общешкольной подготовки, способностей высшей нервной деятельности и состояния здоровья. Адаптация студентов к учебной деятельности в ВУЗе определяется их индивидуальными особенностями и является залогом успешности обучения и сохранения здоровья. Последнее наиболее ярко проявляется в изменении вегетативных функций. У студентов с кредитной формой обучения наблюдается уменьшение умственной и стрессовой нагрузки в связи с тестовым методом сдачи экзаменов, неравномерностью распределения нагрузок, отсутствием постоянной обратной связи с преподавателем. У студентов с традиционной формой обучения отмечается более высокая стрессовая нагрузка в связи с наличием обратной связи с преподавателем, активной умственной и стрессовой нагрузки в период сессии, результатом чего является высокая степень эмоционального напряжения. На современном этапе развития системы образования актуальным является изучение особенности функционального состояния организма студентов в условиях совмещения двух видов обучения. В связи с этим целью данного исследования явилась оценка и прогнозирование психофизиологического напряжения студентов в период сдачи экзаменов при различных формах обучения. Исследования проводились у студентов до, во время и после сдачи экзаменов при обеих формах обучения. Во время исследования учитывали физиологическую характеристику эмоционального напряжения у студентов в динамике учебного процесса в зависимости от формы обучения. В результате проведенных исследований установлено, что у студентов 2–3-го года обучения адаптированных к кредитной форме обучения отмечаются явления дизадаптации при резком переходе на традиционную форму обучения. Они с трудом ориентируются в усвоенном материале знаний и не имеют базовую ориентацию прошедшего материала, так как в течении нескольких семестров адаптировались к сдаче экзаменов по критериям тестов (А, В, С, D, E). При переходе от тестов к билетам им приходилось знакомиться с учебниками, посещать дополнительные занятия с преподавателями, что в свою очередь приводило к изменениям функциональной активности организма. Таким образом, при переходе от одной формы обучения к другой необходимо учитывать благоприятные и неблагоприятные факторы, способствующие уменьшению степени эмоционального напряжения.

**ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ВОЗРАСТНОЙ ФИЗИОЛОГИИ****О.А. Белова** *Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань, Россия*

Предмет «Возрастной анатомии и физиологии» значительно расширил свои рамки в педагогических образовательных учреждениях России. На развитие возрастной физиологии большую роль оказали исследования биокрибриетиков, которые сформулировали основной аппарат терминов, необходимых для понимания понятий «кибернетической системы» и «информации». Это помогает усвоению «системного подхода» и применению его при преподавании. Знания возрастной физиологии представляют определенный комплекс физиологических и функциональных нормативов, их изменений в зависимости от возрастного периода, пола, соматометрических показателей. Данный подход является адекватным и применим при современном обучении. Он связан с такими понятиями как «организация», «управление», «связь», «целеполагания». Преподавая возрастную физиологию, мы всё чаще используем наиболее разработанное понятие теории функциональных систем П.К. Анохина и изменение их на различных возрастных этапах. Изучая раздел развития опорно-двигательного аппарата опираемся на теорию Н.А. Бернштейна (физиология активности), теорию общих систем Л. Берталамфи. В своей преподавательской деятельности используем идеологию теории функциональных систем, особенно применительно к поведенческим реакциям. Она не является догмой, а представляет собой руководство при изучении физиологического материала и его изложения студентам. При преподавании «Возрастной анатомии и физиологии» будущим учителям и бакалаврам дефектологии стоит постоянно подчеркивать и обращать внимание студентов на более глубокое изучение таких разделов как «Закономерности роста и развития детей и подростков»; «Физиология центральной нервной системы»; «Физиологию высшей нервной деятельности»; «Физиологию сенсорных систем». На занятиях много времени следует уделять материалистическим принципам в работах «Отца русской физиологии» И.М. Сеченова о психической деятельности человека, особенности её становления в процессе онтогенетического развития. На лекциях преподносятся принципы рефлекторной теории в свете учения нашего земляка И.П. Павлова.

**ПРЕПОДАВАНИЕ ФИЗИОЛОГИИ И СОВРЕМЕННЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ****Л.К. Токаева, Е.В. Понукалина, Н.Е. Бабиченко, В.М. Головченко, И.В. Смышляева** *Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского МЗ РФ, Кафедра нормальной физиологии им. И.А. Чувевского, Саратов, Россия*

Большинству медиков ясно, что физиология – это наука о жизнедеятельности целого организма, о динамике протекающих в нем жизненных процессов и его взаимодействии с окружающей средой. Знание физиологии позволяет врачу рассматривать организм человека как единое целое и понимать, что эта дисциплина в медицинском вузе имеет непосредственное отношение к медицине, являясь ее фундаментом. Хороший врач не может состояться как профессионал без знания физиологии. Нельзя лечить больного, не зная норму физиологических процессов и характеризующих их величин. Древняя мудрость гласит: «Если я услышу – то забуду, увижу – запомню, а сделаю своими руками – научусь». С этих позиций и должно строиться обучение базовой дисциплине. Поэтому, чтобы повысить качество обучения необходимо исходить из этих положений. Одних инноваций недостаточно. Обучение должно строиться на классических формах обучения, таких как обязательное посещение лекций, практических занятий, о чем указано в ФЗ «Об образовании в РФ» № 273 от 29.12.2012 г., с последующим обязательным контролем результатов самостоятельной работы студентов при пропусках лекций или практических занятий. Однако, деканаты допускают до промежуточной аттестации студентов, пропустивших лекции и практические занятия, а иногда и их львиную долю. О каком качестве обучения может идти речь, если по новым учебным планам сокращено количество часов лекций и практических занятий, обучение на практических занятиях строится лишь на озвучивании теоретических положений. Вопросы, разбираемые на практических занятиях, должны подкрепляться экспериментами на лабораторных животных, наблюдениями на человеке. Необходимость экспериментальных исследований подтверждается сравнением успеваемости студентов в 2001-2002 учебном году, когда широко использовались эксперименты на животных и наблюдения на человеке, с данными

2014-2015 года. Средний балл в экзаменационную сессию 2001=2002 учебного года на лечебном и педиатрическом факультетах составил соответственно 4,1 и 4,0. В 2014-2015 учебном году, когда использовались лишь наблюдения на человеке, средний балл составил 3/5 и 3,4 балла.

Инновации в учебном процессе могут обеспечиваться различными способами, в том числе применение информационных технологий для самостоятельного пополнения знаний (написание рефератов, создание презентаций, самостоятельная работа студентов с учебными материалами в интернете, создание презентаций, решение ситуационных задач), чтение проблемных лекций и т.д. Инновационные приемы обучения лучше использовать для контроля самостоятельной работы студентов. Инновации в учебном процессе не могут давать эффекта, если нет практического подкрепления теоретических вопросов. Чтобы студент был заинтересован в изучении предмета, он обязательно должен что-то делать своими руками. На этом фоне инновационные приемы в преподавании будут давать положительный результат и обеспечат повышение качества обучения.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ ТРЕВОЖНОСТИ И ЛАБИЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ С ИХ УСПЕВАЕМОСТЬЮ**

**Б. Саидов, Д. Ниязова** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Целью исследования явилось изучение сравнительной характеристики видов тревожности и эмоциональной лабильности студентов с их успеваемостью. Нами обследовано 187 студентов II – курса медицинского и педиатрического факультетов (106 юношей и 81 девушка). Тревожность и эмоциональную лабильность определяли по цветовому тесту Люшера. С помощью этого теста мы определили 4 степени тревожности: нормальная, умеренная, повышенная и высокая. Виды тревожности определяли по тесту Тейлор у студентов, которые по шкале ложности набрали 4 балла и меньше. Успеваемость студентов оценивали по среднему балу четырех итоговых занятий. Анализ результатов оценки тревожности показал, что нормальная тревожность присутствует лишь у 2,5% студентов; повышенная – у 19,2%; высокая – у 78%, из них 13,3% проявляют очень высокую тревожность от 30 до 36 баллов. У студентов с повышенной тревожностью 80% за счет нервного компонента и 20% за счет социального. У студентов с высокой тревожностью 89% за счет нервного компонента и у 11% – за счет социального компонента. У студентов с очень высокой тревожностью 64% за счет нервного компонента и у 36% – за счет социального компонента. Превалирование нервного компонента тревожности можно объяснить тем, что при эмоциональном стрессе под влиянием многочисленных социальных, психогенных, психологических факторов равновесие душевного состояния человека может нарушиться. В связи с этим возникает тревожное состояние, дискомфорт, настороженность без признаков угрозы. Следует отметить, что у студентов с высокой и очень высокой тревожностью очень велика доля неадекватной самооценки по сравнению со студентами, имеющими адекватную самооценку. Сравнительный анализ тревожности с успеваемостью показывает, что среди студентов с неудовлетворительной успеваемостью с нормальной тревожностью 41% и 59% обследованных имеют умеренную (28%), повышенную (18%) и высокую (13%). Среди студентов с удовлетворительной успеваемостью с нормальной тревожностью 32%. Среди студентов с хорошей успеваемостью с нормальной тревожностью 38%. Следует отметить, что среди студентов с хорошей успеваемостью отсутствуют лица с высокой тревожностью. Таким образом, каждый третий студент (33%), обучаясь на втором курсе, имеют повышенную и высокую тревожность, что свидетельствует о том, что они еще недостаточно адаптированы. Среди студентов с высокой тревожностью юношей больше (62%), чем девушек (38%). Среди студентов с неудовлетворительной успеваемостью имеющие высокую тревожность значительно преобладают юноши (91%). Большая часть обследованных (71%) составляют эмоционально лабильные студенты. Следует отметить, что среди эмоционально стабильных отсутствуют лица с повышенной и высокой тревожностью.

Таким образом, анализ структуры повышенной, высокой и очень высокой тревожности показывает, что ведущим компонентом является нервная тревожность. При этом отсутствуют студенты, у которых проявление тревожности за счет соматического компонента.

### **ЛИЧНОСТНО-ВЕГЕТАТИВНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА**

**Д. Сулаймонова, П. Зухурова**

*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Успешное решение задач по подготовке высококвалифицированных кадров тесно связано с укреплением и охраной здоровья молодых людей (Н.А. Агаджанян, 2005, 2006; Ф.А. Шукуров, 2005). Разработка и использование методов управления процессами адаптации студентов к эмоциональному стрессу, является необходимым условием сохранения их здоровья, повышения эффективности учебного процесса. Исключительная роль в этом вопросе имеет определение напряжения регуляторных механизмов по состоянию автономной нервной системы (АНС) во взаимосвязи с показателями личностной характеристики. Целью работы явилось комплексное изучение состояния автономной нервной системы во взаимосвязи с личностными характеристиками, определяющими устойчивость студентов к эмоциональному стрессу. Для достижения этой цели было обследовано 480 студентов, у которых изучали состояние автономной нервной системы по показателям математического анализа сердечного ритма. Для оценки личностной характеристики использовали тест Спилберга, адаптированный Ю.Л. Ханиным (1981). Результаты сравнительного анализа распределения групп по типам КРГ показывают, что самой многочисленной на фоне обучения остается группа студентов с КРГ III типа (45,6%). I тип КРГ, характеризующийся наибольшей свободой колебания длительности кардиоинтервалов, на фоне обучения встречается всего лишь у 3% студентов. IV тип КРГ самый напряженный (в виде единичных точек) встречается у 30,2% студентов, то есть у каждого третьего студента отмечается резко выраженная степень напряжения регуляторных систем. Следует отметить, что по мере удаления от I типа увеличивается степень напряжения регуляторных механизмов организма, и повышается влияние симпатического отдела автономной нервной системы. Сравнительный анализ личностной характеристики и состояния автономной нервной системы (АНС) позволил выделить следующие типы адаптации: 1) адаптация полностью завершена – когда умеренному и низкому уровню ЛТ и РТ соответствует нормотонический и ваготонический тип взаимодействия отделов АНС (I тип КРГ); 2) адаптация не завершена, но протекает адекватно: а) когда умеренному и низкому уровню ЛТ и РТ соответствует симпатикотонический тип взаимодействия отделов АНС (III и IV типы КРГ); б) высокому уровню ЛТ и РТ соответствует нормотонический и ваготонический тип взаимодействия

отделов АНС (I и II типы КРГ); 3) дизадаптация – нарушение адаптационных возможностей организма, когда высокому уровню ЛТ и РТ соответствует симпатикотонический тип взаимодействия отделов АНС (III и IV типы КРГ).

Таким образом, анализ соотношения типов корреляционных ритмограмм (КРГ) с показателями РТ и ЛТ позволил выделить группы, обладающие разной стрессоустойчивостью. При этом наиболее адаптированными (устойчивыми к стрессу) следует считать те лица, у которых I тип КРГ совпадает с умеренным уровнем РТ и ЛТ. Менее стойки к эмоциональному стрессу лица с III и IV типами КРГ и высоким уровнем РТ и ЛТ. Взаимокомпенсация вегетативных систем и личностных характеристик отмечается, когда I–II типам КРГ соответствует высокий уровень РТ и ЛТ, либо III–IV типам КРГ соответствует умеренный уровень РТ и ЛТ.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРЕВОЖНОСТИ, ПОДВИЖНОСТИ НЕРВНЫХ ПРОЦЕССОВ И САМООЦЕНКИ СТУДЕНТОВ**

**М. Шехова, З. Фатихова** *Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Душанбе, Таджикистан*

Поступив в ВУЗ, студент оказывается в новых социально-психофизиологических условиях. Адаптация к комплексу новых факторов, специфичных для высшей школы, представляют собой сложный многоуровневый социально-психофизиологический процесс, и сопровождается значительным напряжением компенсаторно-приспособительных систем организма. Целью данной работы явилось оценить взаимосвязь тревожности и подвижности нервных процессов с адекватностью самооценки студентов. Нами обследовано 340 студентов. Для оценки уровня притязаний студентам предлагалось дописать высказывание: «Я был(а) бы полностью удовлетворен(а), если бы получил на государственном экзамене по нормальной физиологии оценку ...». Следует отметить, что вышеуказанные данные мы собирали в конце учебного года. К этому моменту студенты сдали 4 итоговых занятия и могли по их результатам реально оценить свои возможности. Сопоставляя полученную информацию с имеющимися фактическими среднегодовыми оценками, мы выделили следующие уровни адекватности–неадекватности самооценки: 1) нереально завышенная самооценка (НЗС) – разница составляет  $\pm 1,5$  балла и более; 2) высокая самооценка (ВС) – разница  $\pm 1$  балл; 3) адекватная самооценка (АС) – разница от 0 до  $\pm 0,5$  балла; 4) низкая самооценка (НС) – разница составляет  $-0,5$ ;  $-1$  балл. Уровень тревожности определяли при помощи теста Тейлор и короткому тесту Люшера.

Результаты исследования уровня притязаний показывают, что только 46,5% студентов обладают адекватной самооценкой, остальные 53,5% – с неадекватной, которые распределились следующим образом: нереально завышенная самооценка (НЗС) – у 17,3%, высокая самооценка (ВС) – у 29,6%, низкая самооценка (НС) – у 6,6%. Сравнительный анализ адекватности самооценки со стабильностью нервных процессов показывает, что максимум претензий на будущую оценку имеют меланхолики, чуть меньше и без существенных различий между собой заявляют флегматики и холерики и наименьшее запрашивают сангвиники. Сравнение тревожности с адекватностью самооценки показывает, что максимальный желаемый результат, также как и максимальный фактический показывают лица с нормальным уровнем тревожности (до 13 баллов) и у них же наблюдается минимальный разрыв между реальной и прогнозируемой ситуацией – 0,5 балла. Далее мы видим, что рассогласование нарастает по мере увеличения общего балла тревожности: для лиц с повышенной тревожностью (14–20 баллов) – 0,64; с высокой – 0,64 и для студентов с очень высоким баллом (более 30) – 0,74. Следует отметить, что у студентов со всеми типами неадекватной самооценки очень велика доля высокой и очень высокой тревожности по сравнению со студентами, имеющими адекватную самооценку.

Таким образом, адекватность самооценки находится в прямой зависимости от уравновешенности (нейротизм) и подвижности (экстраверсия–интроверсия) нервных процессов в КБП: чем менее стабильны процессы в КБП, тем менее адекватна самооценка и тем ниже успеваемость.

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАТФОРМЫ MOODLE ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ В ПРОЦЕССЕ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «НОРМАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ»**

**М.Н. Носова, О.В. Алексеева, В.И. Киселёв, И.И. Шахматов, Э.В. Фохт, Ю.А. Бондарчук, В.М. Вдовин, О.М. Улитина, Г.Ю. Шатилло, Н.А. Лычёва, Т.Г. Моисеева, В.Ю. Николаев, А.А. Блажко**

*Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия*

В соответствии с Федеральными государственными стандартами высшего профессионального образования особое внимание в преподавании нормальной физиологии уделяется самостоятельной работе студентов (СРС). Компетентностно-ориентированный подход в образовательном процессе повышает целенаправленность учебной деятельности студента, улучшает ее качество и результаты усвоения теоретического и практического материала. СРС начинается с изучения теоретического материала с использованием основной и дополнительной литературы, текста лекции, ознакомления с алгоритмом выполнения практических работ, в том числе экзаменационных мануальных и когнитивных навыков. Для реализации данной задачи использование интернет-платформы MOODLE позволяет оптимизировать и организовать на более высоком методическом уровне самостоятельную работу студентов. В рамках дистанционного образования на платформе MOODLE студенты работают с информационным обучающим и контролирующим блоками. Обучающий блок включает презентации и динамические слайды (Flash-презентации), представляющие собой схемы, механизмы физиологических процессов и их регуляции, ситуационные задачи, видеоматериалы. На платформе размещены также видеопленки, демонстрирующие выполнение экзаменационных практических навыков, подготовленные коллективом кафедры. Контролирующий блок состоит из двух этапов: тестовые задания для самоконтроля и обязательное для выполнения «Домашнее задание» по теме предстоящего практического занятия. «Домашнее задание» разделено на блоки, каждый из которых включает теоретический материал и контролирующие вопросы. Этот заключительный этап самостоятельного обучения оценивается программой, и набранное количество баллов включается в индивидуальный рейтинг студента по дисциплине. Возможность повторного выполнения задания формирует нацеленность обучающегося на результат и позволяет преподавателю осуществлять мониторинг СРС. Таким образом, использование в образовательном процессе современных обучающих технологий и стимулирование самостоятельной деятельности студента позволяет значительно повысить качество подготовки к практическим занятиям и мотивацию будущих специалистов на получение новых и качественных знаний, что немаловажно для формирования профессиональных компетенций будущего врача.

**СОВРЕМЕННЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРЕПОДАВАНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ПСИХОФИЗИОЛОГИЯ»**

**Е.С. Оленко, В.Ф. Киричук, Н.Е. Бабиченко**

*Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия*

Согласно новому образовательному стандарту инструментом определения уровня подготовки студентов, а также эффективности образовательного процесса в целом, является компетентностный подход. Формируются и оцениваются компетенции в рамках различных единиц программы, с учетом преемственности преподавания различных дисциплин. Эффективным инструментом освоения компетенций в рамках конкретной дисциплины является подход Блума – иерархическая организация мыслительного процесса. Созданная модель называется «таксономией Блума». Блум выделяет шесть уровней учебных целей: уровень 1 – знание (информация); уровень 2 – понимание (наиболее важный уровень, требующий от студента активного подхода); уровень 3 – применение; уровень 4 – анализ; уровень 5 – синтез; уровень 6 – оценка. В этой иерархии, каждый уровень зависит от способности учащегося работать на этом уровне или уровнях и если что-то не получается, то есть возможность вернуться к более низкому уровню. Применительно к нашей дисциплине компетентностный подход преподавания основан на интерактивных его формах, удельный вес которых составляет более 50 %. Пример. Перед лекцией «Функциональная асимметрия как проблема дифференциальной психофизиологии» задается вопрос, на который нет конкретного ответа: Опишите особенности взаимодействия двух сигнальных систем у левой, правой, а также объясните механизмы происхождения этих особенностей? Предлагается оформить два отдельных протокола, разбор которых проводится на практическом занятии в диалоговом режиме, с элементами научной дискуссии, преподаватель осуществляет координационную функцию (уровень 2 по Блуму). Для полноценного ответа на этот вопрос необходимо вспомнить информацию, полученную на 1-2 курсах. После обсуждения студентам предлагается исследовать функциональные асимметрии полушарий головного мозга (сенсорные и моторные) у себя с помощью компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования «НС-Психотест», ООО «Нейрософт», г. Иваново (уровень 3 по Блуму). Полученные результаты обсуждаются, описывается индивидуальный профиль функциональной сенсомоторной асимметрии (уровень 4 по Блуму), на основании чего студентам предлагается отобрать наиболее значимые психофизиологические методики, характеризующие функциональную асимметрию (уровень 5 по Блуму). Полученные знания необходимы для изучения последующих дисциплин, на которых компетенции должны достигнуть уровня 6 по Блуму (оценки).

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ДИСТАНЦИОННОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПРИ ПРЕПОДАВАНИИ ФИЗИОЛОГИИ СТУДЕНТАМ СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ФИЗИЧЕСКАЯ КУЛЬТУРА И СПОРТ»**

**А.Б. Еланцев, А.А. Маутенбаев, Г.Б. Мадиева**

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

В нашем университете в течении ряда лет ведется подготовка студентов по специальности «Физическая культура и спорт». Понятно, что студенты должны получить весь определенный Госстандартом объем знаний, умений, навыков, независимо от того по какой специальности обучения они специализируются. В частности, это касается такой фундаментальной дисциплины как физиология. К сожалению, выполнение этой очевидной задачи препятствуют проблемы являющиеся специфическими для студентов – спортсменов: 1. длительное отсутствие студента на аудиторных занятиях. 2. отсутствие постоянной связи студента с преподавателем при нахождении на сборах или соревнованиях. 3. отсутствие в вузе единого учебно-методического комплекса дисциплины или дисциплин, адаптированного к особым условиям обучения спортсменов. 4. трудности с организацией обучения студентов по индивидуальному графику, особенно это касается студентов в спорте высоких достижений. Ключевым в этом перечне является переход на индивидуальный график обучения, что затрудняется негативной реакцией со стороны сотрудников деканатов и учебно-методического отдела университетов, что связано с изменением объема нагрузки преподавателя. Как известно в дистанционном обучении широко применяется три основных видов: кейс-технология, TV –технологии и сетевые технологии. Имеющийся у нас опыт позволяет утверждать, что наиболее приемлемый для качественной подготовки в нашем случае является кейс-технология в сочетании с поддержанием постоянного контакта со студентом через электронную почту, а когда есть необходимость, – и личный контакт в аудитории. Это технология проста, не требует специального оборудования, и необходимым условием для применения которой является наличие у студента комплекта учебно-методического материала по конкретной дисциплине. Использование данной технологии обеспечивает достаточно высокий уровень подготовки, соответствующий требованиям, предъявляемым к выпускнику высшего учебного заведения.

**ФУНКЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ХИНОИДНЫХ ПИГМЕНТОВ МОРСКИХ ЕЖЕЙ**

**Н.П. Мищенко, Е.А. Васильева, С.А. Федорев**

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

В последнее время возник новый интерес к изучению вторичных метаболитов морских ежей (класс иглокожих, *Echinoidea*) в связи с обнаружением широкого спектра ответов, определяющих их иммунные механизмы. В этом важная роль принадлежит клеткам целомоческой жидкости – целомочитам, представляющих примитивную систему врожденного иммунитета и участвующих в фагоцитозе, инкапсуляции, свертывании, цитотоксичности, заживлении ран и др. Целомочиты, содержащие в цитоплазме красные пигментные гранулы (красные амебоциты), впервые были описаны в 1885 году МасМуном, а красному пигменту он дал название – эхинохром. Многие исследователи отмечают, что у большинства видов морских ежей как реакция на изменение температурного режима, гипоксию, экспозицию на воздухе, гипертермию, электрошок, ранение, заражения микроорганизмами происходит окрашивание целомоческой жидкости в результате разрушения красных амебоцитов с освобождением эхинохрома. Используя хроматомасс-спектрометрический метод, мы исследовали пигментный состав целомочитов морских ежей Охотского и Японского морей: *Scaphechinus mirabilis* A. Agassiz and *Echinarachnius parma* Lamarck (order *Clypeasteroidea*, family *Scutellidae*), *Mesocentrotus nudus* Tatarenko & Poltaraus, *Strongylocentrotus intermedius* Agassiz, *St. pallidus* Sars G.O., *St. droebachiensis* O.F. Müller, *St. polyacanthus* A. Agassiz & H.L. Clark (order *Echinoidea*, family *Strongylocentrotidae*), and *Echinocardium cordatum* Pennant (order *Spatangoida*, family *Loveniidae*) с целью определить является ли эхинохром един-

ственным пигментом красных амебозитов. Было обнаружено, что только в целомочитах *Ech. cordatum* и *Sc. mirabilis* пигментные гранулы содержат единственный хинон – эхинохром А. Пигменты целомочитов других видов морских ежей представлены различными наборами известных спинохромов, которые согласуются с видоспецифичными наборами пигментов панциря и игл этих животных. Определена структура хиноидных пигментов яйцеклеток и развивающихся личинок некоторых видов морских ежей. Установлено, что кроме эхинохрома А, важную роль на всех этапах жизнедеятельности этих животных играет спинохром Е. Изучены цитотоксическая, антирадикальная и антиоксидантная активности выделенных пигментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 16-14-00051.

#### БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ФЕРМЕНТ СУР74 *TRICHOPLAX ADHAEARENS*

Е.К. Бессолицына, Я.Ю. Топоркова, Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

Ферменты уникального семейства СУР74 цитохромов P450 и липоксигеназы (ЛОГ), принадлежащие липоксигеназной сигнальной системе, широко распространены в растительном мире. Ферменты СУР74, включающие в себя алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС), превращают гидроперекиси жирных кислот в разнообразные продукты: окиси аллена, дивиниловые эфиры, полуацетали и эпокси спирты. Однако в последнее время ферменты СУР74 выявляются у организмов, принадлежащих разным таксонам: животных, грибов, бактерий, бурых и красных водорослей. Например, на основании сопоставления аминокислотных последовательностей были выявлены гены СУР74-подобных белков у *Methylobacterium nodulans* (ГПЛ), *Acropora palmata* (АОС) и *Branchiostoma floridae* (ЭАС). У некоторых представителей царства животных обнаружены комплексные белки ЛОГ-АОС, АОС имеет сходную с мини-каталазами структуру. Подобный фермент обнаружен, например, у морского коралла *Plexaura homomalla*. От растительных ферментов он отличается субстратной специфичностью. У животных, также как и у растений, АОС катализирует реакцию образования окиси аллена. У растений эта реакция является первой в серии превращений, приводящих к образованию жасмоновой кислоты. У животных дальнейшие пути превращений окиси аллена не изучены. Обнаруженный нами фермент *Trichoplax adhaerens* (ТаСУР74) является бифункциональным ферментом, проявляющим свойство АОС и ЭАС. Сравнение аминокислотной последовательности ТаСУР74 с другими ферментами СУР74 выявило сходство общей структуры и соответствие основных каталитически важных доменов, что позволило отнести ТаСУР74 к клану СУР74, куда ранее отнесли АрАОС коралла и ВfEAS ланцетника. Таким образом, АОС активность (подобная растительной АОС) выявлена у ферментов представителей двух разных типов в составе царства животных – тип Стрекающие и тип Пластинчатые. Результаты биоинформационных и биохимических исследований показывают, что гены биосинтеза оксипиринов присутствовали у последнего общего предка растений и животных. Дальнейшее изучение ферментов СУР74 у представителей животных позволит воспроизвести последовательность эволюционных событий и место ферментов СУР74 царства животных на филогенетическом дереве. Работа поддержана грантами РФФИ 16-14-10286.

#### СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛОВЫХ АТТРАКТАНТОВ ZYGAENIDAE

К.А. Ефетов, Е.Е. Кучеренко, Е.В. Паршкова

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

Изучение половых аттрактантов Insecta является актуальной задачей биохимии. В семействе Zygaenidae (Lepidoptera) строение природных половых феромонов самок выяснено только для двух подсемейств: Zygaeninae и Procridinae. Если для Zygaeninae аттрактивной способностью обладают сложные эфиры уксусной кислоты и высших спиртов, то для Procridinae – сложные эфиры втор-бутанола и высших карбоновых кислот. Нами синтезированы сложные эфиры из втор-бутанола (*R*- и *S*-изомеров) и лауриновой кислоты с последующим формированием в ее радикале двойной связи во втором положении. Полученный 2-бутилдодецен-2-оат похож по строению на известные феромоны самок Procridinae, но отличается по длине углеводородного радикала кислоты и положению в нем двойной связи. Тестирование в полевых условиях оптически неактивной рацемической смеси данного соединения и его *R*- и *S*-энантиомеров проводилось в 2013–2016 годах. В значительных количествах были привлечены самцы 10 видов Procridinae: *Theresimima ampellophaga*, *Rhagades pruni*, *Adscita alpina*, *A. stances*, *A. geryon*, *A. mannii*, *Jordanita graeca*, *J. globulariae*, *J. subsolana* и *J. notata*. В процессе экспериментов определены оптимальные дозы аттрактантов, привлекающие максимальное число особей. Выводы: 1. Показано, что 2-бутилдодецен-2-оат является половым аттрактантом, привлекающим самцов 10 видов Procridinae (Zygaenidae). 2. Самцы таких видов, как *Th. ampellophaga*, *Rh. pruni*, *J. notata*, *J. globulariae* и *J. subsolana*, не только подлетают к аттрактанту, но и активно адсорбируются ловушками с липкими слоями. Представители других видов хоть и привлекаются к аттрактанту, подлетая на близкое к нему расстояние, но в ловушках не накапливаются. 3. Если некоторые виды (например, *Th. ampellophaga*, *J. notata*) привлекаются как рацемической смесью, так и *R*-энантиомером, то для других (например, *J. globulariae*, *J. subsolana*) – *S*-энантиомер является ингибитором аттрактивности *R*-энантиомера.

#### ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОТЕАСОМ В КЛЕТКАХ НАСЕКОМЫХ И ПОЛИХЕТ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ВИРУСАМИ И ПАТОГЕНАМИ

Ю.В. Люпина<sup>1</sup>, П.А. Ерохов<sup>1</sup>, М.В. Становова<sup>2</sup>, С.Б. Абатурова<sup>1</sup>, И.А. Косевич<sup>2</sup>, Н.П. Шарова<sup>1</sup>, В.С. Михайлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

Основную роль в протеолизе белков у многоклеточных организмов выполняют протеасомы. Сигналом для гидролиза белков обычно является ковалентное присоединение нескольких молекул убиквитина. Протеолитическая активность протеасом, их полипептидный состав и физико-химические свойства регулируются в соответствии с состоянием клеток и внеклеточными сигналами, что позволяют животным адаптироваться к изменяющимся условиям внешней среды. Целью настоящей работы было выяснение особенностей функционирования убиквитин-протеасомной системы в клетках эволюционно далеких классов беспозвоночных: в целомочитах кольчатых червей *Arenicola marina* (кл. *Polychaeta*) и в клетках кукурузной листовой совки



*Spodoptera frugiperda* (кл. *Insecta*). В ходе работы впервые выделены протеасомы из клеток насекомых и изучен их субъединичный состав методами протеомного анализа (двумерный электрофорез в полиакриламидном геле и масс-спектрометрия). При электрофорезе в полиакриламидном геле в нативных условиях протеолитическая активность клеток *S. frugiperda* выявляется во фракциях 26S (комплекс CP и RP) и 20S протеасом (CP), ассоциированных с различными активаторами. Инфекция бакуловирусом AcMNPV не приводила к изменению субъединичного состава протеасом клеток *S. frugiperda*, но сопровождалась изменением относительного количества минорных форм субъединиц 20S протеасом и частичным гидролизом клеточного пула субъединицы альфа 5. В целомочитах кольчатых червей *A. magna* протеасомы были представлены преимущественно формой 20S. При воспалении, вызванном введением липополисахарида, форма 26S в целомочитах полностью исчезает, а электрофоретическая подвижность фракции 20S протеасом возрастает, что вероятно отражает изменение субъединичного состава и диссоциацию активаторов протеасом. При этом наблюдалось возрастание химотрипсинподобной активности протеасом. Изменения в тонкой структуре протеасом беспозвоночных в ходе инфицирования вирусами и патогенами, вероятно, отражают адаптационные механизмы защиты клеточного протеома у многоклеточных.

*Работа выполнена частично при поддержке грантов РФФИ 16-04-454-а и 15-04-01990-а.*

### **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОТЕАСОМ В ПРОЦЕССЕ РЕАГРЕГАЦИИ КЛЕТОК И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИСХОДНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ У ГУБОК (*PORIFERA*)**

**А.И. Лавров<sup>1,2</sup>, Ю.В. Люпина<sup>1</sup>, С.Б. Абатурова<sup>1</sup>, П.А. Ерохов<sup>1</sup>, Н.П. Шарова<sup>1</sup>, В.С. Михайлов<sup>1</sup>, И.А. Косевич<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

Губки (*Porifera*) – древнейшая группа ныне живущих многоклеточных животных. У них отсутствуют какие-либо органы, пищеварительная, нервная и мышечная системы, а единственной обособленной структурой в теле является водоносная система, посредством которой животное фильтрует воду для получения питания и кислорода. Для губок характерна крайне высокая пластичность анатомических и клеточных структур, что позволяет им приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды. Одним из проявлений пластичности клеток губок является их способность к реагрегации после диссоциации тканей животного. Этот процесс может приводить к полному восстановлению исходной организации животного и сопровождается дедифференцировками/трансдифференцировками клеток. Убиквитин-протеасомная система в живых клетках играет важнейшую роль в регуляции гомеостаза клеточного протеома. В процессе реагрегации клеток губок работа этой системы должна быть ярко выражена. Цель исследования – охарактеризовать пул протеасом в тканях, суспензии клеток и многоклеточных агрегатах на разных этапах реагрегации у губок из класса *Demospongiae* (*Halichondria panicea* и *Halisarca dujardini*). В осветлённых гомогенатах образцов определяли химотрипсинподобную (ХПА) и каспазоподобную (КПА) активности протеасом по уровню гидролиза флуорогенных олигопептидов Suc-LLVY-AMC и Z-LLG-AMC, соответственно. Содержание каталитических  $\beta 1$  и  $\beta 5$  и конститутивных  $\alpha 1, 2, 3, 5, 6, 7$  субъединиц протеасом, а также регулятора PA700 оценивали с помощью Вестерн-блоттинга. ХПА и КПА протеасом *H. panicea* и *H. dujardini* демонстрируют высокую температурную лабильность и реализуются даже при температурах, превышающих физиологический оптимум животных. Реагрегация клеток у данных видов проходит неодинаково: у *H. panicea* процесс останавливается на стадии эпителизации агрегатов, а клетки *H. dujardini* способны восстанавливать функционирующую губку. При этом значения ХПА и КПА в суспензии клеток и многоклеточных агрегатах *H. panicea* ниже по сравнению с таковыми в интактных тканях, а у *H. dujardini* – остаются на уровне интактных тканей. Тем не менее, у обоих видов в ходе реагрегации наблюдаются изменения ХПА, сопровождавшиеся изменением в содержании субъединиц протеасом.

*Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ № 16-04-00454 и № 16-34-00145.*

### **ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОРМОВЫХ ОБЪЕКТОВ МОЛОДИ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ В РЕКАХ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ, НА ПРИМЕРЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СТАТУСА**

**З.А. Нефедова, С.А. Мурзина, С.Н. Пеккоева, А.Е. Веселов, Н.Н. Немова**

Институт биологии, Карельский научный центр РАН, Петрозаводск, Россия

Состояние кормовых ресурсов является одним из основных факторов, влияющих на формирование численности поколения рыб. Основу пищевого рациона для молоди лососевых рыб составляет дрейф беспозвоночных – сносимые течением организмы, среди которых преобладают представители речного макрозообентоса. В Карелии, основу макрозообентоса составляют три вида ручейников *Hydropsyche pellucidula*, *Chimarra marginata* и *Rhyacophila nubile*, которые в сумме формируют 84% биомассы кормного зообентоса в среднем по участкам (Чертопруд, 2007). Пищевая ценность кормовых объектов в значительной мере обусловлена спецификой и соотношением отдельных классов липидов, в том числе жирных кислот (ЖК), которые играют существенную роль в формировании продуктивности северных экосистем. Значительная часть жирных кислот липидов рыб поступает непосредственно из пищи и отражает видовой состав корма. Некоторые виды зообентоса характеризуются сильно выраженной спецификой ЖК, которые могут быстро включаться в адаптивные реакции организма. Так основным фактором, определяющим наличие или отсутствие смолтификации молоди атлантического лосося и возраст ее наступления, является трофический (Павлов и др., 2007; 2010). В составе кормного макрозообентоса из восьми кумжевых и лососевых водотоков (Онежского и Ладожского озер) наблюдалось преобладание от одного до трех видов донных беспозвоночных, которое коррелирует с доминированием тех или иных ЖК. Разная структура донных сообществ в водотоках оказывает существенное влияние на ЖК состав кормовой базы молоди лососевых рыб. Изучение ЖК состава зообентоса из лососевых и кумжевых рек показало, что более высокие показатели соотношений эссенциальных 18:3n-3/18:2n-6 ЖК и НЖК/ПНЖК были в зообентосе лососевых рек. Пищевая ценность отдельных видов зообентоса в значительной мере обусловлена природой и соотношением липидов и ЖК. Эти кислоты играют важную роль в широком ряду физиологических процессов беспозвоночных, в том числе оказывая влияние на рост беспозвоночных в естественных сообществах (Ahlgren et al., 1997). Микроводоросли и простейшие для речных и морских животных в экосистемах являются основным поставщиком органического вещества и энергии, источником эссенциальных ЖК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту №14-24-00102.*

**ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ**

**Н.Н. Немова, Л.А. Лысенко** *Институт биологии Карельского НЦ РАН, Петрозаводск, Россия*

Обсуждается динамика активности ферментов основных путей белковой деградации – лизосомального (катепсинов В и D), кальцийзависимого (кальпаинов), протеасомного и экзопептидаз различной специфичности – в онтогенезе рыб сем. *Salmonidae* (атлантического лосося *Salmo salar* и кумжи *S. trutta*): в неоплодотворенной икре, на последовательных стадиях эмбрионального и личиночного развития, у молоди возраста 0+–3+. Обнаружено, что оплодотворение икры сопровождается подъемом активности кальпаинов, вероятно, связанным с приростом внутриклеточного кальция. Сочетанная активация катепсинов и кальпаинов отмечена на стадиях поздней бластулы–ранней гаструлы и пигментации глаз, а тотальная пептидазная активность особенно высока в икре перед выклевом. Активация протеиназ, запасенных в оогенезе, имеет в развитии эмбрионов регуляторное значение и служит сигналом к запуску онтогенетических программ. Рост лососей, как и большинства рыб, не детерминирован и особенно интенсивен в первые годы жизни. У сеголеток (0+), в сравнении с ювенильными лососями возраста 1+–3+, активность исследуемых протеиназ максимальна, что является обратной стороной высокого уровня белкового синтеза. Расселение личинок *S. salar* 0+ по биотопам с различными экологическими условиями, изученное у рыб из р. Варзуга и ее притоков, способствует дифференциации молоди на фенотипические группировки, различающихся скоростью роста и, среди прочего, интенсивностью протеолиза. Можно предполагать отдаленные последствия дифференциации генетически однородной молоди, например, различные сроки смолтификации (готовности к скату в море), также тесно связанной у *S. salar* с ростовыми процессами. Полученные данные свидетельствуют об отрицательной корреляции уровня активности катепсина D, кальпаинов и протеасомы в мышечной ткани с интенсивностью роста лососей разных возрастных групп; вместе с тем, активность катепсина В связана с морфометрическими показателями молоди рыб положительной взаимосвязью, что отражает функциональные различия протеиназ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-24-00102).*

**РОЛЬ ПРОТЕАСОМ В РАЗВИТИИ ВОСПАЛЕНИЯ У ARENICOLA MARINA (ANNELIDA: POLYCHAETA)**

**М.В. Становова<sup>1</sup>, П.А. Ерохов<sup>2</sup>, И.А. Косевич<sup>1</sup>, В.С. Михайлов<sup>2</sup>, Ю.В. Люпина<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Многощетинковые кольчатые черви (аннелиды) – одна из самых значимых групп беспозвоночных в морских донных сообществах. Они не имеют специализированных иммунных органов, однако обладают эффективной защитной (иммунной) системой. Ключевым компонентом этой системы являются целомоциты – гетерогенная популяция находящихся в целомической жидкости свободных клеток, которые обеспечивают распознавание чужеродного материала, его последующую элиминацию или изоляцию. При развитии иммунной реакции целомоциты оказываются в стрессовой ситуации, что сказывается на состоянии их протеома. В регуляции гомеостаза протеома клеток у всех эукариот ведущую роль играет убиквитин-протеасомная система. Целью настоящей работы было выявление особенностей защитной системы *Arenicola marina* и функционирования протеасом в целомоцитах при воспалении, индуцированном введением липополисахарида. Целомоциты морского пескожила *Arenicola marina* по морфологическим признакам разделяются на четыре типа. В инкапсуляции крупных инородных тел участвуют только определенные типы целомоцитов. В развитии реакции воспаления задействованы все типы целомоцитов. Через 1 час после индукции воспаления в целомоцитах *A. marina* увеличивалась химотрипсинподобная активность протеасом, а также увеличивалось содержание  $\alpha$ 1,2,3,5,6,7 субъединиц протеасом и протеолитической субъединицы  $\beta$ 5, изменялось содержание регуляторов протеасом. В инфицированных целомоцитах значительно возрастало содержание белков теплового шока (Hsp70) по сравнению с интактными клетками. В ходе работы методом модифицированного нативного электрофореза впервые была исследована нативная структура протеасом целомоцитов *A. marina*. Обнаружены структурные модификации в пулах 26S- и 20S-протеасом через 1 и 6 часов после введения липополисахарида. Восстановление исходной нативной структуры протеасом наблюдалось через 24 часа после индукции воспаления. Полученные сведения позволяют рассматривать изменения в нативной структуре 20S-протеасом в качестве ключевого молекулярного звена в адаптации и развитии защитных реакций у многощетинковых червей.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00454-а.*

**ИССЛЕДОВАНИЕ СЕРПИНА PARALITHODES CAMTSCHATICUS**

**Н.Н. Костин<sup>1,2</sup>, Е.М. Шурдова<sup>2</sup>, Г.Н. Руденская<sup>1</sup>, Т.В. Бобик<sup>2</sup>, И.В. Смирнов<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова;

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

Камчатский краб, лат. *Paralithodes camtschaticus* – членистоногое, обитающее в морях Северного Ледовитого океана и адаптированное к жизни при температурах около 0°C. Его основной пищеварительный орган, гепатопанкреас, богат психрофильными протеиназами, некоторые из них были ранее описаны, на их основе получен коллагенолитический препарат Морикура. Так же там был найден белковый ингибитор протеиназ, который был отнесен к классу серпинов, суперсемейству белков, обладающих уникальным механизмом необратимого суицидального ингибирования. При помощи данных N-концевого секвенирования и поиска в базах данных из библиотеки кДНК гепатопанкреаса камчатского краба была получена первичная структура из 418 аминокислот, включающая 16 остатков сигнального пептида. Ген был выделен и использован для получения рекомбинантного белка в системах: *E. coli* BL21(DE3), *P. pastoris* GS115, PichiaPink штамм 4 и НЕК293-F. Анализ экспрессии гена серпина в эукариотических системах показал, что несмотря на использование различных векторов и секреторных последовательностей, уровень экспрессии крайне низок и белок продуцируется исключительно внутри клетки. В прокариотической системе *E. coli* рекомбинантный серпин экспрессировался в виде телец включения с уровнем продукции около 0,8 мг/мл. Для получения функционально-активного растворимого белка был разработана схема ренатурации, рефолдинга и очистки с финальным выходом 20%. Полученный рекомбинантный серпин был протестирован на способность ингибировать гидролиз специфических субстратов различными сериновыми и цистеиновыми протеазами, такими как тромбин, протеиназа К, катепсин Б, химотрипсин, трипсин, папаин, субтилизин А. Кинетические исследования показали, что рекомбинантный серпин взаимодействует с трипсином, с образованием ковалентного комплекса протеиназа-ингибитор. Стехиометрия ингибиро-

вания (SI) составила  $4.7 \pm 0.8$ , константа ассоциации второго порядка  $k_{\text{ass}} = (8.9 \pm 2.5) \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ сек}^{-1}$ . Подобная специфичность, вероятно, объясняется наличием аргинина в P1 положении реакционной петли серпина. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 16-14-00191 и РФФИ № 15-04-06795.*

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ: КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И МОНОАМИНОКСИДАЗЫ ЗРИТЕЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ НЕКОТОРЫХ ТИХООКЕАНСКИХ КАЛЬМАРОВ**

**Е.В. Розенгарт, И.Н. Басова, Н.Е. Басова, Б.Н. Кормилицын, А.Ю. Перчёнок, В.С. Сааков, А.А. Суворов, О.В. Ягодина**

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

Методом субстратно-ингибиторного анализа дана сравнительно-энзимологическая характеристика двух ключевых ферментов холинэргической и моноаминэргической нервных систем беспозвоночных – холинэстеразы (ХЭ) и моноаминоксидазы (МАО) ткани зрительных ганглиев тихоокеанского кальмара *Todarodes pacificus* (*Ommatostrephes sloanei-pacificus*) и особой берингоморского кальмара *Berryteuthis magister* из 8-ми различных зон обитания в северо-западной акватории Тихого океана. Приведены доказательства для ХЭ ферментной гомогенности в тканях зрительных ганглиев *T. pacificus* и *B. magister*. Тестирование с помощью большого набора различных по структуре субстратов и необратимых фосфорорганических ингибиторов выявило своеобразие свойств ХЭ кальмаров по сравнению с ХЭ позвоночных. Впервые приведены данные по специфичности избирательного действия 57-и различных по структуре онихевых обратимых ингибиторов ХЭ особой *B. magister* из различных зон обитания. Специфичность действия эффекторов проявлялась либо в различной активности ингибитора, либо в существенно разном типе их тормозящего действия. Практически для каждого из изученных препаратов ХЭ особой кальмаров, обитающих в разных зонах, выявлены специфические ингибиторы. Установлено, что МАО *T. pacificus*, в отличие от МАО *B. magister*, способна дезаминировать также и гистамин (субстрат диаминоксидазы). По отношению ко всем исследованным субстратам активность МАО зрительных ганглиев *T. pacificus* в несколько раз выше, чем МАО *B. magister*. В случае дезаминирования серотонина эта разница была наибольшей. Субстратно-ингибиторный анализ с использованием специфических ингибиторов различных форм МАО – депренила и хлоргиллина – свидетельствует о гомогенности МАО *T. pacificus* и о гетерогенности МАО *B. magister*, в составе которого присутствуют, по крайней мере, две формы МАО.

1. Розенгарт Е.В., Басова Н.Е. Сравнительно-энзимологическое исследование холинэстеразы тихоокеанского кальмара *Todarodes pacificus* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2010. — Т.46, № 1. — С.3-16.
2. Розенгарт Е.В., Басова Н.Е. Сравнительно-энзимологическое исследование холинэстераз зрительных ганглиев особой командорского кальмара *Berryteuthis magister* из разных зон видового ареала // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2010. — Т.46, № 5. — С. 359-369.
3. Ягодина, О. В. Сравнительное исследование субстратной и ингибиторной специфичности моноаминоксидазы зрительных ганглиев кальмаров / Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2010. — Т.46, № 3. — С. 191-196.

### **МЕТИОНИН И S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИН КАК ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И ПЛОДОВИТОСТЬ У *MUSCA DOMESTICA* L.**

**Г.В. Беньковская, Ю.М. Никоноров Т.Т. Ахметкиреева** *Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия*

Исследования эпигенетических механизмов реализации адаптивного потенциала особи и популяции в настоящее время активно идут с использованием модельных объектов, в том числе и насекомых. Комнатная муха *Musca domestica* относится к отряду Diptera, ее быстрое синхронное развитие, удобство содержания позволяют считать этот вид перспективной экспериментальной моделью. Нами созданы линии с коротким и длинным периодом имагинальной жизни: средняя минимальная продолжительность жизни в линии Sh gen составляет 23 сут, в линии L gen 42 сут. Избыток метионина (М), его производного – S-аденозил-метионина (SAM) и участвующей в снижении уровня гомоцистеина фолиевой кислоты (Ф) может вызвать спектр эффектов, обусловленных усилением процессов метилирования. Литературные данные свидетельствуют о значимости SAM и М в биосинтезе ювенильного гормона (ЮГ), осуществляющегося по мевалонатному пути. Нашей задачей было описание всего спектра эффектов, вызванных введением в рацион личинок комнатной мухи из двух контрастных по продолжительности жизни имаго линий дополнительных источников метильных групп. Дозы М, SAM и Ф рассчитаны, исходя из рекомендаций для фармакологических препаратов в пересчете на массу тела. Введение этих соединений и сочетания Ф с М в рацион личинок III возраста привело в обеих линиях к замедлению развития на преимагинальной стадии в варианте с М. 10-кратная доза М достоверно ( $p \leq 0,05$ ) замедляла развитие в линии L gen. М и Ф стимулировали жизнеспособность и повышали эффективность развития имаго, что достоверно ( $p \leq 0,05$ ) проявилось для линии L gen почти во всех вариантах. Мы отметили повышение продолжительности жизни (ПЖ) в линии Sh gen за исключением высокой дозы М+Ф. В линии L gen наблюдался другой результат: существенное продление ПЖ отмечено только в варианте высокой дозы Ф, тогда как Ф, 10-кратная доза М и сумма М+Ф вызвали резкое снижение ПЖ ( $p \leq 0,001$ ) – в 1,5, 2,8 и 3,7 раз соответственно. 10-кратное повышение дозы М привело к небольшому снижению плодовитости в Sh gen и полностью подавило репродукцию в L gen. Такой же общий для линий характер имеет ингибирующее действие SAM. Обе дозы Ф и смесь М+Ф повысили плодовитость самок Sh gen, но при этом в L gen произошло резкое снижение плодовитости (в 3–4 раза) под влиянием Ф, а смесь М+Ф полностью подавила репродукцию. Замедление развития на преимагинальной стадии и повышение плодовитости имаго и ПЖ соответствуют эффектам повышения интенсивности биосинтеза ЮГ, что позволяет предполагать использование источников метильных групп главным образом в цикле метилирования фарнезоевой кислоты. *Исследования поддержаны грантом РФФИ № 15-04- 04801-а.*

### **ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ГЕМОЛИМФЫ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**А.А. Присный** *Белгородский филиал Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко, Белгород, Россия*

Гемолимфа беспозвоночных животных состоит из жидкой плазмы и гемоцитов. Плазма либо бесцветная, либо окрашена в желтоватый или зеленоватый цвет. Плазма содержит неорганические соли, питательные вещества, ферменты, гормоны, пигменты. Реакция гемолимфы слабощелочная или нейтральная. Соленость гемолимфы соответствует 0,7–1,3% раствору NaCl. Общее содержание минеральных веществ превышает 3%. Количество циркулирующей жидкости у низших животных изменяется в широких пределах в одной и том же организме и зависит от разнообразных причин – условий питания, температуры и солевого состава среды, тогда как у высших животных диапазон этих колебаний значительно уже. Целью представленной

работы является определение показателей минерального, липидного и белкового обмена в циркулирующих жидкостях беспозвоночных животных. Наиболее доступными адекватными методами для изучения концентрации микроэлементов в циркулирующих жидкостях беспозвоночных животных являются тирометрические и фотоколориметрические методы, для изучения показателей липидного обмена – фотометрические методы, а для исследования белкового обмена – фотоколориметрические методы. Концентрация натрия, железа и хлора наиболее высока в гемолимфе пиявок, что связано с особенностями среды обитания и типом дыхательного пигмента, растворенного в плазме. Наименьшие значения показателей микроэлементного состава наблюдаются в гемолимфе представителей отряда *Dictyoptera*. Концентрация холестерина, триглицеридов и  $\beta$ -липопротеинов наиболее высока в гемолимфе пиявки медицинской, что связано с особенностями типа питания. Наименьшие показатели холестерина, триглицеридов и  $\beta$ -липопротеинов установлены в гемолимфе виноградной улитки. Наибольшая концентрация общего белка, альбумина и креатинина установлена в гемолимфе представителей подкласса *Hirudinomorpha*, что связано с особенностями типа питания и наличием дыхательного пигмента, растворенного в плазме. Минимальные значения показателей общего белка, альбумина и креатинина выявлены в гемолимфе мраморного таракана. При этом содержание амилазы в гемолимфе представителей отряда *Dictyoptera* зафиксировано на высоком уровне, что связано с особенностями типа питания этих животных.

### **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО С-ЛЕКТИН У МОЛЛЮСКОВ *PLANORBARIUS CORNEUS*, ЗАРАЖЕННЫХ ПАРТЕНИТАМИ ТРЕМАТОД**

**Е.Е. Прохорова, Г.Л. Атаев** *Лаборатория экспериментальной зоологии, Российский государственный педагогический университет им.А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Лектины являются функциональными аналогами иммуноглобулинов у беспозвоночных животных. Большинство лектинов – гликопротеиды, имеющие сайты олигосахаридного связывания и способные агглютинировать или преципитировать гликоконъюгаты, локализованные на клеточных поверхностях (Лахтин, 1987). Связывание лектинов с лигандами приводит к облегчению процесса фагоцитоза связываемой частицы, либо к лизису клетки, несущей лигандную группировку. Их действие сходно с действием антител позвоночных (Атаев и др., 2005). Одной из наиболее изученных групп лектинов являются кальций-зависимые лектины С-типа (Chai et al., 2008). Для моллюсков показано их участие в процессах фагоцитоза гемоцитами бактерий и дрожжей (Guillou et al., 2007). Нами была изучена экспрессия гена, кодирующего лектин С-типа у моллюсков *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata), зараженных партенитами трематод *Cotylurus* sp. (сем. Strigeidae), *Notocotylus* sp. (сем. Notocotylidae), *Plagiorchis* sp. (сем. Opistorchiidae) и *Bilharziella polonica* (сем. Schistosomatidae). Анализ уровня экспрессии осуществлялся полуквантитативным методом на основе ОТ-ПЦР на индивидуальных препаратах РНК, выделенных из зараженных моллюсков. В качестве контрольных использовали препараты РНК из незараженных особей. Для подбора специфических праймеров использовали консервативный участок консенсусной последовательности, полученной на основе последовательностей, кодирующих С-лектины моллюсков, представленных в базе данных GenBank. На всех образцах РНК был получен продукт, длиной 286 п. н., нуклеотидная последовательность которого на 64,7% совпадает с последовательностью мРНК С-лектина близкого вида моллюсков – биомфаларии. Было установлено, что уровень экспрессии С-лектина повышается у моллюсков, зараженных всеми исследованными нами видами трематод. При этом у особей, зараженных *Plagiorchis* sp. (n=10), он выше в 2 раза, чем у незараженных особей, у зараженных *Cotylurus* sp. (n=8) – в 3,5 раза, у зараженных *Notocotylus* sp. (n=8) и *Bilharziella polonica* (n=5) – почти в 5 раз.

### **БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСА КИШЕЧНЫХ ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНЫХ ПЕПТИДАЗ *TENEBRIO MOLITOR***

**В.Ф. Терещенкова<sup>1</sup>, И.А. Гоптарь<sup>1</sup>, Д.П. Жужиков<sup>2</sup>, И.Ю. Филиппова<sup>1</sup>, Е.Н. Элпидина<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Химический факультет, <sup>2</sup>Биологический факультет, <sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Пролин-специфичные пептидазы (PSP) представляют особую группу ферментов, способных гидролизовать связи, образованные остатком пролина. Специфичность PSP многообразна: большинство PSP являются экзопептидазами – дипептидил пептидазы 2, 4, 8, 9 (DPP 2, DPP 4, DPP 8, DPP 9), пролилкарбокисептидаза (PRCP), аминопептидаза Р (APP), пролидаза (PRD), а эндопептидазы представлены часто лишь пролилוליгопептидазой (POP). Изучение природных комплексов PSP позволит предположить, как достигается наибольшая эффективность при гидролизе трудногидролизуемых пролин-богатых белков. Одним из таких комплексов является набор PSP большого мучного хрущака *Tenebrio molitor*. *T. molitor* является вредителем запасов зерновых культур. Его основными пищевыми белками являются трудногидролизуемые глиадины пшеницы, содержащие до 30% остатков пролина. Использование природной системы фермент-субстрат позволило изучить весь комплекс PSP. Биоинформатический поиск PSP в транскриптоме кишечника личинок *T. molitor* выявил 12 последовательностей, гомологичных последовательностям PSP человека. Изучение доменной организации последовательностей ферментов в сочетании с анализом уровней экспрессии их генов позволило предсказать пищеварительную функцию для секретируемых пептидаз DPP 4 и PRCP. Для других PSP со значимым уровнем экспрессии – APP и PRD – была предсказана цитоплазматическая тканевая локализация. Для подтверждения предсказанных функций была изучена локализация исследуемых PSP в кишечнике личинок *T. molitor* биохимическими методами. Полученные данные коррелируют с предсказанными функциями. Исследуемые пептидазы были выделены и очищены из кишечника личинок *T. molitor* с использованием различных видов хроматографии. Для всех ферментов изучены рН-оптимум, рН-стабильность, субстратная специфичность, влияние ингибиторов. Оптимум активности для DPP 4 и POP находится при рН 7,9; для APP и PRD – при рН 7,5 в присутствии ионов  $Mn^{2+}$ ; для PRCP – при рН 5,6. Наиболее высокоэкспрессируемые пищеварительные PSP – DPP 4 и PRCP – были идентифицированы с помощью масс-спектрометрии. *Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 16-34-01012-мол\_а, 15-03-06675-а, 15-04-08689-а.*

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СИСТЕМОГО КОНТРОЛЯ У РАСТЕНИЙ

И.А. Тихонович<sup>1</sup>, Е.А. Долгих<sup>1</sup>, М.А. Лебедева (Осипова)<sup>2</sup>, А.П. Самородова<sup>2</sup>, М. Азarakш<sup>2</sup>, Л.А. Лутова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии; <sup>2</sup>Кафедра генетики и селекции, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Одним из ярких проявлений принципов системного контроля является контроль клубенькообразования у бобовых, которое жестко ограничивается со стороны хозяина как по его необходимости, так и по степени развития симбиотического аппарата. С использованием мутантов по симбиозу были изучены молекулярные механизмы системной реакции и их сходство с регуляцией меристематической активности.

Роль системы CLV-WOX в регулировании поддержания стволовых клеток апикальных меристем хорошо известна. Однако намного меньше известно о возможной роли этой системе в возникновении нерегулярных меристем, которые носят факультативный характер и их возникновение зависит от окружающей среды.

В нашей работе мы исследовали функционирование *wox5* в развитии клубеньков бобовых (*Medicago truncatula* и *Pisum sativum*). Анализ временной экспрессии данного гена в течение развития клубенька обнаружил корреляцию между его активностью и возможностью и интенсивностью симбиогенеза. Клубеньки суперклубеньковых мутантов, дефектных по генам типа CLV, отличались повышенной экспрессией *wox5* по сравнению с клубеньками растений дикого типа, что свидетельствует о сходстве контроля развития регулярных меристем WUS/WOX-CLV и факультативных образований. Выявлены CLE пептиды, принимающие участие в регуляции. Исследование процесса опухолеобразования у суперклубеньковых растений позволяет распространить принципы системного контроля и на взаимодействие с *A. tumefaciens*. Это исследование было поддержано Российским научным фондом (гранты № 14-24-00135, № 16-16-00118 и № 16-16-10011).

### PLANT TELOMERE MAINTENANCE: SPECIFIC ANSWERS TO GENERAL QUESTIONS

Jiří Fajkus *Research Group of Chromatin Molecular Complexes, Mendel Centre for Plant Genomics and Proteomics, CEITEC, Masaryk University, and Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic*

Telomeres, physical ends of linear chromosomes, solve two general problems: the end-protection problem, i.e. to distinguish natural chromosome ends from unrepaired chromosome breaks, and the end-replication problem associated with the inability of the lagging strand synthesis to replicate completely the 3' end of the parental DNA strand. Telomeric DNA usually consists of repeated sequence units. The end-protection problem is overcome via specific set of telomere-associated proteins, and a large body of accumulating data is available on mechanisms of inhibition of unwanted DNA-damage response at chromosome ends. The end-replication problem (formulated for the first time by Alexej Olovnikov in 1971) is most commonly solved by the ribonucleoprotein complex of telomerase, which compensates for the loss of terminal telomeric repeats using repeated cycles of reverse transcription of a short template region in its RNA subunit.

These problems due to the chromosome linearity, of course, exist also in plants. However, specific features of development of plants, when compared to that of animals, pose further questions. For example, while germline cells in animals differentiate and are set aside already during embryonic development, in plants they develop only after completion of growth and development. In this context, telomere shortening should be prevented in somatic cells, in contrast to the situation in animals. Correspondingly, 20 years ago, we demonstrated the absence of telomere shortening during plant development due to reversible telomerase activity regulation, corresponding to cell division rate in meristem cells, and detected telomerase activity in plant cells. We also found the first plant protein which restricted access of telomerase to telomeres. Interestingly, protein components of plant telomeres appear to be partially distinct from direct sequential homologs of vertebrate telomere proteins, and at least some of them, AtTRB proteins, besides their apparently dominant role at telomeres, show also a role of epigenetic regulators, namely on promoters of genes involved in ribosome biosynthesis. Further, cytosines of plant telomeric DNA become partially methylated due to RNA-dependent DNA methylation pathway. This methylation appears to be exclusive to plants and is involved in a control of telomere maintenance and stability of non-canonical DNA structures. Another interesting feature found in telomeres throughout plant phylogeny is the relatively frequent switching of the most common plant telomere repeat (TTTAGGG)<sub>n</sub> to alternative DNA sequences. The most enigmatic case, telomeres in the genus *Allium*, was clarified by our group recently using the original approach based on comparative next generation sequencing of BAL31 treated and untreated DNA. In spite of a striking change in telomere sequence to a novel repeat (CTCGGTTATGGG)<sub>n</sub>, these telomeres are still maintained by telomerase. Our findings open up the possibility of studying the molecular details of the evolutionary genetic change in *Allium* telomeres and its possible role in speciation. Experimental studies addressing the implications of this change in terms of the interplay of telomere components may now be designed to shed more light on telomere structure, functions and evolution in general. In fact, in this and all the other cases of evolutionary telomere sequence changes, we found telomerase as the universal mechanism of telomere synthesis, while alternative lengthening of telomeres (ALT) by a telomerase-independent mechanism was observed only in mutants dysfunctional in factors of telomerase pathway.

*This research was supported by the Czech Science Foundation (16-01137S) and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic – projects KONТАКТ II no. LH15189 and CEITEC 2020 (LQ1601).*

### ХЛОРОФИЛЛЫ *d* И *f* ИХ РОЛЬ В ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССАХ ФОТОСИНТЕЗА ЦИАНОБАКТЕРИЙ

С.И. Аллахвердиев *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва; Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушино; Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Хлорофиллы являются основными пигментами фотосинтеза. До недавнего времени были известны четыре типа хлорофилла (Chl) у оксигенных фотосинтезирующих организмов, названные по порядку их обнаружения Chl a, Chl b, Chl c и Chl d. В 1996 г. была обнаружена уникальная цианобактерия *Acarochloris marina*, содержащая новый тип хлорофилла, Chl d. Это стимулировало исследования по данному вопросу, привело к появлению большого объема быстро обновляемой информации, побудило к поиску новых типов хлорофилла. В 2010 году группой австралийских ученых под руководством доктора Мин Чэн был обнаружен новый, пятый тип хлорофилла, Chl f. Получен ряд интересных данных. Установлено, что молекулы Chl f, так же как и Chl b, Chl c, выступают в качестве вспомогательных пигментов антенных систем, поглощают энергию и передают ее на реакционный центр. Они не участвуют в переносе электронов в электрон-транспортной цепи фотосинтеза. В тоже время

Chl d, так же как и Chl a, может функционировать не только в светособирающем комплексе, но и в реакционных центрах фотосинтеза. Длинноволновая (Qy) полоса поглощения хлорофиллов Chl d и Chl f сдвинута по сравнению с Chl a в длинноволновую сторону вплоть до 750 нм, что предполагает возможность функционирования окислительного фотосинтеза в этой области спектра. Такое расширение области фотосинтетически активного света важно для выживания цианобактерий, находящихся в условиях, когда интенсивность света до 700 нм сильно снижена за счет поглощения Chl a и других пигментов. При этом эффективность запасаения энергии в ФС-2 у цианобактерий, содержащих Chl d и Chl f, не ниже, чем у цианобактерий, содержащих Chl a. Многие вопросы о функционировании таких пигментов в первичных процессах фотосинтеза еще недостаточно освещены. Обзор посвящен рассмотрению последних достижений в области исследования Chl d и Chl f и их роли в первичных процессах фотосинтеза цианобактерий. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-14-00039).*

### **ЭВОЛЮЦИЯ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА РАСТЕНИЙ**

**Ю.В. Гоголев, Я.Ю. Топоркова, Л.Ш. Мухтарова, Е.В. Осипова, А.Н. Гречкин**

*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия*

Липоксигеназный каскад является источником физиологически активных соединений – оксилипинов. У высших растений оксилипины отвечают за регуляцию роста, дифференциацию клеток, морфогенез, а также участвуют в формировании системной устойчивости к экстремальным факторам и патогенам. Ключевыми ферментами липоксигеназного каскада являются липоксигеназы и цитохромы семейства CYP74 суперсемейства P450. Современное распространение ферментов CYP74 в большей степени связано с сосудистыми растениями, что послужило основой концепции позднего эволюционного происхождения семейства, призванного обеспечить наземные растения жасмонатами. Обнаружение представителей семейства не только у наземных растений, но также у зеленых и бурых водорослей а так же кишечнополостных, пластинчатых и хордовых дают основание отнести появление данных ферментов ко времени существования последнего общего предка эукариот. Построенная нами модель молекулярной эволюции CYP74 соответствует филогенетической модели эволюции живых существ, что так же свидетельствует о древнем происхождении семейства. Уникальным свойством ферментов семейства CYP74, отличающим их от большинства цитохромов суперсемейства P450, является отсутствие необходимости в молекулярном кислороде в качестве субстрата. Благодаря этому, данные ферменты могли появиться в период преобразования восстанавливающей атмосферы в окислительную, выполняя репаративные функции, связанные с элиминацией гидроперекиси. Протекторная функция могла принадлежать и первым липоксигеназам, способным перехватывать кислород и передавать его цитохромам в виде гидроперекиси. В этой связи можно отметить, что у современных растений липоксигеназный сигнальный каскад активизируется при повреждении клеток, связанных с последующими окислительными событиями, такими, как окислительный взрыв. Дальнейшая эволюция семейства CYP74 привела к продукции широкого спектра оксилипинов включающих, кроме жасмонатов, дивиниловые эфиры, эпоксилипиды, летучие соединения зеленых листьев. Поздние этапы этой эволюции были смоделированы нами в экспериментах по направленной модификации первичной структуры белков CYP74, принадлежащих разным подсемействам. Результатом послужила серия превращений ферментов, обладающих различной каталитической активностью внутри семейства.

### **ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ ПЕПТИДОВ, КОДИРУЕМЫХ КОРОТКИМИ ОТКРЫТЫМИ РАМКАМИ СЧИТЫВАНИЯ У МОДЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА, МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS***

**И.А. Фесенко, И.В. Киров, А.Н. Князев, Р.А. Хазигалева, Г.П. Арапида, А.С. Урбан, А.В. Середина, В.Т. Иванов, В.М. Говорун**

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

Короткие открытые рамки считывания (sORFs, до 100 кодонов), обнаружены в прокариотических и эукариотических геномах. Предполагается, что sORFs могут кодировать биоактивные пептиды, которые играют важную роль во множестве биологических процессов. Для того, чтобы изучить организацию и функции sORFs у растений мы использовали модельный объект растительной биологии – мох *Physcomitrella patens*. Используя биоинформатический анализ (программный пакет sORFfinder) мы идентифицировали 241 228 sORFs в геноме мха. Для последующего анализа были использованы только sORFs, локализованные в транскрипционно-активных регионах. Мы обнаружили, что только 3% идентифицированных нами sORFs имели ортологи в других видах. Большинство консервативных sORFs подвергаются стабилизирующему отбору, а 35% имеет высокие белок-кодирующий потенциал. Для того, чтобы выявить пептид-кодирующие sORFs, мы использовали масс-спектрометрический анализ пулов эндогенных пептидов, выделенных из трех типов клеток мха – гаметофоров, протонемы и протопластов. Для изучения организации и функций, идентифицированных нами sORFs, мы отобрали 5 из них, которые были консервативными, с высоким кодирующим потенциалом, имели доказательства трансляции и оптимальную Козак-последовательность. Для выявления их функций, мы получили линии мха, сверх-экспрессирующие данные пептиды. Полученные нами данные указывают на то, что пептиды, кодируемые короткими рамками, могут выполнять различные функции в растительной клетке. Так, один из пептидов влияет на рост растений и интерферирует с действием абсцизовой кислоты. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).*

### **ФОРМИРОВАНИЕ И МОДИФИКАЦИЯ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**Т.А. Горшкова** *Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия*

Растительная клеточная стенка – пример надмолекулярной структуры, широчайшим образом представленной в природе: ее компоненты относятся к самым распространенным органическим соединениям, возобновляемым живыми организмами. Практически любые сферы использования и переработки растительного сырья основаны на свойствах клеточной стенки, или вынуждены их учитывать. При этом клеточная стенка – многофункциональная, исключительно важная часть растительной клетки, во многом определяющая особенности биологии растительного организма. В состав клеточной стенки входят многочисленные компоненты, главным образом полисахаридные, ее формирование в большой степени основано на углевод-углеводных взаимодействиях. Ключевыми процессами в создании надмолекулярной структуры клеточной стенки служат: кристаллизация индивидуальных молекул целлюлозы в микрофибриллу, взаимодействие полисахаридов матрикса внутри субструктур

аппарата Гольджи, взаимодействие секретированных полисахаридов матрикса с формирующимися микрофибриллами целлюлозы после выплескивания содержимого пузырьков аппарата Гольджи за пределы плазмалеммы, упаковка формирующихся комплексов и индивидуальных полисахаридов в слои клеточной стенки и модификация отложенных слоев клеточной стенки. Для формирования надмолекулярной структуры клеточной стенки необходимы особые условия, которые могут обеспечиваться специфическими концентрациями взаимодействующих веществ, пространственными ограничениями, наличием кофакторов, а также участием не идентифицированных пока факторов, в том числе не охарактеризованных пока белков. Для характеристики происходящих процессов и выявления их участников нами использован комплекс методов, включающий полномное транскриптомное профилирование, глубокий анализ перераспределения радиоактивной метки в полимерах клеточной стенки после фотосинтеза в атмосфере с меченым углекислым газом, анализ взаимодействий полисахаридов с применением комплементарных физико-химических методов. В докладе будут представлены полученные результаты и обобщены литературные данные, позволяющие рассчитывать, что степень понимания процессов, происходящих при формировании надмолекулярной структуры клеточной стенки, будет соответствовать их масштабности.

*Работа выполнена при поддержке РФФ (№16-14-10256) и РФФИ (№15-44-02606).*

### **IN SITU КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕТАБОЛИЗМ ВЕЩЕСТВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ЗАПАХ И ВКУС ЛУКА**

**Л.И. Хрусталева<sup>1</sup>, И.В. Киров<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева;

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

Лук репчатый (*Allium cepa* L.) в последнее время вызывает повышенный интерес благодаря его антиканцерогенным свойствам и профилактике сердечнососудистых заболеваний. Такие свойства обусловлены высоким содержанием в луке сульфурорганических соединений, которые образуются при расщеплении относительно стабильных S-алкил цистеин сульфоксид предшественников ферментами: аллиазой и синтазой фактора слезотечения (LFS). Мы картировали гены, кодирующие аллиазу и LFS, на физических хромосомах лука. Для визуализации генов на хромосомах мы использовали высоко-чувствительный tyramide-FISH метод (Fluorescent In Situ Hybridization). ПЦР продукты фрагментов гена аллиазы были получены с помощью праймеров, созданных на регионы двух экзонов (3 и 4) и трех интронов (2, 3 и 4) клона геномной ДНК (L48614.1 GenBank). Для LFS праймеры были сконструированы с использованием сиквенса кДНК клона (GenBank accession AB089203). ПЦР продукты были клонированы, секвенированы и использованы в качестве пробы для *in situ* гибридизации. Tyramide-FISH картирование фрагмента гена аллиазы (1100 п.н.) показала наличие выраженного сигнала гибридизации в дистальном регионе длинного плеча хромосомы 4. Проба LFS гена (550 п.н.) гибридизовалась в проксимальном регионе длинного плеча хромосомы 5. Картирование генов аллиазы и LFS на хромосомах других видов луковых также будет доложено и обсуждена их эволюция. *Работа выполнена и представлена при финансовой поддержке Российского научного фонда Соглашение № 16-16-10031 от 18 мая 2016 г.*

### **БЕЛКИ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ**

**Д.Н. Мельникова, И.В. Богданов, Е.И. Финкина, Т.В. Овчинникова**

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

Среди множества молекулярных факторов системы врожденного иммунитета растений особый интерес представляют небольшие белки, связанные с патогенезом (Pathogenesis-Related Proteins или PR-белки), в частности, относящиеся к подклассу PR-10 гомологи пыльцевого аллергена Bet v 1 березы и принадлежащие к подклассу PR-14 липид-транспортующие белки (LTP). Представители PR-10 и PR-14 подклассов являются многофункциональными белками, проявляют антимикробную активность в отношении фитопатогенных микроорганизмов и обладают способностью связывать и переносить широкий спектр гидрофобных лигандов, таких как липиды, фитогормоны и вторичные метаболиты. Наряду с этим, многие LTP и гомологи Bet v 1 являются паналлергенами, участвующими в развитии перекрестных аллергических реакций на различные растительные продукты и пыльцу. Целью данной работы являлась структурно-функциональная характеристика липид-транспортующих белков чечевицы (Lc-LTP1,2,3), укропа (Ag-LTP) и гороха (Ps-LTP1), а также белков подкласса PR-10 из бобов сои (Gly m 4) и пыльцы берёзы (Betv 1). На основе плазмид серии pET и штамма *E. coli* BL-21 (DE3) были сконструированы системы для гетерологичной экспрессии исследуемых белков в виде гибридных конструкций с тиоредоксином А и октагистидиновой последовательностью. Были разработаны схемы выделения и очистки рекомбинантных белков. Проведены сравнительные исследования структурных особенностей и иммунологических свойств полученных белков PR-10 и PR-14 подклассов. Исследования функциональной активности LTP чечевицы, укропа и гороха показали, что данные белки обладают умеренной антимикробной активностью в отношении ряда фитопатогенных микроорганизмов и с различной эффективностью связывают широкий спектр гидрофобных соединений, а также осуществляют перенос фосфолипидов между мембранами. На основании полученных данных высказано предположение о том, что многофункциональность LTP обусловлена широким спектром взаимодействующих с ними липидных молекул.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).*

### **ОСОБЕННОСТИ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА У РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОВ**

**Я.Ю. Топоркова, Е.К. Бессолицына, Е.О. Смирнова, В.С. Ермилова, С.С. Горина, Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин**

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

Липоксигеназный каскад является одной из важных сигнальных систем, в результате функционирования которого происходит образование физиологически активных веществ – оксилипинов. Ключевыми ферментами каскада, обеспечивающими разнообразие оксилипинов, являются липоксигеназы и цитохромы P450 семейства CYP74 – алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС). Наибольшее распространение в настоящее время ферменты CYP74 получили у цветковых растений. Поэтому долгое время считалось, что эти ферменты характерны исключительно для цветковых растений, что служило основой концепции позднего происхождения семейства. Новые данные,

в том числе собранные нами, о присутствии ферментов СУР74 у бактерий, грибов, водорослей и животных, а также проведенные нами филогенетические исследования семейства СУР74 и суперсемейства Р450, дают основания для пересмотра этих представлений. Ферменты СУР74 являются атипичными цитохромами Р450. Распределение по семействам внутри суперсемейства происходит в зависимости от гомологии последовательностей, и, в основном, семейства включают ферменты с одним типом каталитической активности. Уникальной особенностью ферментов СУР74 является отсутствие необходимости в кислороде и редокс-потенциалах. Кроме того, данное семейство включает разные типы ферментов: АОС и ДЭС являются дегидратазами, ГПЛ и ЭАС являются изомеразами. Очевидно, что в последовательностях этих ферментов есть некоторые особенности, связанные с формированием того или иного типа катализа. Для проверки этого нами были проведены эксперименты по сайт-направленному мутагенезу, результаты которого позволили уточнить схему и выявить точки переключения механизмов каталитического действия в зависимости от типа катализа. Кроме этого, впервые было проведено взаимопревращение между АОС и ГПЛ, а также было проведено превращение ДЭС в АОС, ГПЛ – в ЭАС. Полученные данные позволили сделать предположение о развитии семейства СУР74 в ходе эволюции. Накопленные данные позволили нам сформировать предположение о древнем происхождении ферментов СУР74. Нами был приблизительно вычислен момент появления данных ферментов в эволюционной истории и собраны доказательства, подтверждающие это предположение.

*Работа поддержана РФФИ 14-04-01532-а и МК-6529.2015.4.*

### **ЭВОЛЮЦИЯ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЗАЩИТНЫХ ГЕВЕИНОПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ**

**Я.А. Андреев<sup>1</sup>, А.А. Славохотова<sup>1,2</sup>, Т.И. Одинцова<sup>2</sup>** <sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; <sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Иммунитет растений представляет собой сложную многоступенчатую систему защиты, которая включает многочисленные антимикробные соединения. Одними из представителей антимикробных соединений являются антимикробные пептиды (АМП), выполняющие в растениях функции первичной защиты в ответ на заражение патогенами. Нами была описана функция пептидов WAMP, относящихся к семейству гевеиноподобных и выделенных из высоко устойчивого вида пшеницы *Triticum kiharae*. Эти пептиды содержат 10 остатков цистеина, образующих уникальный цистеиновый мотив. Сходство пептида WAMP-1a с хитиназами класса I/IV злаков дало основание предположить, а затем и доказать один из возможных механизмов действия данных пептидов. Оказалось, что WAMPs специфично ингибируют секретируемую цинковую металлопротеазу, фунгализин гриба *Fusarium verticilloides*. В ответ на проникновение гифов гриба растение экспрессирует защитный белок хитиназу, который нарушает целостность гифов гриба. Однако, гриб вырабатывает фунгализин, который специфически расщепляет хитиназу и не дает ей осуществлять свои функции. В свою очередь, растение экспрессирует гевеиноподобные пептиды WAMP, которые связываются с фунгализином и ингибируют его активность. При этом фунгализин не может осуществлять свою функцию – расщепление хитиназы, которая ингибирует развитие гриба. Мы осуществляем поиск гомологов пептидов WAMP с повышенной антимикробной и металлопротеаз-ингибирующей активностью. С помощью биоинформатического подхода были установлены последовательности гомологичных WAMP пептидов. Кроме того, нами было проведено *in silico* моделирование взаимодействия пептида WAMP-1a и металлопротеазы термоллизина, относящегося к тому же классу металлопротеаз, что и фунгализин. Благодаря этому были установлены аминокислотные остатки пептида WAMP, принимающие участие во взаимодействии с термоллизином. Точечные замены этих остатков позволят в будущем получить пептиды, гомологичные WAMP и обладающие большей ингибирующей активностью к различным металлопротеазам. *Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-15-00167, работа Славохотовой А.А. in silico по моделированию была частично поддержана Президента РФ МК-5568.2015.4.*

### **МЕХАНИЗМЫ ОРИЕНТАЦИИ РАСТЕНИЙ В ПРОСТРАНСТВЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ВЕКТОРА СИЛЫ ТЯЖЕСТИ**

**С.С. Медведев, Г.А. Пожванов, Т.Е. Билова, А.Е. Гобова, М.П. Банкин, В.В. Чанцева, Г.Н. Смоликова, А.А. Фролов**  
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Гравитация является наиболее постоянным фактором окружающей среды и надежным ориентиром, определяющим развитие растений в пространстве. Именно гравитация обуславливает нормальное развитие растительного организма и необходима для поддержания ориентации побегов и роста корней. Благодаря гравитации каждое растение способно "оценивать" свое положение относительно вектора силы тяжести и при необходимости корректировать его за счет поляризованного роста. Участие силы тяжести в процессах роста и дифференцировки растений обычно анализируют, применяя такие методические приемы, как клиностамирование, микрогравитация, центрифугирование и гравистимуляция (т. е. изменение угла ориентации осевых органов растений относительно вектора силы тяжести). Ключевой ответной реакцией растения на действие силы тяжести является гравитропизм, т. е. направленный рост органов относительно вектора гравитации. Благодаря гравитропическим изгибам, возникающим в ответ на изменение ориентации в пространстве, восстанавливается вертикальный рост побегов и корней. Гравитропизм, в сочетании с фототропизмом и гидротропизмом, определяет оптимальное положение побега и корня в пространстве относительно солнечного света, источников воды и минеральных солей. На космических станциях растительные организмы находятся в условиях микрогравитации, при которых сила тяжести близка к нулю, что может оказывать неблагоприятное воздействие на развитие растений. В условиях Земли эффекты микрогравитации частично позволяют моделировать клиностаты со скоростью вращения 1–5 об./мин. Клиностамирование позволяет моделировать (имитировать) невесомость в условиях Земли за счет вращения растения вокруг горизонтальной оси (или нескольких осей), что дезориентирует изучаемый объект в поле земного тяготения. В докладе будут представлены данные по влиянию гравистимуляции и клиностамирования на перестройку актиновых микрофиламентов и микротрубочек в растениях арабидопсиса, а также проведен сравнительный анализ их метаболитных профилей, полученных методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией.

*Работа выполнена с использованием оборудования РЦ СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий», за счет средств НИР СПбГУ №1.38.233.2014 и гранта РФФИ №14-04-01-624.*



**ХАРАКТЕРИСТИКА УНИВЕРСАЛЬНОГО СТРЕССОВОГО БЕЛКА *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИТОГОРМОНОВ И АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА****Е.С. Пожидаева, А.С. Байк, И.А. Гетман, В.В. Кузнецов***Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

Методы транскриптомики и протеомики, применяемые к модельным организмам, открывают для исследования все больше ранее неохарактеризованных белков, экспрессия которых запускается в ответ на воздействие абиотических стрессов и (или) фитогормонов. В частности, у растения *Arabidopsis thaliana* были обнаружены белки, имеющие сходство с универсальными стрессовыми белками (Usp-белки) бактерий, синтез которых усиливается при действии стресса. У растений они аннотированы как белки семейства аденин нуклеотид альфа-гидролаз подобных белков. Однако не все из них демонстрируют способность связывать или гидролизовать АТФ. Нами начат анализ UspA-подобного белка AtUspA, который присутствует в клетке *A. thaliana* в двух формах, образующихся в ходе альтернативного сплайсинга. Анализ экспрессии гена AtUspA показал, что ген экспрессируется в цветущих тканях, а также в семенах. Однако уровень транскрипта в семенах был в сотни раз выше, чем в цветущих тканях. Вероятно, это связано с функциональной особенностью данного белка. Действительно, мутация по гену AtUspA привела к отставанию прорастания мутантных семян более чем на сутки по сравнению с контрольными семенами Col0. Далее, обработка проростков абиотическими стрессами не привела к существенным изменениям в уровне мРНК AtUspA в условиях теплового и холодного стрессов, засоления и поранения. В то же время следует учитывать, что исследования проводились на проростках, где базальный уровень экспрессии исследуемого гена низок, по сравнению с цветками и семенами. Особый интерес вызывают данные о значительном повышении экспрессии исследуемого гена в условиях осмотического стресса, создаваемого маннитом (300 мМ) через сутки после обработки. Возможно, AtUspA принимает участие в механизмах выживания растений в условиях водного стресса. Исследование влияния гормонов на экспрессию гена AtUspA позволяет предположить, что его транскрипция находится под влиянием транскрипционного фактора AREB/ABF. Действительно, обработка 10 мкМ АБК АБК повышала экспрессию гена через 3 ч обработки. После обработки цитокинином и гибберелином экспрессия гена AtUspA оставалась на том же уровне, что и до воздействия. Таким образом, может идти речь об АБК-специфичной транскрипции. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-06727.*

**ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВА *сур74* СПОРОВЫХ РАСТЕНИЙ****Е.О. Смирнова, Я.Ю. Топоркова, С.С. Горина, Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин***Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия*

Ферменты Сур74 являются нетипичными представителями суперсемейства цитохромов P450. Представители Сур74, а именно алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС) являются ключевыми участниками липоксигеназного каскада растений, результатом функционирования которого является синтез биоактивных производных липидов – оксилипинов. Оксилипины участвуют в формировании реакции ответа на механические повреждения, наносимые животными или насекомыми, стрессоры и атаку патогенов. Наиболее широкое распространение в настоящее время ферменты Сур74 получили у цветковых растений. Поэтому долгое время считалось, что ферменты данного семейства характерны исключительно для цветковых растений. Однако в последнее время накапливаются данные о присутствии ферментов Сур74 у других организмов, в том числе споровых растениях. Нами было выявлено, что липоксигеназный каскад споровых растений, по сравнению с таковым цветковых растений, имеет свои особенности. Например, у споровых растений в алленоксидсинтазной ветви отсутствует редуктаза, и ветвь заканчивается реакцией синтеза циклопентенона. Таким образом, функционирование АОС у споровых растений не связано с синтезом жасмонатов. Кроме того, у плауника *Selaginella moellendorffii* нами были клонированы и охарактеризованы несколько ферментов Сур74 этого растения, в том числе две ДЭС, катализирующие образование разных изомеров дивиниловых эфиров, в то время как у цветковых растений у небольшого числа видов растений, таксономических отдаленных друг от друга, обнаружены лишь одиночные ДЭС. У *Physcomitrella patens* обнаружен неклассический фермент Сур74. По структуре каталитически важных доменов этот фермент подобен ГПЛ. Кроме того, субстратом для этого фермента служит гидроперекись арахидоновой кислоты, тогда как у цветковых растений субстратами для ферментов Сур74 являются гидроперекиси С18 жирных кислот. Эти и другие особенности отличают липоксигеназный каскад споровых растений, в том числе ферменты Сур74, от таковых цветковых растений.

*Работа была проведена при финансовой поддержке РФФИ (проект №16-14-10286).*

**СОСТАВ СТЕРИНОВ И АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ *С24*-СТЕРИН МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА****Ю.Н. Валитова, А.Г. Сулкарнаева, Ф.К. Мухитова, Ф.В. Минибаева***Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия*

Пониженная температура является распространенным стрессовым фактором, действующим на растения. Информация о роли стериннов в холодоустойчивости растений крайне ограничена и представлена, в основном, данными о количественных изменениях общего содержания стериннов. Результаты наших экспериментов показали, что листья и корни проростков пшеницы проявляют различную чувствительность к действию пониженной температуры. В корнях происходит увеличение проницаемости мембран для электролитов и снижение индекса мембранной стабильности (ИМС), накопление АФК и индукция аутофагии. В листьях, напротив, ИМС и редокс-статус не изменялись. Нами показано, что изменения, происходящие в содержании молекулярных видов стериннов, гликолипидов и фосфолипидов, способствует поддержанию стабильности мембран и формированию большей холодовой устойчивости листьев, по сравнению с корнями. Выявлена обратная взаимосвязь между изменениями в содержании двух рафтообразующих липидов, стериннов и гликоцерамидов (ГлЦер). Эта взаимосвязь заметно проявляется в стрессовых условиях, в частности, при действии низкой положительной температуры и связывании стериннов специфическими агентами. Наличие таких согласованных изменений стериннов и ГлЦер может свидетельствовать об общей функциональной активности этих рафтообразующих липидов. Ключевым этапом многоступенчатого процесса биосинтеза стериннов в растениях является реакция *С*-метилирования 24-го атома углерода стериннов, катализируемая ферментом *С24*-стерин

метилтрансферазой. Нами впервые выявлены и секвенированы нуклеотидные последовательности трех генов TaSMT1 пшеницы. Биоинформатический анализ показал, что эти гены являются гомеологичными и расположены на хромосомах A, B, D гексаплоидного генома *T. aestivum*. Дифференциальная экспрессия гомеологичных генов TaSMT1-5A и TaSMT1-4D пшеницы при действии холода, а также наличие выявленных нами стресс-чувствительных цис-элементов в структуре промоторов свидетельствуют о сложности регуляции активности генов TaSMT1 при стрессе. Результаты комплексного анализа состава стероидов и активности гена TaSMT1, ответственного за их биосинтез, свидетельствуют о вовлечении стероидов в стрессовый ответ растительных клеток.

### **ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ЕСТЕСТВЕННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ДЛИНЕ ТЕЛОМЕР**

Л.Р. Нигматуллина<sup>1</sup>, И.Б. Частухина<sup>1</sup>, Л.Р. Валеева<sup>1</sup>, М.Р. Шарипова<sup>1</sup>, Е.В. Шакиров<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>The University of Texas at Austin, Austin, TX, США

Поиск причины клеточного старения и изучение молекулярных механизмов этого процесса уже не одно десятилетие занимает умы ученых. Среди множества теорий биологического старения особое место занимает теория «молекулярных часов», согласно которой старение и гибель клеток связаны с последовательным укорочением концевых участков хромосом (теломер) как побочного процесса деления клеток. Особый подход нашей группы заключается в попытке обнаружить гены, отвечающие за вариабельность изначальной длины теломер, установленной при рождении. Для получения ответа на поставленный вопрос в нашей лаборатории используется инбредная популяция MAGIC-линий модельного растения *Arabidopsis thaliana*, полученная путем скрещивания 19 разнообразных природных популяций (экотипов) *A. thaliana*. Поскольку известно, что экоотипы *A. thaliana* значительно отличаются друг от друга по длине теломер, анализ длины теломер в рекомбинантных линиях MAGIC позволит идентифицировать гены, ответственные за изменение длины теломер в растениях. Таким образом, главная цель работы – идентификация и характеристика генетических факторов, контролируемых полиморфизм длины теломер в модельном растении *A. thaliana*. Согласно данным, полученным в результате анализа родительских линий MAGIC, было установлено, что наследуемость признака длины теломер крайне высока и составляет 0.87, что указывает на значительное влияние генетически наследуемых факторов на длину теломер. Более того, на хромосоме № 5 методом QTL картирования был обнаружен участок, полиморфизм внутри которого ответственен за 15–50% вариации в длине теломер растений. Идентифицированный участок ДНК содержит около 200 генов, причем было установлено, что гаплотип, вызывающий увеличение длины теломер на 50%, присутствует исключительно в экоотипе Sf-2. При функционально – генетическом анализе генов-кандидатов, расположенных внутри идентифицированного QTL-участка, нам удалось определить гены, наиболее тесно связанные с теломерной биологией. В настоящее время проводится функциональный анализ генов – кандидатов с помощью мутантных линий растений.

Работа выполнена в рамках программы РФФИ 15-04-01645\_А, государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета (проект №14-8).

### **МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИНАМИКА КАК СТРАТЕГИЯ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК**

Ф.В. Минибаева, В.В. Рябовол, С.А. Дмитриева, Д.Ф. Рахматуллина, Н.И. Газизова, А.А. Пономарева

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

В клетках млекопитающих митохондриальная динамика вовлечена в перераспределение белковых комплексов окислительного фосфорилирования, компартментализацию субстратов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), физическую сегрегацию мембранных доменов митохондриальных крист и контроль митохондриального гомеостаза с помощью аутофагии. В растениях, однако, движущие силы и последствия митохондриальной динамики остаются неясными. Единичные небольшие митохондрии типичны для метаболически активных растительных клеток. В настоящей работе мы демонстрируем появление мегамитохондрий, или митохондриальной сети, в корнях проростков пшеницы в ответ на нарушение работы ЭТЦ путем одновременного ингибирования комплекса I с помощью ротенона и комплекса III с помощью антимицина А. Существование таких мегамитохондрий сопровождалось снижением митохондриального потенциала, изменением редокс-статуса клеток, но не изменениями активности основных комплексов ЭТЦ, оцененных с помощью Blue Native (BN) электрофореза. Интересно, что действие ингибиторов приводило к появлению низкомолекулярных белков. Учитывая сложность структуры митохондриальной ЭТЦ растений и молекулярную массу этих белков, мы предполагаем, что они могут быть характерными для растений альтернативными переносчиками электронов, например альтернативной оксидазой. Клеточный ответ на более суровый стресс вовлекает другую стратегию – катаболическую деградацию митохондрий с помощью аутофагии. Так, окислительный стресс в корнях пшеницы, индуцированный прооксидантом паракватом, приводил к удалению митохондрий в аутофаголизосомах, а также неселективной аутофагии и повышению активности аутофагических генов ATG4 и ATG8. Становится очевидным, что митохондрии как сайты образования и сигналинга АФК являются первичными мишенями для аутофагии. Таким образом, процессы митохондриального слияния и фрагментации, вовлеченные в регуляцию эффективности функционирования комплексов ЭТЦ и метаболизма АФК, являются частью стратегии адаптации растений при стрессах. Однако неспособность клеток поддерживать эту эффективность при суровых стрессах приводит к необходимости контролировать качество митохондрий с помощью аутофагии.

### **МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ СЕМЯН ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ ХРАНЕНИЯ**

Г.Н. Смоликова, Т.Е. Билова, С.А. Мильруд, В.В. Чанцева, А.А. Фролов, С.С. Медведев

Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Старение семян представляет собой процесс накопления структурных и метаболических повреждений, приводящий к нарушению их функций и снижению устойчивости к неблагоприятным условиям вплоть до потери жизнеспособности. Принципиальное отличие старения семян от старения животных заключается в том, что время его наступления и скорость протекания не запрограммированы генетически, а зависят от внешних воздействий – в первую очередь от влажности и температуры воздуха. В основе старения семян лежит окислительный стресс. Образование активных форм кислорода может происходить в хлоропластах, митохондриях, глиоксисомах и апопласте. Источниками АФК являются процессы перекисного окисления липидов, приводящие к каскаду свободно-радикальных реакций и образованию спиртов, эфиров и альдегидов. При этом в основе

окислительных повреждений в воздушно-сухих семенах лежит гликирование белков – неферментативная реакция, не требующая высокого уровня влажности тканей. Важным фактором, влияющим на скорость старения семян, могут быть присутствующие в них хлорофиллы (Хл). В формирующихся семенах Хл участвуют в процессах фотосинтеза. На поздних стадиях созревания семена переходят в состояние покоя, что сопровождается деградацией Хл и превращением хлоропластов в пластиды, заполненные запасными питательными веществами. Нами показано, что во многих видах сельскохозяйственных растений Хл не разрушаются полностью и присутствуют в зрелых семенах в остаточных количествах (Смоликова и др. Физиология растений, 2011). Хл легко возбуждаются при попадании даже небольших количеств квантов света. Энергия возбужденных электронов рассеивается путем фотохимического гашения, в виде флуоресценции или тепла. Однако в пластидах зрелых семян тилакоидные мембраны разрушены, фотохимического гашения не происходит и велика вероятность акцептирования электронов кислородом с образованием АФК. Согласно нашим исследованиям, физиологически зрелые семена с повышенным содержанием «остаточных» Хл сильнее повреждаются при старении. Это проявляется в увеличении проницаемости клеточных мембран, усилении спиртового брожения, повреждении генетического аппарата и, как следствие, замедлении скорости прорастания и формировании ненормально развитых проростков.

*Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 16-16-00026.*

### **УЧАСТИЕ ФЕРМЕНТОВ Fe(Ni)-ARD В БИОСИНТЕЗЕ ЭТИЛЕНА И ПОЛИАМИНОВ. РОЛЬ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ МАКРОСТРУКТУР В МЕХАНИЗМЕ КАТАЛИЗА НА МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ**

**Л.И. Матиенко, Л.А. Мосолова, В.И. Бинюков, Е.М. Миль, Г.Е. Заиков**

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия*

Цикл синтеза и воспроизводства метионина играет важную роль в регуляции ряда важных метаболитов в прокариотах и эукариотах. Структурные и функциональные различия двух ферментов Ациредуктон Диоксигеназ Ni(Fe)-ARD, принимающих участие в пути рециркуляции метионина, который регулирует аспекты клеточного цикла, зависят от иона металла, связанного в активном месте фермента. Только в результате действия FeIIARD образуется метионин (и этилен, полиамины). Никель связанная форма фермента ARD катализирует путь, не приводящий к образованию метионина. Однако в результате действия NiII-ARD образуется монооксид углерода (CO), представляющий новый класс нейротрансмиттеров. Самоорганизация гетеролигандных комплексов никеля и железа в различные супрамолекулярные наноструктуры может быть одной из причин, определяющих специфическую активность Диоксигеназ Ni(Fe)-ARD по отношению к одним и тем же субстратам (1,2-дигидрокси-3-оксо-5(метилтио)пент-1-ен (Ациредуктон) и кислород).

С помощью метода АСМ мы показали возможность самоорганизации комплексов никеля  $Ni^{II}_2(AsO)_5(асас)MP \cdot (H_2O)_2$  ( $MP=N$ -метилпирролидон-2) и железа  $Fe^{III}_x(асас)_y18C6_m(H_2O)_n$ , ( $18C6=18$ -краун-6), являющихся функциональными и структурными моделями Ni(Fe)-ARD, в макроструктуры за счёт межмолекулярных H-связей на специально подготовленных кремниевых поверхностях. Самоорганизация комплексов железа в структуры, напоминающие форму микро волокнистой трубочки тубулина (как, например, это происходит в случае  $Fe^{III}_x(асас)_y18C6_m(H_2O)_n$ ), может промотировать активацию  $O_2$  ( $Fe^{II}+O_2 \rightarrow Fe^{III}-O_2^-$ ), первую стадию в механизме действия FeII-ARD и последующие реакции, приводящие к образованию метионина и этилена. Мы предположили, что в случае NiII-ARD, Туг-фрагмент, участвующий в механизме, может способствовать снижению активности NiII-ARD. Как было нами установлено, включение PhOH в модельный комплекс  $Ni(асас)_2MP$ , приводит к его стабилизации. Образование макроструктур за счёт межмолекулярных H-связей на основе комплексов  $\{Ni^{II}(асас)_2MP \cdot PhOH\}$ , установленное нами методом АСМ, свидетельствовало в пользу предполагаемой роли фенол-содержащего фрагмента. Недавно мы получили АСМ данные в пользу участия Туг-фрагмента в качестве одного из регуляторных факторов в механизме действия Ni-ARD. Мы впервые наблюдали самоорганизацию наноструктур на основе тройных систем  $\{Ni^{II}(асас)_2+MP+Tyr\}$  ( $Tyr=L$ -Тирозин) за счёт межмолекулярных H-связей на специально подготовленной модифицированной кремниевой поверхности.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЛНЕЧНЫХ ЯЧЕЕК НА ОСНОВЕ КОМПОНЕНТОВ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ОТ ТЕМПЕРАТУРНЫХ И СВЕТОВЫХ УСЛОВИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**Р.А. Волошин<sup>1</sup>, Д.А. Габриелян<sup>1</sup>, В.С. Бедбенов<sup>1</sup>, В.Д. Креславский<sup>1,2</sup>, С.К. Жармухамедов<sup>2</sup>, С.И. Аллахвердиев<sup>1,2,3</sup>** *<sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва; <sup>2</sup>Институт фундаментальных проблем биологии, РАН, Пуцзино; <sup>3</sup>Кафедра физиологии растений, Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Солнечные ячейки на основе компонентов фотосинтетического аппарата (ФА) становятся предметом все большего количества исследований по разработке эффективных преобразователей энергии. Они основаны на использовании практически неисчерпаемых, дешевых и экологически чистых элементов окружающей среды – воды и солнечного излучения. Однако, из-за низкой стабильности ФА и его компонентов, они обладают высокой чувствительностью к изменению условий внешней среды. В этой связи наша работа посвящена исследованию температурной и световой зависимости эффективности работы сенсibilизированных красителем солнечных ячеек на основе компонентов фотосинтетического аппарата (ФА) с добавлением стабилизирующих осмолитов. Нами была сконструирована и собрана измерительная установка, включающая в себя термостабилизирующую камеру, стойку с лампой, держатель для светофильтров, термопару, гальванометр и блок, считывающий показатели термопары. На основе этого стенда была исследована зависимость выходного сигнала тока солнечных ячеек с различными стабилизирующими агентами от параметров внешней среды (температура, интенсивность света, спектральный состав света). Были определены оптимальный температурный и световой диапазон, в котором выходной сигнал тока ячейки на основе тилакоидных мембран был максимальным, а также подобраны стабилизаторы-осмолиты, которые позволили увеличить продолжительность работы солнечной ячейки. Эффективным осмолитом оказался глицин-бетаин. Сила тока, полученного в присутствии и отсутствие 1М глицин-бетаина, составляла 50 и 16 нА, соответственно. Используемая методика исследования влияния факторов внешней среды на стабильность и эффективность солнечных ячеек может быть использована в дальнейшем в исследованиях, направленных на повышение стабильности и эффективности солнечных ячеек. Данные этих исследований позволят определить дальнейшие пути оптимизации работы солнечных ячеек. *Эта работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№: 14-14-00039).*

**УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАБОТЫ СОЛНЕЧНЫХ ЯЧЕЕК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Д.А. Габриелян<sup>1</sup>, В.С. Бедбенев<sup>1</sup>, Р.А. Волошин<sup>1</sup>, С.И. Аллахвердиев<sup>1,2,3</sup> <sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва; <sup>2</sup>Институт фундаментальных проблем биологии, РАН, Пущино, Московская обл.; <sup>3</sup>Кафедра физиологии растений, Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Для обеспечения определенных условий среды (интенсивности света и его спектрального состава, а также температуры среды) была сконструирована установка, позволяющая экспериментально регистрировать значения выходного сигнала постоянного тока исследуемых солнечных ячеек в зависимости от указанных параметров. В работе описана конструкция разработанной установки, методика проведения измерений и представлены результаты измерений тестовых солнечных ячеек сконструированных на основе компонентов фотосинтетического аппарата. Установка позволяет проводить автоматизированные исследования эффективности работы солнечных элементов различного типа как на органических, так и на биологических компонентах, посредством задания исходных параметров через интерфейс компьютера. Исследования на разработанной установке возможно проводить в широком температурном диапазоне от -10 до 90°C, и при различных интенсивностях и спектральных составах света ( $\lambda=380-76$  нм).

**НОВЫЕ СИНТЕТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ 2, КАРБОНАГИДРАЗЫ И ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ**

М.В. Родионова<sup>1</sup>, М.С. Карацан<sup>2</sup>, Т. Тунц<sup>3</sup>, К.Б. Венедик<sup>2</sup>, С. Мамас<sup>2</sup>; А.В. Шитов<sup>4</sup>, Н. Карацан<sup>2</sup>, С.К. Жармухамедов<sup>4</sup>, В.В. Климов<sup>4</sup>, С.И. Аллахвердиев<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория управляемого фотобиосинтеза, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Кафедра химии, Научный факультет, Университет Гази, Анкара, Турция; <sup>3</sup>Кафедра химии и технологических процессов, Университет Евпал, Кыршехир, Турция; <sup>4</sup>Институт фундаментальных проблем биологии, РАН, Пущино, Московская обл., Россия; <sup>5</sup>Кафедра физиологии растений, Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Использование специфических ингибиторов является одним из методов изучения функций ферментов. Создание новых химических ингибиторов и исследование молекулярного механизма их действия позволяет получить информацию о функционировании и свойствах ферментов. Кроме того, это может служить первым шагом к созданию средств защиты растений, а также возможных препаратов для медицины животных и человека. Фотосистема 2 как одна из основных ферментативных систем, определяющих рост и продуктивность растения, наиболее уязвима к действию стрессоров, включая агенты, подавляющие фотоиндуцированный перенос электрона при фотосинтезе. Другой важной мишенью для ингибиторов являются растительные карбоангидразы. Глутатионредуктаза – главный клеточный антиоксидантный фермент, широко распространенный в клетках как эукариот, так и прокариот. Этот фермент катализирует восстановление окисленного глутатиона, используя НАДФН в качестве донора электронов. Создание универсальных соединений, которые одновременно подавляют несколько ключевых ферментов и/или систем, представляет собой один из способов повышения эффективности регуляции роста растений. В представленной работе исследованы девятнадцать новых синтетических комплексов сурьмы(III), которые являются возможными гербицидами. Шесть из этих соединений были синтезированы впервые, и их структурные и физико-химические свойства определены с помощью элементного анализа, спектроскопии, путем измерения магнитной восприимчивости и электропроводности. Наиболее стабильные формы этих девятнадцати комплексов определены методом DFT/B3LYP/LanL2DZ. Исследовано действие этих соединений на фотосинтетический транспорт электронов и карбоангидразную активность фотосистемы 2, а также на глутатионредуктазу из хлоропластов. Показано, что все синтетические комплексы сурьмы (III) проявляют ингибирующее действие на активность глутатионредуктазы хлоропластов. Ряд соединений эффективно ингибирует фотосинтетическую и карбоангидразную активность фотосистемы 2. Вещества, которые имеют в своем составе органические группы, являются универсальными ингибиторами исследованных активностей. Такое свойство может быть использовано как в сельском хозяйстве, так и в создании новых лекарственных средств и антибиотиков. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и МКБ.

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АМИНОПЕПТИДАЗЫ Р ИЗ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ SYNECHOCYSTIS SP. PCC6803**

А.С. Баик, К.С. Миронов, Е.С. Пожидаева Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

Аминопептидаза Р осуществляет избирательный протеолиз белков или пептидов, гидролизует первую аминокислоту в том случае, если во второй позиции находится пролин. Циклическая структура молекулы пролина накладывает жесткие конформационные ограничения на пролин-содержащие пептиды и способствует стабильности физиологически важных биомолекул. Удаление первой аминокислоты, в таком случае, может инициировать специфическую деградацию/инактивацию полипептида или приводить к изменению его биоактивности. Согласно базе данных Cyanobase, ген sl10136 одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC6803 кодирует, предположительно, белок аминопептидазы Р (PepP) с мол. массой 49,5 кДа. Для получения полноразмерного рекомбинантного белка PepP были созданы генетические конструкции на основе вектора pET41a(+), содержащие кодирующую область гена sl10136. Индуцированную экспрессию белка проводили в клетках BL21(DE3)pLysS E.coli в течение 16 ч при 25°C. Препарат PepP очищали на колонке, содержащей глутатион-сефарозу. Для удаления аффинных меток проводили протеолиз в присутствии энтерокиназы и повторно очищали на глутатион-сефарозе. Идентификацию белка PepP проводили с помощью иммунохимического анализа с антителами против человеческой X-пролил аминопептидазы 3 (XPNPPEP3) и MALDI-TOF масспектрометрии. Для характеристики PepP *in vitro* были определены кинетические параметры гидролиза флуоресцентного субстрата H-Lys(Abz)-Pro-Pro-pNA и брадыкинина. В свою очередь, PepP не проявлял активности в отношении азоказеина, характерного субстрата для сериновых протеаз. Изучение pH- и температурной зависимости фермента показало, что оптимум работы PepP находится в пределах 30°C и pH 7,5. Ингибиторный анализ проводили в присутствии 1,10-фенантролина, PMSF, DTT или EDTA. Для изучения влияния ионов двухвалентных металлов на активность очищенного препарата белка PepP использовали водные растворы MnCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, CdCl<sub>2</sub>. Активность фермента обнаруживалась в отсутствие металла-кофактора. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-00810 мол. а.

**ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ГИНЗЕНОЗИДОВ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЖЕНЬШЕНЯ ЯПОНСКОГО *PANAX JAPONICUS* VAR. *REPENS* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В КОЛБАХ**Е.С. Глаголева, Д.В. Кочкин *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Культура клеток женьшеня является продуцентом тритерпеновых гликозидов – гинзенозидов. Мы исследовали влияние гормонального баланса питательной среды на качественное и количественное содержание гинзенозидов в суспензионной культуре клеток женьшеня японского *Panax japonicus* var. *repens*. В стандартных условиях данная культура выращивается на среде, содержащей фитогормоны как ауксины так и цитокинины в концентрации 2 мг/л ( $\alpha$ -НУК) и 1 мг/л (кинетин). Ранее для данной культуры было показано, что добавление в среду синтетического ауксина 2,4-Д (2 мг/л) на фоне полного исключения кинетина влияет на накопление основных гинзенозидов. Однако, при этом на культуру оказывается сразу три воздействия: происходит удвоение общего содержания ауксинов, добавляется ауксин другой группы, а также полностью исключается кинетин. Для того, чтобы разделить возможные эффекты каждого из этих факторов, были исследованы среды с удвоенным содержанием ауксинов разных групп ( $\alpha$ -НУК, 2,4-Д и Пиклорам) без изменения содержания кинетина, а также среды, содержащие стандартное количество ауксинов, но без кинетина. Предварительный фитохимический анализ (ВЭЖХ) показал наличие во всех опытных вариантах основных гинзенозидов даммаранового ряда (Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, Rd) с преобладанием Rg1 и Rb1, а также гинзенозида R0 – производного олеаноловой кислоты – характерного для данного вида женьшеня. Удвоение содержания в среде ауксинов не оказывало значительного влияния на накопление основных гинзенозидов в изучаемой культуре клеток. На среде без кинетина накопление гинзенозидов Rg группы также значительно не менялось, тогда как уже после первого пассажа было значительно снижено содержание некоторых гинзенозидов Rb группы: Rc для вариантов с  $\alpha$ -НУК и 2,4-Д, а также Rb1 для варианта с  $\alpha$ -НУК. Возможность изменения соотношения между гинзенозидами Rg и Rb группы может представлять интерес, поскольку некоторые исследования показывают противоположную биологическую активность для данных групп гинзенозидов. Настоящее исследование показывает, что биосинтез гинзенозидов разных структурных групп по-разному реагирует на изменение гормонального состава питательных сред, однако для более корректного сравнения мы планируем проведение анализа ацильных производных данных гинзенозидов.

**ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЙ РЕГУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ДИСФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА, ОБУСЛОВЛЕННУЮ ДЕФИЦИТОМ ВОДЫ**И.В. Жигачева, Е.Б. Буракова *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия*

Водный дефицит модифицирует клеточные мембраны и мембраны органелл, влияя на их функции и метаболизм клетки. Известно, что регуляторы роста и развития растений повышают устойчивость растений, как к биотическому, так и к абиотическому стрессу, в том числе и к водному дефициту. Таким регулятором роста (PPP) являются мелафен, (меламиновая соль бис-(оксиметил)-фосфиновой кислоты). Целью данного исследования было изучение влияния недостаточного увлажнения и обработки семян гороха  $2 \times 10^{-12}$  М мелафеном на биоэнергетические показатели 6-дневных этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.), сорт Альфа. Водный дефицит имел следствием активацию свободно радикального окисления в мембранах митохондрий проростков гороха, о чем свидетельствует 3-кратный рост интенсивности флуоресценции продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Обработка семян гороха исследуемым PPP приводила к снижению интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ до контрольных значений. Активация ПОЛ вызывала значительные изменения в содержании C<sub>18</sub> и C<sub>20</sub> жирных кислот (ЖК) в мембранах митохондрий. Соотношение суммарного содержания C<sub>18</sub> ненасыщенных ЖК к содержанию стеариновой кислоты снижалось почти в 1,6 раза, а соотношение (20:1 $\omega$ 7 + 20:1 $\omega$ 9 + 20:2 $\omega$ 6)/C<sub>20</sub>:0 снизилось в 3 раза. Изменения физико-химических свойств мембран митохондрий сопровождалось 30% снижением максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов, 2-кратным снижением скоростей транспорта электронов на конечном участке дыхательной цепи митохондрий и 25% снижением эффективности окислительного фосфорилирования. Обработка семян мелафеном, защищая от перекисного окисления ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов мембран, предотвращала изменения в жирнокислотном составе мембран, проростков выращенных в условиях недостаточного увлажнения. Можно предположить, что, что устойчивость растений к водному стрессу определяется антиоксидантной системой клетки, защищающей ненасыщенные C<sub>18</sub> ЖК и ненасыщенные C<sub>20</sub> ЖК от модификаций, индуцированных окислительным стрессом. В результате ингибирования ПОЛ мелафеном сохраняется пул ненасыщенных ЖК, имеющих 18 и 20 атомов углерода на исходном (контрольном) уровне, что предотвращает изменения в энергетике митохондрий, вызванные дефицитом воды.

**ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ-ДЕГИДРИНОВ В ПОЧКАХ ДВУХ ВИДОВ БЕРЕЗ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ КАРЕЛИИ**И.В. Васильева<sup>1</sup>, А.А. Перк<sup>1</sup>, Т.Д. Татарнинова<sup>1</sup>, Л.В. Ветчинникова<sup>2</sup>, О.С. Серебрякова<sup>2</sup>, В.В. Бубякина<sup>1</sup>, А.Г. Пономарев<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск; <sup>2</sup>Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

Береза повислая (*Betula pendula* Roth) и береза пушистая (*B. pubescens* Ehrh.) характеризуются широким ареалом в Евразии. Они обладают высокой экологической пластичностью, но предпочитают занимать разные экологические ниши. Береза повислая чаще произрастает в сухих местах, а береза пушистая, напротив, влаголюбива и ее ареал заходит севернее березы повислой, вследствие чего она рассматривается как более морозоустойчивый вид. Предполагается, что в адаптивных механизмах древесных растений к низким температурам важную роль играют стрессовые белки-дегидрины. Целью работы являлся сравнительный анализ сезонных изменений состава и полиморфизма дегидринов в почках *B. pendula* и *B. pubescens*, произрастающих в условиях Карелии (61°47' с.ш., 34°20' в.д.). Для идентификации дегидринов использовали поликлональные антитела против их консервативного К-сегмента (EKKGIME/DKIKEKLP) («Agriser», Швеция). У изученных экземпляров растений двух видов березы во время покоя были выявлены мажорные 17 кДа, а также круглогодичные 66 и 69 кДа дегидрины. В области 62-69 кДа отмечались отдельные минорные 62 и 64 кДа, а в низкомолекулярной области – 15, 37, 56 кДа дегидрины. Весной уровень стрессовых белков снижался, при этом 15 и 17 кДа дегидрины полностью исчезали в начале вегетации растений. По мере подготовки берез к зимнему покою (август, сентябрь) содержание дегидринов, особенно 17 кДа, снова резко увеличива-

лось и достигало стабильного уровня в холодный период года. В целом, достоверных различий в сезонной динамике и межвидовом полиморфизме дегидринов в почках *B. pendula* и *B. pubescens* не выявлено, что указывает на сходный характер адаптации обоих видов берез к условиям умеренно континентального климата Карелии. Вместе с тем, особенности годичного цикла стрессовых белков, в первую очередь, низкомолекулярного 17 кДа дегидрина, могут свидетельствовать об их вероятном участии в биохимических процессах, ассоциированных с перезимовкой деревьев. *Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственных заданий (№ 0376-2014-0006, № 0020-2014-0002).*

### **МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ: SEM – EDS И ВЭЖХ – АНАЛИЗ ЗОЛЫ ПЛОДОВ**

**С.М. Мотылева, И.М. Куликов, Л.А. Марченко**

*Всероссийский научно-исследовательский институт садоводства и питомниководства, Москва, Россия*

Наша рабочая гипотеза заключалась в том, что природный нанопористый минерал может положительно способствовать росту растений земляники и качеству ягод. Цель данной работы заключалась в оценке этого влияния репрезентативным методом: с помощью сканирующего электронного микроскопа (SEM) в сочетании с энергодисперсионным анализатором (EDS) и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Растения земляники выращивали в условиях агроэкологического опыта с возрастающими дозами природного нанопористого минерала – мелиоранта, вносимого в дозах 8 – 15 т/га. Отмечено влияние мелиоранта на интенсивность развития растений, урожайность и качество продукции. SEM – изображения позволили выявить морфологические изменения поверхности растений. Подтверждено положительное влияние мелиоранта на морфологические показатели листьев – средний периметр клеток верхнего эпидермиса листьев (на делянках с внесением нанопористого минерала периметр клеток на 4,3–6,3 мкм больше, чем на контроле). EDS – анализ и карты распределения были использованы для идентификации химического состава и относительного распределения макро – и микроэлементов в твердых образцах – золе листьев и плодов земляники. Листья и плоды содержали К, О, N, Na, P, Mg, Si, S, Ca, Mn и Fe. Были выявлены различия в количественном составе элементов. Антипитательные элементы – свинец и никель определяли методом ВЭЖХ. Выявлено статистически достоверное увеличение содержания К, Р (на 8–15%) и снижение Рb в плодах и листьях (на 4–6%) в с вариантах с применением нанопористого минерала. EDS – карты распределения показали, что основные питательные вещества – К, О, N, Na, P, Si, S, и Са относительно равномерно распределены в растениях земляники. Применение нанопористых природных минералов обеспечивает получение экологически безопасных ягод земляники и улучшает питание растений. Сканирующая электронная микроскопия в сочетании с энергодисперсионным анализом и использование ВЭЖХ – метода являются мощными методами, которые могут дать качественную и количественную характеристику одновременно большому количеству элементов в золе растений.

### **ПРОФИЛЬ ОКСИЛИПИНОВ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L.**

**А.В. Огородникова, Т.М. Ильина, Ф.К. Мухитова, А.Н. Гречкин**

*Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, Казань, Россия*

Объектом исследований была пшеница (*Triticum aestivum* L.). В исследованном объекте обнаружено большое разнообразие продуктов. Среди идентифицированных оксипинов преобладали продукты 9-липоксигеназного каскада, но присутствовали и продукты 13-липоксигеназного каскада. Идентифицированные оксипины являются продуктами путей, контролируемых гидропероксидазами (ГПЛ), алленоксидсинтазами (АОС) и эпоксиалкогольсинтазами (ЭАС). Корни проростков пшеницы имеют сложный оксипиновый профиль, обнаружено большое разнообразие продуктов, также присутствуют неизвестные соединения. К продуктам ГПЛ относятся 9-оксононановая кислота (минорный продукт со временем удерживания около 5,1 мин), 4-гидроксинонановая кислота (продукт окисления 3Z-ноненаля), азелаиновая кислота (основной продукт, образуется в результате окисления 9-оксононановой кислоты, первичного продукта 9-ГПЛ), (3Z)-травматиновая кислота, (3Z)-додецен-1,12-диовая кислота (продукт окисления (9Z)-12-оксо-9-додеценовой кислоты, которая является первичным продуктом 13-ГПЛ). Эти соединения были обнаружены нами ранее в развивающихся корнях гороха. Помимо продуктов ГПЛ, в профиле оксипинов (в порядке возрастания полярности) присутствуют неизвестные соединения (их масс-спектры не соответствуют никаким известным соединениям из библиотечных масс-спектров), гидроксид-октадекадиеновые кислоты 9-ГОД и ГОД, 10-оксо-11-фитеновая кислота (минорный продукт), цис-12-оксо-10,15-фитодиеновая кислота и альфа-кетолы – это продукты пути, контролируемого АОС. Эпоксиспирты и самые полярные соединения – тригидроксикислоты (время удерживания 19–21 мин) – продукты пути, контролируемого эпоксиалкогольсинтазой (ЭАС). Таким образом, корни проростков пшеницы проявляют исключительное разнообразие оксипинов. В них одновременно экспрессированы гены 9- и 13-липоксигеназ, ГПЛ, АОС и ЭАС. По-видимому, роль оксипинов в развивающихся корнях связана как с регуляцией онтогенеза, так и с защитными функциями. *Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (гранты №№ 15-04-04108, 15-44-02414-р\_поволжье\_a), гранта Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ.*

### **БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ДЕСТРУКЦИЕЙ ТУБУЛИНОВОГО И АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ**

**Н.С. Власова, В.Л. Ланцев, Т.И. Пузина** *Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Орел, Россия*

Элементы цитоскелета, являясь надмолекулярной высокодинамичной системой, выполняют транспортную, каркасную, сигнальную и другие функции в растительных клетках. Однако их участие в реакциях метаболизма изучено крайне мало. Исследовали индуцированные деполимеризаторами микротрубочек и микрофиламентов изменения в содержании белков, глюкозы, триглицеридов и активности ферментов. В качестве деструктора тубулинового цитоскелета использовали 1 мМ раствор колхицина (Fluka, Швейцария), а актинового цитоскелета – 0,1 мМ раствор цитоалазина Б (Sigma, США). Растения картофеля с. Удача выращивали в почвенной культуре в условиях вегетационного домика на агробиостанции Орловского госуниверситета. Исследовали листья 7 яруса в фазе бутонизации. Биохимические анализы проводили на полуавтоматическом мультикиветном спектрофотометре Clima MC-15 (Испания) реактивами фирмы BioSystem (Испания), используя руководство к применению реактивов данной фирмы. Результаты показали, что деструкция элементов цитоскелета увеличивала общее содержание белка

в листьях, причем в большей степени это проявилось при действии амтимикротрубочкового агента. Возможно это связано с тем, что колхицин, связываясь с димером  $\beta$ -тубулина, не только предотвращает его полимеризацию, но и вызывает деполимеризацию микротрубочек с её другого конца. На фоне существенной (почти в 3 раза) активизации работы  $\alpha$ -амилазы в варианте с колхицином повысился уровень глюкозы. Деструкция микрофиламентов цитохалазином Б практически не изменила активность данного фермента, однако количество глюкозы несколько повысилось. Нарушение целостности элементов цитоскелета сопровождалось возрастанием уровня триглицеридов, входящих в клеточные мембраны. Не исключено, что высвобождение триглицеридов, происходило за счет нарушения в клетках цитоскелет – мембранного комплекса. Присутствие ингибитора микротрубочек колхицина вызвало возрастание в 2 раза активности лактатдегидрогеназы, восстанавливающей пирувиноградную кислоту до молочной, что может свидетельствовать о преобладании в данных условиях брожения над дыханием. Делается заключение о зависимости содержания органических веществ и активности ферментов от структурного состояния элементов цитоскелета.

### **СТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ-ДЕГИДРИНЫ В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* L. В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО КЛИМАТА ЯКУТИИ**

**Т.Д. Татарина, А.А. Перк, В.В. Бубякина, И.В. Васильева, А.Г. Пономарев**  
Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), как одна из основных лесобразующих пород Евразии, обладает высокой степенью морозоустойчивости. Специфические белки, синтезирующиеся в растениях при формировании их криорезистентности в условиях экстремально холодного климата Якутии, почти не изучены. К таковым относятся стрессовые белки-дегидрины, накопление которых индуцируют сокращение фотопериода и низкие положительные температуры. Предполагается, что дегидрины могут участвовать в защите биополимеров и мембран клеток от повреждений, вызванных дегидратацией при низкотемпературном стрессе. Впервые в хвое сосны обыкновенной (*P. sylvestris* L.) в условиях криолитозоны Якутии изучены полиморфизм стрессовых белков-дегидринов и их изменения в полном годовом цикле. Сбор материалов в 2009–2014 гг. проводили ежемесячно в окрестностях Якутска (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Климатические условия в годы отбора проб были близки к многолетним значениям, причем абсолютный зимний минимум составлял –50,3°C (январь 2012). Дегидрины идентифицировали с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента (EKKGIME/DKIKEKLPG) («Agriser», Швеция). Мажорные дегидрины у сосны представлены двумя группами с молекулярными массами 14–15 и 66 кДа. Выраженный полиморфизм дегидринов у индивидуальных деревьев в период зимнего покоя не выявлен. Различия между растениями проявлялись, в основном, в количественном содержании низкомолекулярных дегидринов, имеющих сезонную динамику. Обнаружена отчетливая связь между изменением содержания воды в хвое и сезонными вариациями содержания мажорных дегидринов. Показано, что уровень данных дегидринов является стабильно высоким во время зимнего покоя, когда морозоустойчивость достигает максимальных значений. Сезонные изменения дегидринов, в основном низкомолекулярных, в хвое *P. sylvestris* L. предполагают их участие в формировании устойчивости данного вида к экстремально низким зимним температурам в условиях криолитозоны Якутии. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ 0376-2014-0006).

### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ О-АНТИГЕНАМИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ**

**Ю.А. Книрель, С.Н. Сенченкова, А.В. Перепелов, Б. Лю, Л. Ван**

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия; Нанькайский университет, Институт биологических наук и биотехнологии, Тяньцзиньская зона экономического и технического развития, Тяньцзин, КНР

Энтеробактерии – большое семейство грамтрицательных бактерий, среди которых встречаются как комменсальные, так и патогенные клоны. Полисахаридная цепь липополисахарида – компонента внешней мембраны клеточной стенки – являются соматическим антигеном бактерий, называемым О-антигеном. Интенсивная селекция под воздействием иммунной системы хозяина и бактериофагов привела к широкому полиморфизму генного кластера биосинтеза О-антигена и соответственно к возникновению множественных О антигенных форм, что предоставляет различным клонам бактерий определенные преимущества в их специфических экологических нишах. На этом разнообразии основано серотипирование и молекулярное типирование грамтрицательных бактерий. О-антиген также является фактором, влияющим на выживание, вирулентность и инвазивность бактерий, и отдельные О-антигенные формы встречаются у патогенных клонов непропорционально часто. Наиболее изучены в отношении строения и генетики биосинтеза О-антигенов энтеробактерии родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Cronobacter* и *Citrobacter*, часто объединяемые по признаку генетического сходства в группу *Salmonella*, а также *Klebsiella*, *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia* и *Hafnia*. Бактерии группы *Salmonella*, включающей многие сотни различных клонов, объединяет доминирование в составе большинства О антигенных форм сходных моносахаридов и локализация генного кластера О-антигена в одном и том же месте хромосомы между консервативными генами *galF* и *gnd*. Кроме того, у многих клонов одного вида, одного рода, а часто и разных родов наблюдается близкое структурно-генетическое родство О-антигенов. Анализ таких клонов позволяет определить генетические механизмы диверсификации О антигенных форм и выявить молекулярные эволюционные взаимосвязи между ними. Этим аспектам изучения О антигенов энтеробактерий группы *Salmonella* посвящен представленный доклад. Работа поддержана грантом РФФ № 14-14-01042.

### **ПОЛИИОННЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ И ИХ КОМПЛЕКСЫ**

**И.М. Ермак, Е.В. Соколова, А.В. Володько, В.Н. Давыдова, А.О. Кравченко**

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

Полиионные полисахариды морских организмов благодаря широкому спектру физиологической активности, безопасности и биосовместимости являются перспективными полимерами для биомедицины. Из красных водорослей семейств *Gigartinales*, *Tichocarpaceae*, *Phylloporaceae* выделены сульфатированные полисахариды-каррагинаны- и установлена их структурно-функциональная связь. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* изучена противовоспалительная и иммуномодулирующая

активности каррагинанов и показано, что их проявление зависит от структурной регулярности полисахарида, его моносахаридного состава, молекулярной массы, количества и местоположения сульфатных групп в полимере. Каррагинаны стимулируют активность нейтрофилов, усиливают синтез АФК, обладают избирательной цитокин-индуцирующей активностью. Полисахариды с гибридной структурой и низкой степенью сульфатирования слабо влияют на синтез провоспалительных цитокинов, но индуцируют синтез противовоспалительного цитокина ИЛ-10, которому, как известно, отводится потенциальная защитная роль при бактериальных инфекциях. Они активируют ЛПС-индуцированный синтез ИЛ-10 иммунокомпетентными клетками крови человека, усиливают синтез противовоспалительного интерлейкина при ЛПС-индуцированной эндотоксемии, изменяют поверхностный заряд и надмолекулярную структуру ЛПС и конкурируют за его связывание с TLR4-рецепторами. Каррагинаны образуют с полианионом хитозаном полиэлектролитные комплексы различной стехиометрии, формирование которых зависит от структурных особенностей полисахарида. Высокосульфатированные каррагинаны с гибкой конформацией макромолекул в растворе обладают наибольшей аффинностью к хитозану. В построении надмолекулярной организации полученных комплексов и проявлению ими цитокин-индуцирующей, антивирусной, противовоспалительной активностей ведущая роль принадлежит каррагинану. Комплекс с высоким содержанием хитозана обнаруживает гастропротекторную активность, превосходящую действие эталонного препарата Фосфологель. Сочетание гелеобразующих свойств каррагинанов с их физиологической активностью и способностью образовывать комплексы с хитозаном открывает возможность использования этих мукоадгезивных полимеров в качестве носителей новых лекарственных форм. *Работа поддержана грантом РФФИ (16-14-00051).*

### **СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НАГРУЗКА ГЛИКОПОЛИМЕРОВ РИЗОБАКТЕРИЙ В АССОЦИАТИВНЫХ ОТНОШЕНИЯХ С РАСТЕНИЯМИ**

**С.А. Коннова<sup>1,2</sup>, Ю.П. Федоненко<sup>1,2</sup>, Е.Н. Сигида<sup>2</sup>, Е.П. Шувалова<sup>1</sup>, В.В. Игнатов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского; <sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

Свободноживущие ризобактерии, которые относят к группе микроорганизмов, стимулирующих рост растений, продуцируют ряд гликополимеров, участвующих в разнообразных процессах, связанных с адаптацией микроорганизмов к существованию в различных экологических нишах, предоставляемых растениями: ризосфере, ризоплане, на поверхности в составе биопленок или в межклеточном пространстве корней (эндосимбионты). При этом условия существования индуцируют биосинтез углеводных компонентов, которые могут содействовать выживанию бактерий в микроаэрофильных условиях, в условиях углеродного голодания, облегчают агрегацию и флокуляцию бактерий, адсорбцию на поверхности корней, в том числе и посредством гликозилирования жгутика, защищают микроорганизмы от агрессивных химических воздействий и пр. В докладе представлены данные литературы и собственных исследований о структурных особенностях гликополимеров свободноживущих и эндофитных представителей ризобактерий азоспирилл, псевдомонад, гербаспирилл, участвующих в реализации адаптационных стратегий этих микроорганизмов к условиям существования. Показаны условия, индуцирующие адаптационные изменения гликополимеров на поверхности бактерий при изменении условий их существования, а также под воздействием метаболитов растений.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ проект 14-04-01658 и Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 2014/203, код проекта 1287.*

### **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РАМНОГАЛАКТУРОНАНОВ I ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**П.В. Микшина** Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

Рамногалактуронаны I относятся к числу наиболее сложноорганизованных и функционально разнообразных полисахаридов растительных клеточных стенок. Варибельность их строения, определяемая, прежде всего, разнообразием входящих в состав этих полисахаридов различных видов мономеров (остов: Rha, GalA, боковые цепи: Gal, Ara и минорные компоненты в виде единичных остатков), соединенных различными типами связи (остов: 1→2, 1→4, боковые цепи: 1→4, 1→5, 1→3, 1→6), настолько велика, что позволяет относить рамногалактуронаны I к классу предельно сложных биополимеров. При этом типы рамногалактуронанов I могут быть уникальны не только для каждого вида растения, но в различных тканях одного растения, а иногда и на разных стадиях развития одной ткани. Присутствие рамногалактуронанов I в различных типах клеточных стенок (первичная и третичная), а также их секреция, синтез и модификация, сопровождающие различные физиологические процессы (прорастание семян, созревание фруктов, рост клеток, формирование натяжения в клеточных стенках волокон и др.) предполагает, наряду со структурным, и функциональное разнообразие этих полисахаридов. Однако причины столь широкого структурно-функционального разнообразия рамногалактуронанов I до сих пор неясны. В докладе обозначены ключевые проблемы в изучении таких сложных нелинейных гетерополисахаридов, как рамногалактуронаны I, и предложены подходы к решению части из них. На примере трех различных типов рамногалактуронанов I одного растения будет проведено соотнесение особенностей строения и свойств этих полимеров с их функциональной пригодностью в ходе роста клеток, при прорастании семян и реализации механической функции растительными волокнами. На основе совокупности полученных на сегодняшний день сведений о рамногалактуронанах I будут выдвинуты идеи, объясняющие необходимость структурно-функционального разнообразия этих полисахаридов.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 15-04-02560 и гранта президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-8393.2016.4.*

### **РОЛЬ ГЛЮКАНТРАНСФЕРАЗ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ДРОЖЖЕЙ**

**Т.С. Калебина** Кафедра молекулярной биологии, Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Клеточная стенка (КС) целиком покрывает дрожжевую клетку и состоит из маннопротеинов (~40%), глюкана (~50-60%) и хитина (не более 5%). Она является внешней частью одного из важнейших компартментов клетки дрожжей – клеточной оболочки, в которую входят также плазматическая мембрана и периплазматическое пространство. Помимо очевидной роли



наружного скелета дрожжей, от которого зависит поддержание формы клетки, а также ее устойчивость к внешним воздействиям, КС является метаболически активной органеллой. В КС закрепляются рецепторы, воспринимающие сигналы из внешней среды, она участвует в процессе транспорта различных соединений из внешней среды в цитоплазму и обратно, а также является компартментом клетки, в котором начинается расщепление питательных субстратов; перестройками в молекулярной структуре КС сопровождаются такие процессы как флоккуляция, спаривание, переход к псевдогифальному росту. Важную роль в этих процессах играют ферменты – глюкантрансферазы. В последние годы убедительно продемонстрирована важная роль глюкантрансфераз клеточной поверхности в таких процессах как апоптоз и сайленсинг rDNA [1]. Накапливаются данные о том, что еще одним структурным компонентом клеточной стенки дрожжей, играющим важную роль в проявлении метаболической активности этой органеллы, являются липиды. В докладе будут представлены новые данные о роли в перечисленных процессах глюкантрансфераз Bgl2p и Gas1p молекулы которых закреплены в КС и плазматической мембране соответственно, и некоторых других глюкантрансфераз, а также результаты изучения структурных перестроек, происходящих в клеточных стенках дрожжей при индукции апоптоза [2]. На основании полученных результатов предложена гипотеза о роли липидного компонента клеточной стенки в закреплении и регуляции активности глюкантрансфераз. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 14-04-01187-а.

1. Ha CW et al (214), NAR, 42:8486
2. Kalebina TS et al (2015), Springerplus, 4:453.

### **РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ БИОСИНТЕЗА ГЕПАРАНСУЛЬФАТОВ В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА**

**А.В. Суховских<sup>1,2</sup>, В.С. Ушаков<sup>1,2</sup>, Э.В. Григорьева<sup>1</sup>** <sup>1</sup>НИИ молекулярной биологии и биофизики; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Изучение молекулярных механизмов развития онкологических заболеваний является одной из актуальных задач современной онкологии, однако роль гликозилированных молекул в процессе злокачественной трансформации остается до конца не понятной. Одними из основных классов таких молекул являются гепарансульфат протеоглики – сложные макромолекулы, состоящие из корового белка и углеводных цепей гепарансульфатов (ГС), которые играют важную роль в функционировании макромолекулы. Биосинтез углеводных цепей осуществляется нематрично системой биосинтетических ферментов (EXT1, EXT2, NDST1, NDST2, GLCE, 2OST1, 3OST1, 3OST2, 6OST1, 6OST2, SULF1, SULF2, HPSE), согласованная работа которых и определяет структуру молекулы ГС. Нами была высказана гипотеза о существовании молекулярного механизма, позволяющего координировать экспрессию различных ферментов системы биосинтеза ГС с помощью транскрипционных факторов. Для проверки этой гипотезы были проанализированы промоторные области генов, кодирующих ферменты биосинтеза ГС, и проведен биоинформатический поиск возможных транскрипционных факторов, регулирующих их экспрессию. С помощью компьютерных программ и доступных баз данных (RNAseq, GeneCards) были идентифицированы транскрипционные факторы, которые участвуют в регуляции как можно большего числа генов системы биосинтеза гепарансульфатов (NF-kB, p53, AP2, E2F1, SP1, c-Jun, IKB2, IKB3, TCF4,  $\beta$ -catenin, GR- $\alpha$ , GR- $\beta$ ). Экспрессия выбранных факторов была проанализирована в модельной системе, включающей в себя образцы нормальной и опухолевой ткани головного мозга с высокой и низкой транскрипционной активностью системы биосинтеза ГС. Полученные данные позволили идентифицировать транскрипционные факторы p53 и AP2 как потенциально ассоциированные с уровнем транскрипционной активности генов системы биосинтеза ГС. Также отмечено значительное снижение экспрессии ингибиторов NF-kB (IKB-2, IKB-3) в образцах с низким уровнем экспрессии генов системы биосинтеза ГС. Таким образом, полученный результат согласуется с высказанной гипотезой и впервые позволяет предположить p53 и AP2 как возможных участников координированной регуляции системы биосинтеза ГС.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ №16-34-00880 мол\_а, грант РФФИ №14-04-01283а).

### **IMPACT OF PLANT PROTEIN GLYCATION IN AGEING AND STRESS RESPONSE: POTENTIAL MECHANISMS, BIOCHEMISTRY, AND BIOLOGICAL ROLE**

**Andrej Frolov<sup>1,2</sup>, Tatiana Bilova<sup>1,2,3</sup>, Gagan Paudel<sup>1,2</sup>, Uta Greifenhagen<sup>2</sup>, Elena Lukasheva<sup>3,4</sup>, Nikita Schilyaev<sup>4</sup>, Dominic Brauch<sup>2</sup>, Alena Soboleva<sup>1,4</sup>, Anna Didio<sup>1,4</sup>, Veronika Chantseva<sup>3</sup>, Grigory Mavropolo-Stolyarenko<sup>4</sup>, Tatiana Grishina<sup>4</sup>, Galina Smolikova<sup>3</sup>, Natalia Osmolovskaya<sup>3</sup>, Gerd U. Balcke<sup>6</sup>, Carsten Milkowski<sup>5</sup>, Vasily Stefanov<sup>4</sup>, Sergei Medvedev<sup>3</sup>, Claudia Birkemeyer<sup>2</sup>, Ludger A. Wessjohann<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry; <sup>2</sup>Universität Leipzig, Faculty of Chemistry and Mineralogy; <sup>3</sup>St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry; <sup>4</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry; <sup>5</sup>Martin Luther Universität Halle-Wittenberg, Interdisciplinary Center for Crop Plant Research (IZN); <sup>6</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Cell and Metabolic Biology, Germany

Environmental stress is the major factor reducing crop productivity. The alterations in temperature, salinity, light and water regimen, as well as prolonged storage of seeds, result in overproduction of reactive oxygen species and sugar metabolites. The combination of these factors might enhance protein glycation. Resulting advanced glycation end-products (AGEs) are known to be pro-inflammatory in mammals. Recently, their presence was unambiguously demonstrated *in vivo* in stressed *Arabidopsis thaliana* plants [1]. However the protein targets, mechanisms, agents of glycation in plants, and potential role in cellular biochemistry and plant physiology are still unknown. Therefore, here we comprehensively characterize plant glycated proteome, as well as its time- and stress-related alterations, by the methods of bottom-up LC-based in-depth proteomics, and enclose the underlying mechanisms of AGE formation [2]. Using *in vitro* peptide-based glycation models, reactivity and glycation potential of individual plant sugars were addressed and considered in the context of *in vivo* abundances of corresponding metabolites. Thus, approximately 800 individual AGE-modified proteins were annotated. Thereby, monosaccharide autoxidation was the major pathway of their formation, whereas dihydroxyacetone phosphate, glyceraldehyde-3-phosphate, ribulose, erythrose, and sucrose were the most probable plant AGE precursors. The rates of glycation were increased under stress conditions and during life span.

[1] Bechtold et al. *Plant J.* **59**, 661-671

[2] Bilova et al. *J. Biol. Chem.* In press

**ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ГРИБНЫХ КАРБОГИДРАЗ И ЕГО РОЛЬ В СТРУКТУРЕ И ФУНКЦИИ ФЕРМЕНТОВ**

А.В. Гусаков, А.С. Доценко, А.М. Рожкова, П.В. Волков ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ЗАО «БиоХимМак», Москва, Россия

Карбогидразы – ферменты, катализирующие ферментативный гидролиз полисахаридов и низкомолекулярных гликозидов в природе, находят всё большее применение в различных биотехнологических процессах переработки возобновляемого растительного сырья. К числу наиболее важных карбогидраз относятся целлюлазы (эндоглюканызы и целлобиогидролазы), гемицеллюлазы (ксилаказы, арабиназы, маннанызы, ксилонглюканызы и т. д.), амилазы и пектиназы. Наиболее известными промышленными продуцентами карбогидраз являются микроскопические грибы из родов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* и др. Одной из наиболее распространенных посттрансляционных модификаций грибных карбогидраз является N- и O-гликозилирование. N-Гликозилирование характерно в основном для каталитических доменов ферментов, тогда как O-гликозилирование, как правило, подвержены богатые остатками серина и треонина линкеры, соединяющие каталитические домены с полисахаридсвязывающими модулями карбогидраз. До последнего времени функция N- и O-связанных гликанов в грибных карбогидразах была не вполне понятной. Считалось, что гликаны способствуют правильной укладке полипептидной цепи фермента в трехмерную структуру, стабилизируют ее, а также защищают белок от воздействия протеаз. В последние несколько лет стали появляться работы, показывающие возможное участие гликанов в катализе. Нами был осуществлен сайт-направленный мутагенез целлобиогидролазы I (Cel7A) из гриба *Penicillium verruculosum* (удаление сайтов N-гликозилирования путем замены соответствующих остатков Asn на Ala) и показано, что N-связанные гликаны не просто влияют на активность Cel7A, но и являются важной частью сложного процессивного механизма гидролиза полимерного субстрата, катализируемого данным ферментом. В частности, одна из аминокислотных замен (N45A) привела к значительному увеличению (до 62%) выхода сахаров при гидролизе целлюлозосодержащих субстратов. Похожие эффекты от удаления N-связанных гликанов (после замен N42A и N194A) наблюдали в случае рекомбинантной эндоглюканызы Pa (Cel5A) из *P. verruculosum*, при этом удельная активность фермента по отношению к карбоксиметилцеллюлозе и бета-глюкану возросла на 12–13% и 32–35%, соответственно.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (номер проекта 16-14-00163).

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ХИТООЛИГОМЕРОВ В ПРОЦЕССЕ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ ПРЭСНОВОДНОЙ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SYNEDRA ACUS SUBSP. RADIANS***С.М. Шишляников<sup>1</sup>, Н.П. Судаков<sup>2,3,4</sup>, И.В. Клименков<sup>1,3</sup> <sup>1</sup>Льмнологический институт СО РАН; <sup>2</sup>Иркутский научный центр хирургии и травматологии; <sup>3</sup>Иркутский государственный университет; <sup>4</sup>Иркутский научный центр СО РАН, Иркутск, Россия

Уникальной особенностью диатомовых водорослей является наличие клеточной стенки, представляющей из себя сложный материал, в состав которого входит как кремнезем, так и различные органические компоненты. Исследование роли олигосахаридных детерминант в механизме морфогенеза кремнистых структур диатомовых водорослей является важной задачей в изучении процессов биосилификации, происходящих в живых системах. У пресноводной диатомовой водоросли *Synedra acus subsp. radians* методом лазерной конфокальной микроскопии с помощью флуоресцентно меченого лектина WGA были выявлены особенности локализации хитоолигомерных структур на разных этапах морфогенеза створки диатомеи. На начальной стадии формирования дочерних створок связанный лектин локализуется в области поясковых ободков, при этом окрашивание зрелых створок происходит только в области расположения апикальных поровых полей. На поздних этапах дифференцировки хитоолигомеры идентифицируются между двумя протопластами в зоне формирования дочерних створок. Цитоархитектоника хитоолигомерных структур на данной стадии развития сходна с микрорельефом поверхности, свойственной для зрелой створки. После расхождения вновь образуемых клеток хитоолигомеры на поверхности зрелых створок не обнаруживаются. Анализ цитохимически окрашенных клеток, полученных после их пермеабиллизации 0,1% тритоном X100, не выявил наличия внутриклеточных хитиновых детерминант. Это свидетельствует о том, что синтез данных олигосахаридов ассоциирован с внешней поверхностью новообразованной плазмолеммы, где располагаются хитинсинтазы, участвующие в их синтезе. На основе полученных данных мы полагаем, что хитоолигомеры участвуют в процессе морфогенеза диатомовых клеток *S. acus subsp. radians*, обеспечивая заключительные этапы формирования дочерних створок перед расхождением вновь образуемых клеток. Эти результаты свидетельствуют о ключевой роли олигосахаридных детерминант в дифференцировке и синхронизации процессов клеточного деления диатомеи.

**СТРОЕНИЕ И ГЕНЕТИКА БИОСИНТЕЗА O-АНТИГЕНОВ *ENTEROBACTER CLOACAE***А.В. Филагов<sup>1</sup>, А.С. Шашков<sup>1</sup>, А.В. Перепелов<sup>1</sup>, Ю.А. Книрель<sup>1</sup>, М. Ван<sup>2</sup>, С. Го<sup>2</sup>, Л. Ван<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Нанькайский университет, Институт биологических наук и биотехнологии, Тяньцзинь, КНР

Клональная бактерия *Enterobacter cloacae* является распространенным возбудителем внутрибольничных заболеваний. В связи с необходимостью разработки методов молекулярной диагностики вызываемых ею инфекций нами проводится структурно-генетическое исследование O-полисахаридов (O-антигенов) *E. cloacae*. Структурный анализ осуществлялся с помощью химических и физических методов, включая ГЖХ моносахаридных производных, распад по Смитту, разработанный нами метод избирательного расщепления гликозидных связей сольволизом безводной CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H и спектроскопию ЯМР. Установлено строение O полисахаридов 13 типовых штаммов *E. cloacae*, относящихся к серогруппам O1, O2, O3, O6, O7, O11–O17 и O19. Проведена аннотация генов, входящих в генные кластеры биосинтеза O антигенов. Изученные полисахариды представляют собой линейные или разветвленные гликополимеры, некоторые из них включают редкие моносахариды и неуглеводные компоненты, такие как производные псевдааминовой кислоты (Pse5Ac7Ac) (серогруппы O1 и O14) и легионаминовой кислоты (Leg5Ac7Ac) (O19), 2 ацетамидо-2-дезоксид-Д-фукоза (D-FucNAc) (O3) и ацеталь пировиноградной кислоты (pyr) (O2). Большинство O полисахаридов имеют уникальное строение и не обнаруживают структурного и генетического родства с гликополимерами как данного вида, так и других энтеробактерий. В то же время O антигены серогрупп O1 и O14 имеют практически идентичные генные кластеры биосинтеза, а по структурам отличаются только положениями замещения остатка Pse5Ac7Ac и одного из остатков Gal в основной цепи, а также присутствием в серогруппе O1 бокового остатка Gal, за присоединение которого ответственен ген, находящийся вне генного кластера O-антигена. Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00663.

**ВЫСОКОАКТИВНЫЙ КОМПЛЕКС ФЕРМЕНТОВ ИЗ *FUSARIUM PROLIFERATUM* LE1 В ГИДРОЛИЗЕ  
ФУКООЛИГОСАХАРИДОВ И СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ**С.В. Швецова<sup>1,2</sup>, К.С. Бобров<sup>1</sup>, К.А. Шабалин<sup>1,3</sup>, Д.Р. Иванен<sup>1</sup>, Н.Е. Устюжанина<sup>4</sup>, Н.Э. Нифантьев<sup>4</sup>, С.Н. Нарыжный<sup>1,5</sup>, В.Г. Згода<sup>5</sup>, Т.Ю. Гагкаева<sup>6</sup>, Е.В. Энейская<sup>1</sup>, А.А. Кульминская<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина; <sup>2</sup>Кафедра медицинской физики, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; <sup>4</sup>Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва; <sup>5</sup>Институт биомедицинской химии, Москва; <sup>6</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Россия

Поиск и исследование малоизученных ферментов – актуальная задача современной биохимии и биотехнологии. Изучение структурных и функциональных особенностей редких/малоизвестных биокатализаторов помогает расширить базу фундаментальных знаний о них. С другой стороны, ферментативные трансформации молекул делают возможным разработку и применение новых медицинских препаратов на практике. С поверхности раствора фукоидана из бурых водорослей изолирован и идентифицирован на основе генетических и морфологических признаков мицелиальный гриб *Fusarium proliferatum* LE1, способный секретировать комплекс ферментов [1], содержащий альфа-L-фукозидазу (FrFucA) и несколько сульфатаз. Мы подобрали условия роста культуры, когда максимальный выход FrFucA в культуральной жидкости достигается при индукции L-фукозой, конечным продуктом действия фукозидазы. После нескольких стадий очистки получен чистый фермент FrFucA массой 67 кДа. Изучение биохимических свойств показало уникальность FrFucA относительно уже описанных фукозидаз, в том числе грибного происхождения. В частности, в гидролизе модельного субстрата pNPFuc фермент FrFucA проявляет высокую каталитическую активность ( $K_m=1.1\text{ mM}$ ,  $k_{cat}=39\text{ s}^{-1}$ ), а L-фукоза, 1-деоксифуконоджимидин, Трис являются конкурентными ингибиторами. Фермент высоко активен в реакции переноса  $\alpha$ -фукопиранозного мотива на акцепторы различных типов (алифатические спирты, pNP-гликозиды). FrFucA способна гидролизовать широкий спектр фукозосодержащих субстратов, отдавая предпочтение  $\alpha(1\rightarrow4)$ -фукозидной связи. На основе анализа частичной аминокислотной последовательности и механизма действия фермента, FrFucA была отнесена к 29 семейству гликозидгидролаз по классификации CAZy. Подтверждая ранее полученные данные о наличии активности внутриклеточной сульфатазы из *F. proliferatum* LE1 [1], мы детектировали и получили частично очищенный ферментный препарат с активностью по pNP-сульфату. Показано, что грубый ферментный препарат имеет также активность по pNP-фосфату. I. Shvetsova et al. J Basic Microbiol (2015) 55(4), 471-9.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант №16-38-00881 мол\_а (получение и характеристика FrFucA) и Российского научного фонда, грант №16-14-00109 (синтез субстратов, трансгликозилирование, сульфатазы).

**БИОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЕКТИНОВЫХ ГЕЛЕЙ**

С.В. Попов, Е.А. Гюнтер, О.А. Патова Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Пектиновые вещества инкрустируют стенки растительных клеток и входят в состав межклеточного пространства высших наземных растений, морских трав и ряда пресноводных водорослей. Пектины образуют гелевый матрикс, в который погружена сеть микрофибрилл целлюлозы и связывающих их гликанов. В то время как гелеобразование пектинов изучено достаточно подробно, влияние надмолекулярной организации пектинов на их взаимодействие с биологическими системами охарактеризовано слабо. В настоящей работе изучены физико-химические и функциональные свойства кальциевых ионотропных гелей, полученных из пектинов с различным типом строения углеводной цепи. Установлено, что реологические свойства пектиновых гелей, зависят от источника, способа выделения полисахарида и стехиометрического соотношения карбоксильных групп остатков галактуроновой кислоты и катионов кальция. Показано, что деградация пектиновых гелей в искусственной гастроэнтеральной среде зависит от структурных особенностей пектиновой макромолекулы. При инкубации в фосфатно-буферном растворе полное разрушение 1, 2 и 4%-ого пектинового геля наблюдается через 4, 7 и 9 дней, соответственно, что указывает на зависимость деградации от исходной прочности геля. Интенсивность деструкции пектиновых гелей существенно ниже при инкубации в питательных средах. Выявлена способность пектиновых гелей сорбировать *in vitro* эстрогены, микробильную  $\alpha$ -глюкуронидазу, эндотоксин, цитокины и щелочную фосфатазу. Обнаружено, что пектиновые гели сорбируют *in vitro* 20–40% белков сыворотки крови человека. Активация системы комплемента в присутствии пектиновых гелей не выявляется. Установлено, что поверхность пектиновых гелей имеет качества препятствующие адгезии макрофагов. Способность гелей активировать комплемент и адгезировать макрофаги возрастает с увеличением механической прочности геля, которая, в свою очередь, определяется концентрацией пектина, использованного для приготовления геля. Показано, что пектиновые гели обладают низкой цитотоксичностью в отношении фибробластов линии NIH/3T3. Разработаны биотехнологические подходы к модуляции функциональных свойств гелей путем воздействия абиотических факторов на растительные клетки.

Работа выполнена при поддержке программы УрО РАН, проект № 15-3-4-38.

**УЧАСТИЕ АРАБИНОФУРАНОЗИДАЗ В РЕАЛИЗАЦИИ РОСТА РАСТЯЖЕНИЕМ У ЗЛАКОВ**

Л.В. Козлова, А.Р. Назипова, О.Н. Макшакова, Н.Е. Мокшина, О.В. Горшков, Т.А. Горшкова

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

Способность к росту растяжением – основополагающая особенность растительных клеток. Основной «трудностью» для клетки является необходимость растянуть сложно организованную клеточную стенку, не вызвав нарушения ее целостности. Клеточные стенки способных к растяжению клеток называются первичными и состоят из нескольких слоев микрофибрилл целлюлозы, взаимодействующих с гемицеллюлозами и пектиновыми веществами. Механические свойства клеточной стенки определяют момент начала роста растяжением, скорость, с которой этот процесс происходит, и его остановку. Очевидно, что механика клеточной стенки тесно связана с ее архитектурой. Проведено множество исследований сопоставительного плана, выявивших ряд особенностей организации растительных полисахаридов, соответствующих той или иной стадии роста растяжением, как на однодольных, так и на двудольных растениях, состав клеточных стенок которых несколько различается. Ключевая модификация основной гемицеллюлозы однодольных растений – глюкуроноарабиноксилана – заключается в снижении степени его замещения арабинозой. Таким образом, в реализации роста растяжением у злаков должны быть задействованы

ферменты, отщепляющие арабинозные боковые цепи от ксиланового остова полисахарида – арабинофуранозидазы. Мы проанализировали экспрессию всех генов с аннотированным арабинофуранозидазным доменом, а также гомологов известных растительных арабинофуранозидаз в нескольких зонах корня кукурузы, клетки в которых находятся на разных этапах роста растяжением. Динамика экспрессии ряда генов коррелировала с уровнем арабинофуранозидазной активности в соответствующих зонах. Компьютерное моделирование выявило принципиальные различия в строении белков, кодируемых этими генами. Некоторые из потенциальных арабинофуранозидаз однозначно лишены ферментативной активности, хоть и способны связывать фрагменты арабиноксиланов. Предложена модель функционирования глюкуроноарабиноксиланов в клеточных стенках корня кукурузы в ходе роста растяжением, включающая его модификации, опосредованные арабинофуранозидазами.

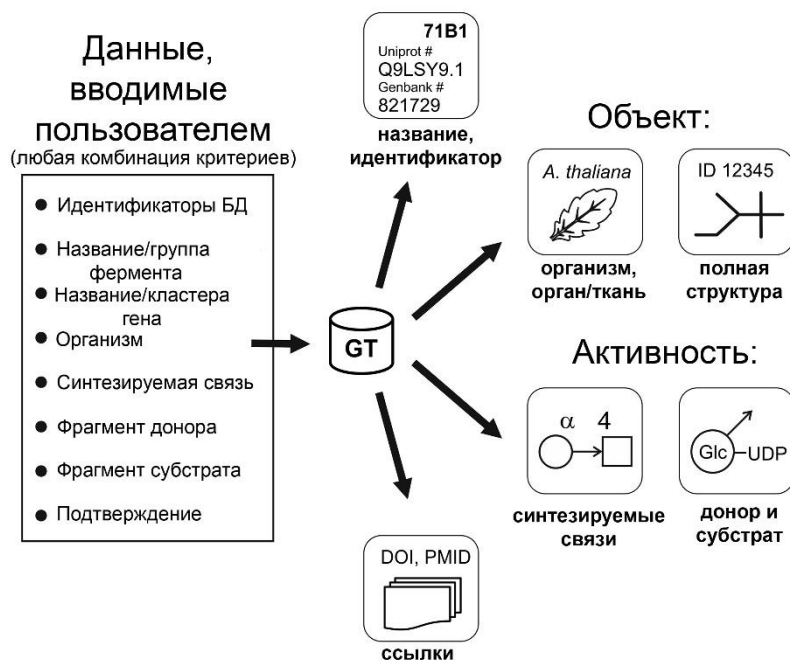
*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-01002).*

#### БАЗА ДАННЫХ ГЛИКОЗИЛТРАНСФЕРАЗ *ESCHERICHIA COLI*

А.Н. Кондакова, Ф.В. Тоукач, Ю.А. Книрель *Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия*

Полисахариды клеточной стенки грамотрицательных бактерий играют ключевую роль в патогенности бактериальных штаммов. Структура и пути биосинтеза этих полисахаридов подробно изучены и описаны в целом ряде работ, однако существующие обзоры и базы данных по этим тематикам касаются либо только структур O-специфических полисахаридов, либо только строения генных кластеров, ответственных за их биосинтез, либо информация, содержащаяся в них, является неполной.

В рамках развития базы данных структур бактериальных углеводов (Bacterial Carbohydrates Structure DataBase, <http://csdb.glycoscience.ru/bacterial/>) мы разработали базу данных гликозилтрансфераз *Escherichia coli*, объединяющую всю имеющуюся на данный момент информацию, схема которой приведена ниже.



#### ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В C-CARS МИКРОСКОПИИ

А. Айбуш, Ф. Гостев, А. Титов, В. Надточенко

*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия*

В последние годы наблюдается большой интерес к получению химически селективных изображений сложных биологических объектов. Широко используются методы, основанные на многофотонной флюоресцентой и рамановской микроскопии. Несмотря на то, что КАРС микроскопия обладает целым рядом достоинств, подобные системы довольно сложны в реализации и в большинстве случаев используют пикосекундные лазерные импульсы. Между тем, сочетание пикосекундных и фемтосекундных импульсов может дать дополнительные возможности, которые основаны на спектральных свойствах лазерных импульсов фемтосекундного диапазона. В этой работе мы изучили двухимпульсную модификацию КАРС (т. н. chirpированный КАРС, c-CARS), а также возможное применение схемы для биологических объектов. Фемтосекундный импульс накачки в нашей c-CARS схеме растягивался до 10–15 пс, в то время как стоксов фемтосекундный импульс мог сканировать частоты импульса накачки при изменении задержки между импульсами. Подобное сканирование частот позволяет реконструировать ИК спектр гораздо быстрее, чем в обычной КАРС микроскопии, что может быть использовано для трехмерных сканирующих систем где быстрое действие является важным параметром. Более того, в данной методике возможно быстро покрыть частотный диапазон от “fingerprints” до ~4000 1/см благодаря быстрой перестройке импульса накачки. Для некоторых простых образцов мы исследовали спектральное разрешение системы, а также способы разделения резонансного и нерезонансного сигналов вещества. В работе также продемонстрированы КАРС сканы некоторых биологических объектов: растительной клетки и среза эмбриона мыши. *Работа поддержана грантом РФФИ 14-14-00856.*

**ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИСПЛАТИНА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ**

А.С. Белова, А.Г. Орлова, И.В. Балалаева, Н.О. Антонова, Н.М. Мишина, Е.В. Загайнова

ФИЦ Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия

В нашем исследовании была использована линия клеток HeLa Kyoto, трансФИЦ ирированная внутриклеточным сенсором HupPer2 [1], чувствительным к изменениям в уровне пероксида водорода и нечувствительным к изменениям уровней других активных форм кислорода, и контрольная линия клеток, трансФИЦ ирированная внутриклеточным нечувствительным к изменениям пероксида водорода сенсором. Клетки обрабатывали противоопухолевым препаратом «цисплатин». Воздействие препаратом производилось в разных дозах и с различной длительностью. Для оценки уровня перекиси водорода при воздействии химиотерапии использовался метод проточной цитометрии одновременно с маркером на апоптоз PE Annexin V и витальным красителем 7-AAD. После экспозиции с препаратом отдельно рассчитывалось количество жизнеспособных клеток, клеток в стадии раннего апоптоза и клеток в позднем апоптозе/некротических клеток. Ответ флуоресцентного сенсора на цитотоксическое воздействие определяли для каждой клеточной популяции [2]. Возрастающие концентрации препарата вызывали постепенное уменьшение количества жизнеспособных клеток и, соответственно, увеличение числа клеток в стадиях раннего апоптоза, позднего апоптоза и некроза в обеих клеточных линиях HeLa Kyoto по сравнению с контролем. Были продемонстрированы дозо-временная зависимость в повышении уровня пероксида водорода раковых клеток при воздействии цисплатина. Принимая во внимание, что реакция сенсора HupPer2 наблюдалась в популяции жизнеспособных, не апоптотических клеток, обнаруженные изменения уровня пероксида водорода не являются следствием клеточной гибели.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01112 мол\_а.*

1. K.N. Markvicheva, D.S. Bilan, N.M. Mishina, A.Yu. Gorokhovatsky, L.M. Vinokurov, S. Lukyanov, V.V. Belousov, “A genetically encoded sensor for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with expanded dynamic range”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, 1079-1084 (2011).

2. A.S. Belova, A.G. Orlova, I.V. Balalaeva, N.O. Antonova, N.M. Mishina, E.V. Zagaynova. “Hydrogen peroxide detection in viable and apoptotic tumor cells under action of cisplatin and bleomycin”, *Photon Laser Med*, 1-9 (2016).

**ИЗУЧЕНИЕ *IN MESO* КРИСТАЛЛИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ**  
А.О. Богородский<sup>1</sup>, В.А. Половинкин<sup>2,3,4,5</sup>, А.В. Мишин<sup>1</sup>, Н.С. Ильинский<sup>1</sup>, В.И. Горделий<sup>2,3,4,5</sup>, В.Г. Черезов<sup>6</sup>, Г. Бюльдт<sup>1,7</sup>, Т. Генш<sup>8</sup>, В.И. Борщевский<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технологический институт, Лаборатория перспективных исследований мембранных белков, Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ICS-6: Структурная биохимия, Институт комплексных систем (ICS), Исследовательский центр г. Юлих, Германия; <sup>3</sup>Университет Гренобля Alpes, Франция, Институт структурной биологии, Гренобль, Франция; <sup>4</sup>CNRS, Институт структурной биологии, Гренобль, Франция; <sup>5</sup>CEA, Институт структурной биологии, Гренобль, Франция; <sup>6</sup>Институт Бридж, Факультет химии, физики и астрономии, Университет Южной Калифорнии, Лос Анджелес, Калифорния, США; <sup>7</sup>ICS-5: Молекулярная биофизика, Институт комплексных систем (ICS), Исследовательский центр г. Юлих, Германия; <sup>8</sup>ICS-4: Клеточная биофизика, Институт комплексных систем (ICS), Исследовательский центр г. Юлих, Германия

Появление кристаллизации *in meso* 30 лет назад начало новую эру структурных исследований мембранных белков. С тех пор этот метод связан с такими прорывами, как структурные исследования бактериальных родопсинов и связанных с G-белком рецепторов. В данной работе использовалась флуоресцентная микроскопия для изучения *in meso* кристаллизации бактериородопсина. Нативная флуоресценция бактериородопсина позволяет наблюдать за кристаллизацией немодифицированного белка, а кристаллизация в *in meso* фазе предоставляет стабильную среду для продолжительных наблюдений. Нативная флуоресценция и генерация второй гармоники (SHG) в кристаллах дает возможность получить новую информацию о процессе *in meso* кристаллизации. Кристаллизация начинается с образования микрокристаллов, за которым следует рост нескольких кристаллов за счет окружающих их микрокристаллов с образованием обедненной белком зоны вокруг растущего кристалла. Эти наблюдения указывают на механизм созревания Оствальда при *in meso* кристаллизации бактериородопсина. Образование обедненной зоны вокруг растущего кристалла согласуется с ранее предложенной аналогией между ростом кристалла в *in meso* фазе и в условиях микрогравитации при отсутствии конвекции. *Работа поддержана грантом РФФ 14-14-00995.*

**ИЗУЧЕНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЖИВЫХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ МЕТОДОМ FLIM**

Е.А. Борулева<sup>1</sup>, В.В. Жердева<sup>1</sup>, А.П. Савицкий<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Эндогенная флуоресценция в ходе своей трансформации может служить одним из показателей изменения биохимического статуса клеток, что на сегодняшний день продемонстрировано для целого ряда эндогенных флуорофоров. Поэтому изучение автофлуоресценции клеток является важной научной задачей, как для фундаментальных, так и для прикладных биологических исследований. В настоящей работе получено распределение флуоресцентного сигнала в опухолевых клетках методом FLIM при возбуждении в диапазоне возбуждения флавинов и с помощью флуоресцентной микроскопии с использованием сигнала митохондриальной локализации Mitotracker Orange. Выполнен анализ и сопоставление результатов, полученных обоими методами. Флуоресцентный сигнал детектировали на конфокальном флуоресцентном микроскопе с временным разрешением MicroTime 200 (PicoQuant GmbH, Германия). Обработку изображений производили с использованием программного обеспечения PicoHarp и SymPhoTime (PicoQuant GmbH, Германия). Для возбуждения клеток (HELA) использовали твердотельные лазеры с длинами волн возбуждения 405 нм, 473 нм, 532 нм (PicoQuant GmbH, Germany), а для детекции флуоресценции – фильтры 548/10 нм, 580 нм, 605/15 нм (Semrock, США). Спектры флуоресценции из участков кадра получали с использованием камеры Andor (PicoQuant GmbH, Германия). В ходе исследований установлены особенности распределения флуоресцентного сигнала в опухолевых клетках при возбуждении в диапазоне длин волн 405–532 нм. Доказано, что при данных условиях источником флуоресцентного сигнала являются органеллоподобные структуры в цитоплазме, которые определяются как митохондрии при специфическом окрашивании. Также, наблюдалось яркое неконтрастное свечение в месте контактирования клеток и свечение органеллоподобных структур по периферии бесконтактных клеток. Результаты работы могут найти приме-

нение при переходе от *in vitro* исследований на клетках к *in vivo* исследованиям на животных, когда изменение уровня эндогенных флуорофоров может являться показателем развития ряда патологических процессов. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-14-30019 от 8.07.2015.

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЦИТОСКЕЛЕТА**

**А.Д. Ведяйкин<sup>1</sup>, И.Е. Вишняков<sup>1,2</sup>, А.В. Сабанцев<sup>1</sup>, Н.Е. Морозова<sup>1</sup>, М.А. Ходорковский<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-исследовательский комплекс «Нанобиотехнологии», Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

<sup>2</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Характерные размеры бактерий сопоставимы с дифракционным пределом традиционной флуоресцентной микроскопии, поэтому флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения (позволяющая преодолеть этот предел) представляется очень привлекательным инструментом для изучения внутренней организации бактерий. Локализационная микроскопия (ЛМ) является мощным методом, основанном на флуоресцентной микроскопии и позволяющим получить пространственное разрешение примерно на порядок лучше дифракционного предела. ЛМ представляется гибким методом и позволяет изучать сложные структуры внутри бактериальных клеток, в том числе организацию белков, входящих в аппарат деления бактерий. Один из этих белков – прокариотический гомолог тубулина белок FtsZ – играет ключевую роль в процессе деления, формируя так называемое Z-кольцо посередине делящейся клетки [1]. С использованием ЛМ нам удалось показать, что Z-кольцо утолщается в процессе септации, что невозможно было показать традиционной флуоресцентной микроскопией [2]. Кроме того, данный метод был использован для исследования одной из наименьших бактерий – *Acholeplasma laidlawii*, размер которой (около 0,5 мкм) не позволяет разрешить внутренние структуры при помощи традиционной световой микроскопии. Метод ЛМ в сочетании с иммунофлуоресцентным окрашиванием был использован для визуализации в *A. laidlawii* IbrA (малого белка теплового шока). Используемый метод позволил нам получить изображения, характеризующие распределение IbrA по клетке в различных условиях.

1. D.P. Haessler, W. Margolin. Splitsville: structural and functional insights into the dynamic bacterial Z ring. // Nat Rev Microbiol, 2016. 14(5): p. 305-19.
2. A.D. Vedyaykin, I.E. Vishnyakov, V.S. Polinovskaya, M.A. Khodorkovskii, A.V. Sabantsev. New insights into FtsZ rearrangements during the cell division of *Escherichia coli* from single-molecule localization microscopy of fixed cells. // Microbiologyopen, 2016.

### **ЗЕЛЕННЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ С БОЛЬШИМ ВРЕМЕНЕМ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

**Д.А. Горбачев<sup>1</sup>, К.С. Саркисян<sup>1</sup>, А.С. Горяченко<sup>2</sup>, А.С. Мишин<sup>1</sup>, К.А. Лукьянов<sup>1</sup>** <sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; <sup>2</sup>ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

Получение флуоресцентных белков с высоким временем жизни флуоресценции является важной задачей для развития методов на основе времязрешенной флуоресцентной микроскопии (FLIM) и Ферстеровского резонансного переноса энергии (FRET). Время жизни флуоресценции большинства зеленых флуоресцентных белков находится в диапазоне 1.5–3 нс. Исключение составляет недавно полученный в нашем коллективе белок NowGFP с анионным хромофором на основе триптофана, характеризующийся временем жизни около 5 нс. Модельные FRET-пары на основе NowGFP обладают наибольшим Ферстеровским радиусом среди всех опубликованных FRET-пар на основе флуоресцентных белков. Однако NowGFP обладает низкой фотостабильностью из-за эффективной фотоконверсии, сопровождающейся декомпозицией боковой цепи лизина 61 и переходом хромофора в нейтральное состояние. В данном проекте в качестве основы для мутагенеза мы использовали голубой флуоресцентный белок mTurquoise2, характеризующийся очень высоким квантовым выходом флуоресценции (0,93) и высоким временем жизни флуоресценции (4 нс). Для сдвига спектров флуоресценции в зеленую область была введена замена T203Y, которая приводит к батохромному сдвигу за счет стекинга тирозина 203 с хромофором, а не за счет депротонирования последнего. Последующий случайный мутагенез позволил получить улучшенные варианты с временем жизни флуоресценции до 4,8 нс и достаточно высокой фотостабильностью, сопоставимой с таковой белка EGFP. Мы считаем, что полученные флуоресцентные белки могут быть потенциально использованы для многопараметрической FLIM микроскопии в зеленом канале детекции (совместно с другими зелеными флуоресцентными белками с меньшим временем жизни), а также в качестве FRET-доноров для оранжевых и красных флуоресцентных белков для детекции белок-белковых взаимодействий и создания FRET-сенсоров.

### **РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ПОЛИПЕПТИДНОГО ЛИНКЕРА СО СТРУКТУРОЙ БУЙКА ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ FRET-СЕНСОРОВ**

**А. Горяченко<sup>1</sup>, М. Хренова<sup>1,2</sup>, В. Жердева<sup>1</sup>, Т. Ивашина<sup>3</sup>, А. Савицкий<sup>1,2\*</sup>** <sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва; <sup>3</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пуццо, Россия

Эффективность переноса энергии во FRET-сенсорах во многом определяется расстоянием между донором и акцептором. Это расстояние можно уменьшить, если линкер, соединяющий компоненты FRET-пары, находится в схлопнутой конформации, т. е. обладает структурой, схожей с применяемыми в методе молекулярных буйков. В данной работе мы представляем FRET-сенсор TR-M4-K, состоящий из красного флуоресцентного белка TagRFP и хромопротеина KFP. Эффективность переноса энергии и динамический диапазон измерений в данном сенсоре увеличены за счет дополнительных гидрофобных взаимодействий в линкере, что приводит к образованию буйкоподобной структуры. Мы проанализировали структуру сенсора с помощью методов молекулярной динамики, а также протестировали линкеры с различным числом гидрофобных остатков. Было показано, что сенсор TR-M4-K гидролизует каспазой-3 как *in vitro*, так и в живых опухолевых клетках после индукции апоптоза. Мы также провели варьирование длины гидрофобной части линкера и показали, что оптимальный ее размер составляет 4 пары аминокислот. Наконец, нами был предложен новый метод оценки эффективности гидролиза FRET-сенсоров по изменению амплитуд экспоненциальных компонент, описывающих кинетику затухания флуоресценции, и показано, что сенсор TR-M4-K имеет динамический диапазон измерений 4,56, что превосходит результаты, представленные в литературе. Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 15-14-30019.

**ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ МЕЧЕНИЕ БЕЛКОВ В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ, ОПОСРЕДОВАННОЕ ГЕТЕРОДИМЕРИЗАЦИЕЙ ИСКУССТВЕННЫХ АЛЬФА-СПИРАЛЕЙ**

Н.Г. Гурская<sup>1</sup>, М.М. Перфилов<sup>1,2</sup>, Н.В. Клементьева<sup>2</sup>, А.С. Мишин<sup>1,2</sup>, К.А. Лукьянов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; <sup>2</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Разработка транзиентных, то есть слабо взаимодействующих с целевыми клеточными структурами, меток для локализационной и сверхразрешающей микроскопии является актуальной задачей, прежде всего, в связи с проблемой недостаточной плотности меченых целевых структур при увеличении разрешения.

В данной работе мы предлагаем новый метод меченых целевых белков в живой клетке с использованием гетеродимеризующихся искусственных спиралей (К/Е-спиралей). Метод основан на ко-экспрессии целевого белка, несущего К-спираль, и флуоресцентного белка, несущего Е-спираль; гетеродимеризация К- и Е-спиралей должна обеспечивать колокализацию флуоресцентного и целевого белков. На сегодняшний день описано несколько вариантов коротких альфа-спиралей, состоящих из гептады аминокислотных остатков (например, KIAALKE для К-спирали и EIAALEK для Е-спирали), повторенной от 3 до 5 раз. Константа диссоциации гетеродимерных комплексов таких синтетических пептидов *in vitro* варьирует в широком диапазоне в зависимости от числа повторов и состава аминокислотной последовательности. На первом этапе работы мы получили набор плазмид, кодирующих зеленый и красный флуоресцентные белки с К- или Е-спиралями различной длины (3 или 4 повтора) и вариациями аминокислотной последовательности. Взаимодействие К/Е-спиралей оценивали по колокализации флуоресцентных сигналов в парах, где один из флуоресцентных белков имел четко выраженную внутриклеточную локализацию (например, мембрана или хроматин), а другой не имел сигналов локализации. Данная серия экспериментов позволила выбрать пары К/Е-спиралей, обеспечивающих, с одной стороны, хорошо выраженную колокализацию, а, с другой – достаточно быстрый (в секундной шкале) обмен белков в гетеродимерах. Эти пары были успешно использованы для имиджинга белков цитоскелета в различных режимах – конфокальной микроскопии, TIRF микроскопии, микроскопии сверхвысокого разрешения на основе детекции одиночных молекул.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 16-14-10364).*

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗМЕНЕНИЯ СИГНАЛА ГВГ ОТ КОЛЛАГЕНА ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ**

В. Дуденкова<sup>1,2</sup>, В. Елагин<sup>2</sup>, Е. Губарькова<sup>2</sup>, К. Бабак<sup>1</sup>, Н. Гладкова<sup>2</sup>, Е. Загайнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Нижегородский университет им. Н.И. Лобачевского; <sup>2</sup>Нижегородская медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Количественные характеристики состояния коллагена являются ключевыми для многих исследовательских направлений, включая изучение различных патологических состояний тканей или их изменения в процессе лечения. Изучение состояния коллагеновых волокон крайне важно, так как этот белок является наиболее распространенным компонентом внеклеточного матрикса у млекопитающих и составляет треть от всех белков организма. Наиболее распространенный подход к оценке состояния коллагена – это применение всевозможных красителей для визуализации, однако, сложный процесс проводки препаратов затрудняет использование данных методик *in vivo*. Использование генерации второй гармоники (ГВГ) от коллагена становится все более часто используемым подходом для визуализации фибриллярной структуры коллагена в тканях *ex vivo* и *in vivo*. В своей работе мы изучали различные образцы нормальной и патологически измененной тканей. Для описания специфических изменений структуры коллагена, таких как плотности укладки, степень анизотропии, набухание или истончение волокон, наличие выделенного направления, организованности либо дезорганизованности пучков, используются различные подходы. Основные подходы для количественной оценки можно разделить на статические методы первого и второго порядков, сегментацию, Фурье преобразование и их всевозможные комбинации, как, например, индекс возрастного изменения кожи (SAAID). В своей работе для количественной характеристики атеросклеротических сосудов нормы и бляшек I, II, III, IV, Va, Vb и Vc стадий мы использовали быстрое Фурье преобразование. Мы анализировали нормальную кожу уха крысы, а так же ее изменение под действием лучевой терапии (ЛТ) в виде фракционного и однократного излучения с помощью, индекс возрастного изменения кожи (SAAID). С помощью статистических методов первого порядка мы оценивали состояние нормальной слизистой и аденокарциномы, а также их изменения при ЛТ. Реакция нормальной слизистой мочевого пузыря на воздействие ЛТ также была оценена с помощью статистических методов первого порядка. Коллаген слизистой зашечного мешка сирийского хомяка в норме, при канцерогенезе, а так же во время лечения при ЛТ было оценено с помощью статистических методов первого порядка и SAAID. Таким образом, в работе показано, что для количественной характеристики того или иного изменения состояния коллагеновых волокон в тканях необходимо использовать различные подходы или их комбинации. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№.16-32-00751 и 16-34-00995).*

**FLIM-FRET ГЕНЕТИЧЕСКИ-КОДИРУЕМОГО СЕНСОРА КАСПАЗЫ 3 В ОПУХОЛЕВЫХ КСЕНОГРАФТАХ**

В.В. Жердева<sup>1</sup>, Н.И. Казачкина<sup>1</sup>, В.И. Щеславский<sup>2</sup>, А.П. Савицкий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Becker & Nickl GmbH, Берлин, Германия

Неинвазивный мониторинг молекулярных событий *in vivo* является одной из наиболее сложных задач молекулярного флуоресцентного имиджинга. В нашем исследовании продемонстрирована возможность визуализации каспазной активности с использованием сенсора TR23K неинвазивно *in vivo* на подкожных опухолевых ксенографтах в мышах методом FLIM-FRET. Сенсор каспазы 3 TR23K представляет собой FRET-пару на основе красных флуоресцентных белков – TagRFP (донора) и KFP (акцептора), связанных линкером, содержащим специфичную для расщепления каспазой 3 последовательность DEVD [1]. Визуализацию каспазной активности проводили на ксенографтах опухолей человека, стабильно экспрессировавших сенсор каспазы 3 на мышах линии nude. FLIM ксенографтов осуществляли до и после противоопухолевой терапии на конфокальном сканере DCS-120 (Becker & Nickl GmbH, Германия). Результатом являлся сдвиг в распределении времени жизни с 1,6–1,9 нс до 2,1–2,4 нс в зависимости от типа опухоли.

Оценку эффективности FRET и анализ эффективности противоопухолевого отклика производили с использованием программного обеспечения SPCM (Becker & Nickl GmbH, Германия). Такие факторы как глубина опухолевой инвазии, уровень

экспрессии сенсора в опухоли, гетерогенность опухолевого ответа влияли на распределение времени жизни в ксенографте. Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФ 15-14-30019.

- [1] Alexander P. Savitsky, Alexander L. Rusanov, Victoria V. Zherdeva, Tatiana V. Gorodnicheva, Maria G. Khrenova and Alexander V. Nemukhin. FLIM-FRET Imaging of Caspase-3 Activity in Live Cells Using Pair of Red Fluorescent Proteins. *Theranostics*. 2012, v. 2, №2, pp.215-226. doi:10.7150/thno.3885

### **МЕТАБОЛИЗМ ОПУХОЛИ: ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ ИМИДЖИНГ С АВТОФЛЮОРОФОРАМИ И ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫМИ СЕНСОРАМИ**

**Е. Загайнова<sup>1</sup>, М. Ширманова<sup>1</sup>, И. Дружкова<sup>1</sup>, М. Лукина<sup>1</sup>, В. Дуденкова<sup>1,2</sup>, В. Щеславский<sup>4</sup>, В. Белоусов<sup>1,3</sup>, К. Лукьянов<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия; <sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород; <sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; <sup>4</sup>Becker & Hickl GmbH, Берлин, Германия

Были изучены параметры метаболизма опухолевых клеток с помощью флуоресцентного имиджинга: однофотонной и двухфотонной микроскопии, FLIM, и флуоресцентной визуализации целого организма. Были выбраны параметры, которые потенциально могут измениться в результате раковой трансформации клеток и на фоне противораковой терапии – внутриклеточный pH (pHi), водородный показатель, метаболический статус. Исследование проводилось на клеточных культурах в монослое, ко-культурах раковых клеток человека и фибробластов, опухолевых сфероидов и ксенотрансплантатах опухолей. Новые генетически кодируемые биосенсоры SupHer2 [1] и HYPER2 [2], созданные на основе флуоресцентного белка cpYFP, были использованы для изучения pHi и пероксида водорода, соответственно. Клеточный метаболизм анализировали с помощью времени жизни флуоресценции НАДН и ФАД и редокс-отношения ФАД/НАДН. Была разработана методика картирования pHi в опухолевых сфероидов и опухолях животных *in vivo*. Более кислый уровень pHi отмечен в центре опухолевого узла, что может быть следствием гликолитического метаболизма, вызванного гипоксией [3]. Было показано различие в метаболизме раковых и нормальных клеток. В условиях совместного культивирования раковых клеток человека и фибробластов, метаболизм раковых клеток переключался на гликолиз, что было похоже на процессы в реальных опухолях. Также было обнаружено незначительное закисление цитоплазмы раковых клеток, в то время как производство пероксида водорода значительно увеличивалось. Эти данные свидетельствуют о важной роли пероксида водорода в клеточных взаимодействиях и метаболической кооперации раковых клеток и фибробластов для поддержания канцерогенеза [4]. Кроме того, мы провели мониторинг ранних и отсроченных изменений метаболизма и уровня pHi в раковых клетках под влиянием химиотерапевтических препаратов с различным механизмом действия: цитотоксического агента цисплатина и цитостатика таксола. После инкубации с цисплатином на ранних этапах отмечено закисление, которое вызывается быстрым торможением Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обменник, а затем в выживших клетках наблюдался длительный стабильный период подщелачивания. В первый час после обработки Таксолом наблюдали быстрое подщелачивание цитоплазмы раковых клеток, которое, соответствовало максимуму поглощения таксола. Далее уровень pHi снижался и колебался вблизи начального значения в течение 24 часов. Изменение редокс-отношения и времени жизни флуоресценции НАД(P)H свидетельствовало о сдвиге метаболизма раковых клеток на фоне лечения в сторону окислительного фосфорилирования.

- M. Matlashov et al. // *BBA General Subjects*, 2015 1850(11): 2318-28
- K.N. Markvicheva, D.S. Bilan, N.M. Mishina, et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19 (2011) 1079–1084
- M.V. Shirmanova, I.N. Druzhkova, M.M. Lukina et al. // *BBA-General Subjects*, 2015, 1905-1911.
- Druzhkova, M. Shirmanova, M. Lukina et al. // *Cell Cycle* 2016; doi: 10.1080/15384101.2016.1160974

### **ИЗУЧЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ СЕНСОРА КАСПАЗЫ-3 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ.**

**Н.И. Казачкина<sup>1</sup>, В.В. Жердева<sup>1</sup>, Н.Н. Одинцова<sup>1</sup>, В.И. Щеславский<sup>2</sup>, Н.Т. Райхлин<sup>3</sup>, А.П. Савицкий<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Becker&Hickl Ltd, Берлин, Германия, <sup>3</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия

Каспаза-3 играет важную роль в регуляции жизнедеятельности клеток млекопитающих. Настоящая работа посвящена изучению флуоресцентных свойств сенсора каспазы 3 – TR23K *in vitro* и *in vivo* под воздействием противоопухолевых препаратов. Работа проведена с использованием клеток Her-2, экспрессирующих TR23K (Her-2/TR23K) или TagRFP (Her-2/TagRFP), которые были получены с помощью трансфекции лентивирусными конструкциями pLVTR23K или pLVTagRFP, соответственно. В качестве цитотоксических агентов применяли цис-дихлор-диаминоплатину (II) (ДДП) и этопозид. Показано, что клетки Her-2/TRK проявляли чувствительность к цитостатикам *in vitro*. ИК50 ДДП при инкубации 24 ч и 48 ч составляла 4,5 мкг/мл и 1,3 мкг/мл, соответственно, ИК50 этопозид при инкубации 24 ч и 48 ч составляла 8,9 и 2,6 мкг/мл, соответственно. Через 24 ч инкубации с цитостатиками наблюдалось разрезание сенсора TR23K и увеличение времени жизни флуоресценции клеток с 1,8 до 2,5 нс. Для экспериментов *in vivo* опухоли получали путем подкожной имплантации 5 млн клеток прививки Her-2/TR23K или Her-2/TagRFP. ДДП использовали самостоятельно в/в в дозе 7,5 мг/кг или в комбинации с этопозидом по схеме: ДДП в/в 5 мг/кг, сразу после этого – этопозид в/в 5 мг/кг. Химиотерапию (ХТ) проводили однократно на 44-ый день роста опухоли. Флуоресцентные исследования были проведены за 1 сутки до и на 1, 3 и 6 дни после ХТ. После последнего измерения опухоли подвергались гистологическому исследованию. Установлено, что под влиянием цитостатиков в опухоли наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции и времени ее жизни с 1,67±0,07 до 2,02±0,04 нс. При этом в опухолях, подвергавшихся ХТ, наблюдались очаги распада, площадь которых была больше, чем в контроле. Полученные данные позволяют предположить, что изменения флуоресцентных свойств опухолевых клеток под влиянием цитотоксических агентов обусловлены действием каспазы-3.

Работа поддержана РФФИ (грант № 14-08-01017 А).



**ОДНОВРЕМЕННЫЙ КОНТРОЛЬ NADH МЕТОДОМ FLIM И PO<sub>2</sub> МЕТОДОМ PLIM ДЛЯ ВИЗУАЛИЗИРОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ**

С. Калинина, J. Breymayer, A. Bisinger, A. Rück

University of Ulm, Core Facility Confocal and Multiphoton Microscopy, Ulm, Germany

Микроскопия визуализации времени жизни флуоресценции (fluorescence-lifetime imaging microscopy, FLIM) успешно применяется для контроля состояния коферментов в живых клетках и тканях. В этом контексте особенно интересна концепция визуализирования с высоким разрешением внутриклеточных концентраций восстановленной формы никотинамидаденин динуклеотида (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH). Время жизни флуоресценции этого кофермента зависит от его состояния, соотношение же концентраций свободной и связанной с протеином форм позволяет судить о метаболическом статусе клеток. С другой стороны метаболические реакции сильно зависят от уровня внутриклеточного кислорода. Поэтому при изучении многих нарушений на уровне клетки желателен мониторинг кислорода одновременно с контролем других параметров. Многообещающий оптический метод детекции кислорода в биологических образцах – микроскопия времени жизни фосфоресценции (phosphorescence lifetime imaging microscopy, PLIM), когда эффект кислородо-зависимого тушения фосфоресценции некоторых соединений используется для измерения парциального давления кислорода (pO<sub>2</sub>). Мы представляем результаты одновременного контроля внутриклеточного NADH методом FLIM и pO<sub>2</sub> методом PLIM, с использованием, например, трис-(2,2'-бипиридил)дихлорида рутениума (ruthenium tris-(2,2'-bipyridyl) dichloride, Ru(BPY)<sub>3</sub>) в качестве кислородного сенсора. Установка комбинирует двухфотонную микроскопию и метод мультимерного коррелированного счета одиночных фотонов (time-correlated single-photon-counting, TCSPC). Двухканальная FLIM/PLIM система позволяет визуализировать одновременно pO<sub>2</sub> и другие метаболические параметры в живых клетках.

**ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ АКТИНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ И ТКАНЯХ**

Н.В. Клементьева<sup>1</sup>, О.Е. Фурман<sup>1,2</sup>, Е.В. Загайнова<sup>1</sup>, К.А. Лукьянов<sup>1,3</sup>, А.С. Мишин<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия; <sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород; <sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Актин, один из самых распространенных и высококонсервативных белков, участвует во многих клеточных процессах в норме и при патологии. Адгезия, миграция и инвазия клеток, сопряженные с перестройками актина, играют важную роль в онкогенезе. Актин может служить показателем метастатического потенциала раковых клеток и их чувствительности к терапии. Однако, вопрос о тонкой структуре микрофиламентов и их организации в опухолевой ткани остается открытым. Технологии высокоразрешающей флуоресцентной микроскопии, преодолевающие дифракционный предел, позволяют более полно понять устройство актиновой сети. В данной работе мы предложили простой способ визуализации эндогенного актина в опухолевых клетках и тканях посредством высокоразрешающего имиджинга с применением нового красителя SiR-actin. Были подобраны условия, необходимые для мигания флуорофора, и с помощью локализационной микроскопии одиночных молекул оценены перестройки актинового цитоскелета в раковых клетках в ответ на действие химиопрепаратов. Так, после инкубации клеток с таксомом было выявлено выраженное увеличение размеров фокальных контактов, их сближение, а также укорочение стресс-фибрилл. В случае с цитохалазином D в клетках детектировались короткие фибриллы наряду с точечными структурами размером меньше дифракционного предела. Для анализа опухолевой ткани были созданы мышинные модели карциномы толстой кишки и легкого. Мы показали, что структура актина в ткани значительно отличается от таковой *in vitro*. В тканях опухолей наблюдалась разнонаправленная актиновая сеть, построенная из изогнутых стресс-фибрилл-подобных волокон. Любопытно, что сходства между актином в опухолях и в нормальных тканях близкого происхождения обнаружено не было. Таким образом, был разработан протокол визуализации актина, эффективный для проведения локализационной микроскопии одиночных молекул на основе красителя SiR-actin. Это позволило отслеживать перестройки актина в клетках в ходе химиотерапии. Также мы впервые показали, что для опухолевой ткани характерна сложная сеть цитоскелета, состоящая из толстых изогнутых пучков актина. Предложенный нами метод потенциально может быть применен для оценки тонкой структуры актина в клинических образцах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-25-00129).

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ПЕРТУРБАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИМПУЛЬСНОЙ ДИФфуЗИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ТОМОГРАФИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ТРАНСМИССИОННОЙ ПЛОСКОПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ГЕОМЕТРИИ**

А.Б. Коновалов<sup>1</sup>, В.В. Власов<sup>1</sup>, А.С. Углов<sup>1</sup>, В.В. Любимов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский федеральный ядерный центр – ВНИИ технической физики им. Е.И. Забабахина, Снежинск, Челябинская обл.; <sup>2</sup>Институт лазерной физики научно-производственной корпорации – Государственный оптический институт им. С.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

В докладе представлена пертурбационная модель для импульсной диффузионной оптической томографии в трансмиссионной геометрии плоского слоя. В качестве измерительных данных используются т.н. времяразрешенные оптические проекции (Konovalov A.B. et al. Proc. SPIE 80880T, 2011). Они определяются для отдельных отсчетов временной функции рассеяния точки и представляют собой относительные возмущения потоков фотонов, вызванные присутствием оптических неоднородностей. Посредством минимизации времени регистрации сигнала открывается возможность предельно сузить банановидные распределения траекторий фотонов и минимизировать пространственное разрешение. Для вывода аналитических выражений весовых функций, отвечающих за визуализацию, мы применяем диффузионное приближение уравнения переноса и теорию малых возмущений Борна. Сначала, используя функцию Грина нестационарного уравнения диффузии, мы выводим аналитические соотношения для случая рассеивающего полупространства, затем применяем оригинальный метод эквивалентного инверсного источника, чтобы получить формулы для трансмиссионной плоскопараллельной геометрии (Коновалов А.Б., Власов В.В. Квантовая электроника 44, 719, 2014). Эффективность модели подтверждается численным экспериментом, где прямоугольные рассеивающие фантомы с оптическими неоднородностями реконструируются с помощью модифицированного алгебраического алгоритма реконструкции (Коновалов А.Б. и соавт. Квантовая электроника 38, 588, 2008). Неоднородности об-

разуют периодические пространственные структуры для оценки пространственного разрешения метода. Исследована зависимость предела разрешения от толщины фантома. Показано, что поперечное разрешение составляет около 2,5 мм внутри 8-сантиметрового фантома и близко к значению 1,0 мм, если толщина фантома равна 2 см. Продольное разрешение принимает значения 3,5 и 1,5 мм соответственно. По мнению авторов, аналогичная модель реконструкции может быть построена также для времязрешенной флуоресцентной молекулярной томографии. В этом случае аналогом времязрешенной оптической проекции может служить отношение потока флуоресценции к потоку возбуждающего излучения, измеренных для отдельных отсчетов диффузионных временных откликов.

### **НОВЫЙ ЛИПОФИЛЬНЫЙ ФОСФОРЕСЦЕНТНЫЙ ЛЮМИНОФОР ДЛЯ ДВУХФОТОННОГО БИОИМИДЖИНГА**

**Е.И. Кошель<sup>1</sup>, А.В. Радаев<sup>1</sup>, П.С. Челушкин<sup>2</sup>, В.И. Щеславский<sup>3</sup>, О.О. Чернявский<sup>4</sup>, А.С. Мельников<sup>1</sup>, А.Ф. Саифитдинова<sup>1</sup>, Е.Р. Гагинская<sup>1</sup>, С.П. Туник<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет; <sup>2</sup>Институт высокомолекулярных соединений, РАН, Санкт-Петербург, Россия, <sup>3</sup>Becker & Hickl GmbH, Берлин, Германия, <sup>4</sup>Институт физиологии, Чешская академия наук, Прага, Чешская Республика

Металл-органические фосфоресцентные люминофоры активно используются в биоимиджинге, в том числе, в двухфотонной микроскопии. Нами был изучен новый фосфоресцентный гомолептический алкильный кластер золота (I) (AuC<sub>2</sub>R)<sub>10</sub> (R – 2,6-dimethyl-4-heptanol) (Koshevoy et al., 2012), который показал специфичность к нейтральным липидам в различных тканях и клетках человека и животных. У люминофора обнаружены высокий квантовый выход (0,66) и типичное для кластеров золота время затухания фосфоресценции в дихлорметане (0,91 мкс). Установлено, что тип возбуждения (одно- или двухфотонное на длинах волн 405 нм и 710 нм, соответственно) не влияет на временные и спектральные характеристики фосфоресценции с максимумом излучения на 570 нм. Для микроскопического анализа *ex vivo* были использованы криосрезы фиксированных тканей животных (мышь, курица, голубь) и фиксированные клетки линии HepG2, насыщенные эмульсией нейтральных липидов (Lipiodol Ultra Fluid). Объекты были окрашены раствором люминофора (в изопропанол) в фосфатном буфере в соотношении 1:1 с рабочей концентрацией метки 1 мг/мл. Конфокальный микроскопический анализ всех исследованных объектов показал селективное окрашивание жировых вакуолей. Для подтверждения специфичности окрашивания мы провели анализ колокализации исследованной метки с Oil Red O и Nile Red, который показал высокие коэф.ФИЦ иненты Пирсона (>0,77) и перекрытия (>0,84) во всех образцах. Для фосфоресцентного молекулярного имиджинга с временным разрешением (PLIM) был использован микроскоп Leica TCS SP8 MP (Leica Microsystems, Germany), оснащенный титан-сапфировым лазером (Chameleon Ultra I, Coherent Inc., USA) и блоком электроники для временно-коррелированного счета фотонов Simple-Tau 150 TCSPC (Becker&Hickl GmbH, Berlin, Germany). Время затухания фосфоресценции исследованной метки составило 0,8–1,2 мкс. Мы считаем, что комбинация высокого квантового выхода и специфичность к нейтральным липидам исследованного комплекса дают возможность его эффективного использования для одно- и двухфотонного биоимиджинга. *Исследование реализовано при поддержке грантов СПбГУ № 1.37.153.2014 и № 1.50.1043.2014, IPHYS BioImaging facility, IPHYS CAS nru под поддержке MEYS (LM2015062 Czech-BioImaging), проекта OPVK BrainView CZ.2.16/3.1.00/21544 и центра СПбГУ «Хромас».*

### **ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА СВОЙСТВ СЕНСОРОВ КАСПАЗЫ-3 TR-M5-K И TR-M6-K**

**Н.К. Марынич<sup>1</sup>, А.С. Горященко<sup>2</sup>, А.П. Савицкий<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

Биосенсоры на каспазу-3 (эффекторную протеазу, ответственную за гидролиз клеточных белков при апоптозе) позволяют оценить эффективность действия противоопухолевых препаратов, направленных на активацию каспаза-зависимого апоптоза. В нашей лаборатории разработан сенсор TR-M4-K, состоящий из белков TagRFP и KFP, соединенных аминокислотным линкером, содержащим сайт распознавания каспазы-3 DEVD. Линкер имеет жесткую структуру, обогащенную гидрофобными аминокислотами. Было показано, что данный сенсор эффективно гидролизует каспазой-3 *in vitro* и в живых опухолевых клетках, после чего с целью оптимизации длины линкера получены сенсоры TR-M5-K и TR-M6-K, отличающиеся добавлением в линкер одной и двух пар гидрофобных аминокислот соответственно. Очистка сенсоров проводилась путем фракционного осаждения с последующей ионообменной хроматографией. Степень чистоты и созревания определяли методом электрофореза в денатурирующих условиях. Оligомерное состояние сенсоров определяли методами динамического светорассеяния и гель-фильтрации. Было показано, что как Tr-M5-K, так и TR-M6-K находятся в растворе в форме высокомолекулярных агрегатов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант № 15-14-30019.*

### **ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ ESP1396I В E. COLI НА УРОВНЕ ОДИНОЧНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ**

**Н.Е. Морозова<sup>1</sup>, А.В. Сабанцев<sup>1</sup>, Е.С. Богданова<sup>2</sup>, Я.В. Фёдорова<sup>1,3</sup>, А.С. Майкова<sup>1,3</sup>, А.А. Ширяева<sup>1,3</sup>, А.Д. Ведякин<sup>1</sup>, А. Родик<sup>4</sup>, М. Джорджевич<sup>4</sup>, М.А. Ходорковский<sup>1</sup>, К.В. Северинов<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Вакманский институт микробиологии, Ратгерс США, Университет Нью-Джерси, США; <sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологии, Сколково, Россия; <sup>4</sup>Факультет биологии, Университет Белграда, Белград, Сербия

Системы рестрикции–модификации (РМ) широко используются бактериями для защиты от чужеродной ДНК, которая обусловлена действиями эндонуклеазы рестрикции (ЭР) и метилтрансферазы (МТ). Присутствие в клетках системы РМ снижает эффективность вирусной инфекции в среднем на три порядка. Гены системы РМ находятся в клетках на плаزمиде и часто подвергаются горизонтальному переносу. Для изучения работы системы РМ на уровне одиночных клеток, была сконструирована плаزمиды, несущая систему РМ Esp1396I, регулирующую С белком и содержащую флуоресцентные белки-слияния ЭР: mCherry и МТ:Venus. Было показано, что такая система РМ функциональна, а оба белка-слияния стабильны в клетках *E. coli*. Флуоресцентное мечение белков системы РМ позволяет нам измерять концентрации, а также наблюдать их разброс в одиночных бактериальных клетках. Нам удалось провести наблюдение за динамикой появления и накопления белков системы РМ после трансформации плазмиды со сконструированной нами флуоресцентно-меченной системой РМ в незащищенные бактериальные клетки. Впервые напрямую была показана значительная задержка между появлением МТ и ЭР в клетках, а также

различие в динамике их накопления. Методика, разработанная для данных экспериментов, позволяет изучать динамику уровня белков в одиночных бактериальных клетках, а также может быть использована для изучения влияния количества белков системы РМ на вероятность заражения клеток бактериофагом. *Работа поддержана Министерством образования и науки РФ, проект 14.B25.31.0004 [to K.S.]*.

#### ОСОБЕННОСТИ РЕГИСТРАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В БИОТКАНЯХ

М.П. Самцов<sup>1</sup>, С.Д. Тарасов<sup>1</sup>, В.В. Жердева<sup>2</sup>, И.Г. Меерович<sup>2</sup>, Л.С. Ляшенко<sup>1</sup>, Е.С. Воропай<sup>1</sup>, А.П. Савицкий<sup>2</sup>

*Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Савченко, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; <sup>2</sup>ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

Дальнейшее развитие персонифицированной терапии онкологических заболеваний направлено на создание мультифункциональных препаратов, которые избирательно накапливаются в опухолях, обладают цитотоксическими свойствами и обеспечивают возможность диагностики локализации злокачественных новообразований. Для решения задачи оптической диагностики могут использоваться флуоресцирующие соединения, обладающие заметно отличающимися свойствами в опухолевых тканях по сравнению с нормальными. Перспективными для такого рода исследований представляются полиметиновые красители (ПК), которые имеют полосы поглощения и флуоресценции в спектральной области прозрачности биологических тканей. В этой области наиболее низкий уровень поглощения света тканями при максимальной глубине проникновения излучения. В первую очередь необходимо выяснить, насколько ощутимо различаются спектрально – люминесцентные свойства этих люминофоров в опухолевых и нормальных тканях. Настоящая работа посвящена выяснению такого рода задач в отношении нового индотрикарбоцианинового красителя.

Оценка возможности визуализации экспериментальных опухолей исследована на мышах линии Nu/Nu с помощью диффузного флуоресцентного томографа FMT 4000 (Perkin Elmer, США) при длине волны возбуждения 680 нм и регистрации на длине волны 770–800 нм. Полученные результаты FMT-исследований сопоставлены данными, полученными путем спектрометрии изолированных органов и тканей с помощью спектрометра с волоконным вводом. Установлено, что для уменьшения влияния собственного свечения биотканей при регистрации флуоресценции в спектральном диапазоне 710–900 нм *in vivo* следует использовать для возбуждения излучение лазерных источников с длиной волны более 676 нм. Показано, что для обеспечения пропорциональности сигнала флуоресценции фотосенсибилизатора его концентрации *in vivo* необходимо контролировать глубину проникновения света и форму спектров флуоресценции при введении нескольких концентраций фотосенсибилизатора. Полученные результаты демонстрируют возможности метода ДФТ для корректной регистрации фармакокинетики накопления и вывода фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового *in vivo*.

#### АНАЛИЗ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH И МЕТАБОЛИЗМА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ АПОПТОЗЕ НА ОСНОВЕ FLIM-FRET ИМИДЖИНГА

Т.Ф. Сергеева<sup>1</sup>, О.А. Злобовская<sup>2</sup>, М.В. Ширманова<sup>1</sup>, В.В. Дуденкова<sup>1,3</sup>, А.И. Гаврина<sup>1,3</sup>, Г.С. Перельман<sup>1,3</sup>, К.А. Лукьянов<sup>1,2</sup>,

Е.В. Загайнова<sup>1</sup> *<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия, <sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия, <sup>3</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Апоптоз – физиологический процесс, принимающий участие в формировании тканей и поддержании гомеостаза. Каспаза-3 играет ключевую роль в двух основных путях индукции апоптоза. Опухолевые клетки способны уходить от апоптоза с помощью различных молекулярных механизмов, включая изменение внутриклеточного pH и энергетического метаболизма. Целью данного исследования явилось изучение метаболизма, внутриклеточного pH и активации каспазы-3 в опухолевых клетках в процессе индукции апоптоза. Были проанализированы особенности энергетического метаболизма опухолевых клеток при апоптозе по изменению интенсивности флуоресценции и времени жизни флуоресценции метаболических ко-факторов НАД(Ф)Н и ФАД. Оценка внутриклеточного pH и активности каспазы-3 была выполнена с помощью генетически кодируемых сенсоров SypHer1 и mKate2-DEVD-iRFP соответственно. В экспериментах были использованы клеточные линии СТ26 (мышьячная карцинома толстой кишки), стабильно экспрессирующие сенсоры. Апоптоз опухолевых клеток индуцировали добавлением стауроспорина. В опухолевых клетках СТ26, стабильно экспрессирующих SypHer1 и mKate2-DEVD-iRFP, было установлено изменение внутриклеточного pH при апоптозе после добавления стауроспорина. При этом было показано, что снижение внутриклеточного pH предшествует активации каспазы-3. Добавление стауроспорина к клеткам СТ26, экспрессирующим сенсор mKate2-DEVD-iRFP, приводило к увеличению времени жизни флуоресценции mKate2, что указывает на активацию каспазы-3. Кроме того, наблюдался рост времени жизни флуоресценции связанной формы НАД(Ф)Н, что свидетельствует об изменении энергетического метаболизма опухолевых клеток и активации процесса окислительного фосфорилирования при запуске апоптоза. Таким образом, было показано, что апоптоз представляет собой сложный энергетически-зависимый процесс. При индукции апоптоза происходит изменение внутриклеточного pH и энергетического метаболизма. Понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в процессы активации апоптоза в опухолевых клетках, позволит усовершенствовать методы лечения злокачественных новообразований. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00129).*

#### СИСТЕМА БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО РЕЗОНАНСНОГО ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ НА ОСНОВЕ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ L. MINGRELI CA И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В ГОМОГЕННОЙ ИММУНОАНАЛИЗЕ

Д.В. Смирнова, Н.Н. Угарова

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия*

Биоаналитические системы на основе биолюминесцентного резонансного переноса энергии (BRET) находят широкое применение в таких фундаментальных биохимических исследованиях как скрининг и анализ биологически активных веществ. На данный момент в качестве донора для BRET наиболее распространено использование люциферазы Renilla. Однако низкий квантовый выход биолюминесцентной реакции и излучение в коротковолновой области спектра ( $\lambda_{\max}=480-535$  nm) затруд-

няют ее использование для имиджинга в тканях млекопитающих в условиях *in vivo*. Особенности биолюминесцентной системы люциферазы светляков позволяют преодолеть эти ограничения, что открывает большие перспективы для их применения в BRET-системах. Различные варианты BRET-систем на основе люциферазы светляков используют в гомогенном иммуноанализе и для чувствительного определения протеаз. Сконструирована система для наблюдения эффективного BRET. В качестве доноров протестированы различные термостабильные мутанты люциферазы светляков *Luciola mingrelica*, в качестве акцептора использован водорастворимый краситель Alexa Fluor 610x (AF). Выбрана пара донор-акцептор с оптимальными характеристиками. Разработаны методы получения конъюгатов люцифераза-прогестерон (Luc-Pg) и конъюгатов красителя с поликлинальными антителами к прогестерону (AF-Ab). Полученные конъюгаты сохраняют свои специфические свойства – способность образовывать высокоаффинный комплекс антиген-антитело, а также позволяют наблюдать эффективный BRET. На основе сконструированной BRET-системы разработан метод гомогенного иммуноанализа низкомолекулярного модельного антигена прогестерона. Оптимизация условий проведения анализа, состава реакционной смеси и концентраций донора и акцептора позволили достичь минимально определяемой концентрации прогестерона 0,5 нг/мл.

#### НОВЫЙ БЫСТРОФОТОКОНВЕРТИРУЕМЫЙ БЕЛОК SAASOTI

И.Д. Соловьев<sup>1,2</sup>, Л.М. Винокуров<sup>3</sup>, Т.В. Ивашина<sup>4</sup>, А.П. Савицкий<sup>1</sup> <sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н.Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия, <sup>3</sup>Филиал института биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пушкино Московской обл., Россия, <sup>4</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина, Пушкино Московской обл., Россия

Фотоконвертируемые белки (ФКБ) используются в локализационной субдифракционной микроскопии. С целью уменьшить дозу светового облучения токсичного для клеток при проведении эксперимента предпочтительно использовать ФКБ с наибольшими скоростям фотопереключения. ФКБ SAASoti, выделенный из коралла *Stylocoeniella armata*, существует в форме тетрамера и склонен к агрегации. Мутантная форма K145E существует только в форме тетрамера. В фотоконверсии ФКБ участвует протонированная форма хромофора, которая имеет полосу поглощения на 400 нм, т. е. скорость фотоконверсии зависит от рК1. Фотопревращение проводили под воздействием светодиода 395 нм и плотности мощности 20 мВ/см<sup>2</sup>. Константы скорости фотопревращения нормировались по отношению поглощения протонированной 400 нм и депротонированной 509 нм (рН-профиль скорости конверсии и поглощения 400 нм совпадают). Этот процесс можно рассматривать как мономолекулярную последовательную реакцию k1 – фотоконверсия и k2 – фотовыцветание. Определили значения констант для фотоконверсии дикого типа SAASoti (pK1=6.5, k1=0.7 с-1 pK2=5.3 k2=0,1 с-1) и SAASoti\_K145E (pK1=6.5 k1=0.7 с-1 pK2=6.3 k2=0,1 с-1) Чтобы оценить свойства SAASoti для сравнения был выбран широко используемый белок dendra2, для которого (pK1=7.0 k1=0.03с-1), выцветание для dendra2 практически не наблюдается в данных условиях. Как можно заключить из значения констант скорость фотопревращения SAASoti значительно больше dendra2, таким образом, этот белок является перспективным для использования в субдифракционных методах. Работа выполнялась при поддержке Российского научного фонда (проект 15-14-30019).

#### ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЙ ФОРМИРОВАНИЯ ФИБРИЛЛ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Т. Тихонова<sup>1</sup>, Е. Ширшин<sup>2</sup>, Н. Ровнягина<sup>2</sup>, А. Орехов<sup>3</sup>, В. Фадеев<sup>2</sup> <sup>1</sup>Международный учебно-научный лазерный центр МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>3</sup>НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Нарушение формирования структуры белков и их последующая агрегация – это широко исследуемое явление, т. к. оно сопутствует различным тяжелым нейродегенеративным заболеваниям. Эти болезни ассоциируются с формированием и накоплением в мозгу компактных бляшек – амилоидных фибрилл, вторичная структура которых обогащена бета-листами. Фибриллы имеют схожие структурные характеристики, несмотря на то, что они могут быть образованы из абсолютно разных белков. Существует несколько стадий, которые проходит белок при его переходе из нативного состояния в фибриллярное: нативный белок, частично-развернутый интермедиат, формирование протофиламентов, протофибрилл и, наконец, фибрилл. Однако кинетические аспекты этих переходов слабо изучены, что стимулирует развитие методов для мониторинга различных стадий агрегации белков. В данной работе на примере инсулина и лизоцима исследованы трансформации, которые сопутствуют фибрилляции белков, как на основе собственной флуоресценции белков, так и с помощью флуоресцентных маркеров. Для оценки разных стадий формирования фибрилл использовалась стационарная и время-разрешенная флуоресцентная спектроскопия с использованием зонда тиофлавина Т, в частности, для изучения протофибриллярной стадии исследовалось изменение интенсивности и времени жизни флуоресценции данного маркера в системе белок-тиофлавин Т. Также использовалась собственная флуоресценция тирозина (главного хромофора в инсулине) и пи-стекинг структур для мониторинга начальных трансформаций, которые происходят в белках при фибрилляции. Пи-стекинг – это взаимодействие между ароматическими кольцами в белках, которое приводит к появлению новой флуоресцентной полосы ( $\lambda_{возб}/\lambda_{излуч} = 350/430$  нм). Для детектирования морфологических отличий в протофибриллах и фибриллах использовалась крио-электронная микроскопия. Данное исследование было поддержано грантами РФФИ (проект 16-32-60168), а также РНФ (проект 14-15-0060).

#### ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ОПУХОЛЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ СЕНСОРОВ

И.В. Турчин<sup>1</sup>, М.С. Клешнин<sup>1</sup>, А.Г. Орлова<sup>1</sup>, В.И. Плеханов<sup>1</sup>, М.В. Ширманова<sup>2</sup>, Е.В. Загайнова<sup>2</sup> <sup>1</sup>ФИЦ Институт прикладной физики РАН; <sup>2</sup>НИИ биомедицинских технологий, Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Стабильная трансфекция опухолевых клеток геном флуоресцентного белка (ФБ) открывает широкие возможности для специфического генетического маркирования опухолей. Опухолевые клетки стабильно экспрессируют ФБ в отдельных клеточных компартаментах на протяжении всей своей жизни, и эта способность передается от одного поколения клеток другому. Поэтому данный метод генетической маркировки открывает новые возможности для решения различных задач – от фундаментальных исследований процесса канцерогенеза до оценки противоопухолевого действия лекарственных средств в реаль-

холей, меченных ФБ, в мелких лабораторных животных. Однако процедура восстановления пространственного распределения флуорофоров в ДФТ требует, в частности, высокого отношения сигнал-шум из-за некорректности обратной задачи ДФТ. Таким образом, метод ДФТ является малоэффективным для визуализации опухолей небольшого размера или при использовании ФБ с низкой яркостью. В этих случаях размер и положение опухоли в организме животного могут быть оценены из двумерных флуоресцентных изображений, полученных с помощью эпилюминесцентной или просветной (проекционной) визуализации. Нами была разработана экспериментальная установка для флуоресцентной визуализации лабораторных животных, сочетающая в себе данные методы получения изображений. Для реализации эпилюминесцентного метода используется равномерное освещение экспериментального животного, в сочетании с ПЗС-камерой. Для получения проекционных изображений используется механическое растровое сканирование «на просвет» источником лазерного излучения, модулированного по интенсивности на низкой частоте, и охлаждаемого фотоэлектронного умножителя, обеспечивающего высокую чувствительность регистрации флуоресценции. Результаты экспериментов по мониторингу роста ортотопической опухоли, экспрессирующей флуоресцентный белок KillerRed, привитой лабораторным мышам, показали высокую эффективность проекционного метода по сравнению с традиционным эпилюминесцентным методом.

### **ЛЮЦИФЕРАЗА СВЕТЛЯКОВ КАК БЕЛКОВЫЙ ЗОНД ДЛЯ ИМИДЖИНГА И МОНИТОРИНГА В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ**

**Н.Н.Угарова<sup>1</sup>, М.И.Кокшаров<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Кафедра химической энзимологии, Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Факультет молекулярной биологии, Университет Женевы, Швейцария

Оптические репортеры широко используются в клеточной биологии для неинвазивного мониторинга процессов в живых клетках и интактных животных. Биолюминесцентные репортеры обладают более слабым свечением по сравнению с флуоресцентными, однако их преимущество состоит в том, что они не требуют внешнего источника света и имеют очень низкий фоновый сигнал. Люциферазы как репортеры применяются по двум направлениям: 1) для мониторинга изменений экспрессии генов и белок-белковых взаимодействий во времени; 2) для имиджинга в интактных животных с помощью конкретных типов клеток со стабильной высокой экспрессией люциферазы, чтобы следить за ростом опухолей или распространением патогенов. Можно проводить мониторинг общей интенсивности свечения объекта с помощью фотоумножителя либо проводить 2D-имиджинг с помощью высокочувствительной камеры. Особое преимущество люциферин-люциферазной системы светляков – возможность длительного и непрерывного (до нескольких недель) мониторинга процессов на уровне культуры клеток, либо на уровне целого организма при высоком разрешении (вплоть до отдельных клеток).

Мы получили новые мутанты люциферазы светляков *Photinus pyralis*, превосходящие широко используемые люциферазы *Luc1* и *Luc2* по величине сигнала в живых клетках млекопитающих. Некоторые мутанты обеспечивают более быстрый отклик на изменения в транскрипции (превосходя эффективность тага деградации CL1-PEST по уменьшению полупериода жизни люциферазы в клетке), причем более короткий полупериод их жизни обусловлен ингибированием активности люциферазы в ходе наблюдения, но не деградацией самого фермента. По-видимому, их более быстрая реактивность менее зависима от состояния протеасомальной системы. Люциферазы жуков различных видов сильно различаются по полупериодам жизни белка и м-РНК (которые определяются последовательностями их белков и ДНК). Например, мутант *LmGTS* люциферазы *Luciola mingrelica* демонстрирует более быстрый ответ как индуцируемый репортер по сравнению с коротко живущими вариантами люциферазы *P. pyralis*. Это обусловлено значительно более коротким временем жизни его мРНК и относительно коротким временем жизни белка. Описанные результаты позволяют разрабатывать улучшенные репортеры на основе люцифераз жуков для биолюминесцентного имиджинга и мониторинга в живых системах.

### **ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИЕ НЕЙРОИНТЕРФЕЙСЫ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ МОЗГА**

**И.В. Федотов<sup>1,2,3</sup>, М.С. Почечуев<sup>1</sup>, О.И. Ивашкина<sup>1,3</sup>, М.А. Рощина<sup>1,3</sup>, А.Б. Федотов<sup>1,2,3</sup>, К.В. Анохин, А.М. Желтиков<sup>1,2,3,4</sup>**

<sup>1</sup>НИЦ Курчатовский институт, <sup>2</sup>Физический факультет, Международный учебно-научный лазерный центр, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, <sup>3</sup>Российский квантовый центр, Сколково, Московская область, Россия, <sup>4</sup>Факультет физики и астрономии, Техасский университет Остин, США

Интеграция передовых волоконно-оптических методов регистрации и оптогенетических технологий [1] ведет к революционным изменениям в нейронауках, позволяя подойти к решению фундаментальных вопросов в науках о мозге и обеспечивая уникальными инструментами для изучения вопросов о том, как регистрируемые с высоким пространственным разрешением и клеточной специфичностью сложные пространственно-временные паттерны нейронной активности соотносятся высшими функциями мозга. Было показано, что пучки оптических волокон позволяют проводить визуализацию нейронов головного мозга живых животных [2], *in vivo* визуализацию многоцветной флуоресценции [3] и комбинационного рассеяния [4]. В широко распространенном способе волоконного зондирования [5] оптическое волокно вживляется в мозг живого животного через направляющую канюлю, непосредственно перед экспериментом.

В нашей работе, на основе проведенных экспериментов, было показано, что реализованные в размыкаемом формате пучки оптических волокон, состоящие из нескольких тысяч сердцевин, позволяют передавать высококачественное изображение, предлагая тем самым новую платформу для создания имплантируемых эндоскопов для минимально инвазивной *in vivo* визуализации головного мозга. Концепция демонстрируемого в данной работе размыкаемого эндоскопа развивает идею вживляемого волоконного нейроинтерфейса из одиночного оптического волокна [6] до технологии визуализации через пучок волокон. Представленные в работе эксперименты на различных линиях трансгенных мышей демонстрируют возможности разработанного эндоскопа как мощного инструмента для хронической *in vivo* нейровизуализации с субклеточным пространственным разрешением генетически кодируемых кальциевых индикаторов, маркеров нейронной активности и специфических белков в глубоких слоях мозга.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы” (соглашение о предоставлении субсидии 14.607.21.0092 от 21 ноября 2014, уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI60714X0092//

1. E.S. Boyden, et al. *Nature Neuroscience* 8, 1263–1268 (2005).

2. P. Vincent et al. *EMBO Rep.* 7, 1154–1161 (2006).

3. L.V. Doronina-Amitonova, et al. *Appl. Phys. Lett.* 101, 233702 (2012).

4. L.V. Doronina-Amitonova, et al. *Appl. Phys. Lett.* 101, 113701 (2012).

5. A.M. Aravanis, L.-P. et al. *J. Neural Eng.* 4, S143–S156 (2007).

6. L.V. Doronina-Amitonova, et al. *Sci. Rep.* 3, 3265 (2013).

**ИЗУЧЕНИЕ ОЛИГОМЕРНОГО СОСТОЯНИЯ FRET-СЕНСОРОВ КАСПАЗЫ-3 TR-M5-K И TR-M6-K**

Л.А. Шапошников<sup>1</sup>, А.С. Горященко<sup>2</sup>, А.П. Савицкий<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

В нашей лаборатории был создан сенсор каспазы-3 TR-M4-K на основе флуоресцентных белков TagRFP и KFP и гибкого полипептидного линкера со структурой «буйка». Было продемонстрировано, что данный сенсор успешно гидролизует каспазой-3 *in vitro* и в живых опухолевых клетках. Для оптимизации структуры линкера было проведено варьирование длины его гидрофобной части и получены сенсоры TR-M5-K и TR-M6-K, отличающиеся от TR-M4-K добавлением одной или двух пар гидрофобных аминокислотных остатков соответственно. Изучение свойств этих сенсоров показало, что в отличие от TR-M4-K, имеющего структуру тетрамера, эти сенсоры находятся в растворе в форме высокомолекулярных агрегатов. Агрегация препятствует правильному фолдингу, затрудняет доступ фермента к сайту гидролиза и осложняет использование белка в живых системах ввиду больших размеров агрегатов. Для предотвращения агрегации используются различные подходы, не допускающие агрегацию в процессе биосинтеза белка или помогающие разрушить образующиеся олигомеры. Последние предполагают использование ПАВ или хаотропных агентов. Для разрушения белковых агрегатов сенсоров TR-M5-K и TR-M6-K были использованы имидазол (от 0,5 М до 3 М), тритон x-100 (от 0,01% до 1%), изотиоцианат калия (от 1 М до 6 М) и гидрохлорид гуанидина (от 0,5 М до 6 М). Олигомерное состояние определяли методом динамического светорассеяния.

Наилучшие результаты были получены при использовании 0,01% раствора тритона x-100 и сенсора TR-M5-K. В этом случае наряду с высокомолекулярными агрегатами около 80% сенсора присутствует в растворе в октамерной форме. Использование других детергентов в различных концентрациях к снижению олигомерного состояния обоих сенсоров не привело.

**ИЗМЕРЕНИЕ ВЯЗКОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ РОТОРОВ И FLIM**

М.В. Ширманова<sup>1</sup>, Л.Е. Шимолина<sup>1,2</sup>, М.К. Куимова<sup>3</sup>, Л.Г. Клапшина<sup>4</sup>, Е.В. Загайнова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия; <sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>Имперский колледж Лондона, Лондон, Великобритания; <sup>4</sup>Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева, Нижний Новгород, Россия

Внутриклеточная вязкость – важный параметр, регулирующий проницаемость мембран, транспортные процессы, ферментативную активность, зависящие от диффузии функции, биосинтез, межмолекулярные взаимодействия т. д. Вязкость в раковых клетках и тканях на сегодняшний день изучена очень слабо. В частности, известно, что она отличается у опухолевых и нормальных клеток и изменяется при терапии.

Целью данной работы была разработка метода визуализации микровязкости опухолевых клеток с использованием молекулярных роторов на основе Бодипи и флуоресцентной микроскопии с временным разрешением (FLIM). На клетках коло ректального рака мышей CT26 *in vitro* и опухолях CT26 у мышей *in vivo* были протестированы два ротора. Клетки *in vitro* инкубировались с 8.9 мМ раствором роторов. *In vivo* роторы вводили животным внутривенно в дозах 3-7 мг/кг. Для регистрации времени жизни флуоресценции был использован многофотонный томограф (JenLab, Германия), укомплектованный FLIM-модулем (Becker&Hickl Inc., Германия).

Было показано *in vitro*, что молекулярный ротор Бодипи-2 в течение первых 10 мин после добавления в среду культивирования локализован преимущественно на плазматической мембране клеток. Кривая затухания флуоресценции имела моноэкспоненциальный характер с временем жизни ~2.6 нс, что соответствовало вязкости ~ 370 сП.

Фармакокинетическое исследование показало, что концентрация роторов в плазме крови мышей снижается до фонового уровня за 48 ч. Используя флуоресцентный имиджинг *in vivo*, мы определили, что оба ротора накапливаются в опухоли: Бодипи-2 в течение 1–4 ч, Бодипи С10, растворенный в полимерном носителе, за 6 ч. Двухфотонная флуоресцентная микроскопия показала наличие роторов в опухолевых клетках и соединительной ткани опухоли. Однако в последнем случае ротор демонстрировал нехарактерную кинетику затухания флуоресценции, что ограничивало оценку вязкости. Измерение времени жизни флуоресценции в опухолевой ткани показало перераспределение роторов между цитоплазмой и мембранными структурами в течение 1.5 ч после инъекции. Величины вязкости, измеренные *in vivo*, были схожи с данными, полученными *in vitro*.

Таким образом, мы продемонстрировали возможность анализа вязкости *in vitro* и *in vivo* в живых опухолевых клетках. Работа поддержана РФФИ (грант №15-02-05189).

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абаева А.А. 73  
Абаскалова Н.П. 189  
Абатурова С.Б. 208, 209  
Аббасова К.Р. 57, 59, 60  
Аббасова М.Т. 196  
Абдрешов С.Н. 120  
Абдуллаев В.Р. 126  
Абдурахманов Ж.М. 98  
Абдусатторова М.А. 146  
Абушкевич А.В. 176  
Абушкевич В.Г. 161  
Авдеев С.В. 35  
Авдонин П.В. 70, 71  
Авдонин П.П. 71  
Авдюшенко С.А. 187  
Аверина И.И. 155, 156  
Аверьянова И.В. 201  
Аветисян Э.А. 128  
Агаева С.Э. 32, 186  
Агаркова Е.В. 105  
Агеева Т.С. 164  
Адамян Н.Ю. 199  
Адамян С.Г. 108  
Адамян Ц.И. 134  
Адилбекова А.А. 134, 138  
Азаракш М. 213  
Азаров А.А. 31  
Азимова Ш.С. 98  
Айбуш А. 228  
Айвазян Н.М. 120  
Айдаркин Е.К. 171  
Акимов А.Г. 178  
Аксёнова А.В. 168, 187  
Акулов А.Н. 63  
Акулова В.К. 86  
Алданазаров С.С. 194  
Александров В.Г. 91, 158  
Александрова Е.В. 31  
Александрова С.А. 156  
Алексеева А.С. 136, 191  
Алексеева О.В. 133, 153, 206  
Алексеев Е.А. 121  
Алибекова С.С. 188  
Алиев А.Г. 110, 111  
Алиев С.А. 32  
Алиева Д.Г. 176  
Алиева М.Т. 204  
Алиева Ф.А. 109, 111  
Аллахвердиев С.И. 213, 219, 220  
Аллахвердиев А.Р. 181  
Аллахвердиева А.А. 181  
Амахин Д.В. 58, 64  
Андреев Я.А. 81, 216  
Андреева А.Б. 195  
Андреева Д.Д. 56  
Андреева Е.Р. 42, 45, 47  
Андреева И.И. 102  
Андреева Т.В. 78  
Андреева Ю.А. 157  
Андреев Т.И. 96  
Андреш Л.П. 100  
Аникина Т.А. 95  
Аниол В.А. 85  
Анисимов В.Н. 122, 124, 125  
Анохин К.В. 237  
Антонов В.Г. 74  
Антонов С.М. 68  
Антонова Н.О. 229  
Антошина Е.Е. 117  
Антропова Е.Н. 101  
Антропова И.П. 153  
Арабзода С.Н. 137  
Арапова З.У. 149  
Арапиди Г.П. 214  
Арделян А.Н. 161  
Арипова Т.У. 199, 200  
Арсеньев А.С. 79  
Артемченко Е.О. 73  
Артемьев О.Г. 35  
Артюхов В.Г. 155  
Арутюнян К.Р. 108  
Атаев Г.Л. 103  
Атаев Г.Л. 212  
Атауллаханов Ф.И. 73, 151  
Афлятумова Г.Н. 96  
Ахмеджанова А.А. 147  
Ахметкиреева Т.Т. 211  
Ахметшина Д.Р. 57  
Аширов О.Н. 98  
Бабаев А.А. 60, 197  
Бабаев Х.Ф. 111  
Бабаева Р.Ю. 110, 111  
Бабак К. 231  
Бабенко В.А. 54, 71  
Бабина А.В. 38, 39  
Бабич П.С. 103  
Бабиченко Н.Е. 204  
Бабиченко Н.Е. 207  
Бабкина И.И. 53, 72  
Багаева Т.Р. 92  
Багиров В.А. 192  
Багирова Р.М. 185, 187  
Бадакба А.М. 27, 28  
Бажанова Е.Д. 124  
Базиян Б.Х. 175  
Базовкина Д.В. 123  
Байда Г.Е. 117  
Байк А.С. 217  
Байк А.С. 220  
Байрамова Е.О. 138  
Баишева Г.М. 83  
Бакаева З.В. 53  
Балабан П.М. 165  
Балаев В.В. 89  
Балалаева И.В. 229  
Балан И.В. 112  
Балацкая М.Н. 73  
Балацкий А.В. 73  
Балботкина Е.В. 37, 40  
Балезина О.П. 64  
Балмасова И.П. 99  
Банкин М.П. 216  
Барабощин А.Т. 203  
Баранова Т.И. 184, 197  
Баркар А.А. 169  
Барыгин О.И. 73, 97  
Баскаков И.С. 61  
Басова И.Н. 211  
Басова Н.Е. 211  
Батурин В.А. 105  
Бахта А.А. 195  
Бахшиева З.Т. 175  
Бачинский Н.Г. 154  
Бачу А.А. 142  
Бебякова Н.А. 159  
Бедбенов В.С. 219  
Бедбенов В.С. 220  
Безрукавая Я.В. 180  
Беккер А.М. 37  
Бекусова В.В. 122  
Белалов В.В. 130  
Белицкий Г.А. 117, 118  
Белишева Н.К. 201  
Белкин А.В. 127  
Белова А.С. 229  
Белова О.А. 189, 204  
Белостоцкая Г.Б. 47  
Белоусов В. 232  
Белоусова И.И. 197  
Беляев А.В. 73  
Беляев Н.Г. 105  
Беньковская Г.В. 211  
Бердичевская Е.М. 186  
Бережнова Т.А. 144  
Березовская Е.С. 25  
Берлов Д.Н. 184, 197  
Бессолицына Е.К. 208, 215  
Билалова Г.А. 190  
Билалова Д.Ф. 96  
Билалова Р.Р. 147  
Билова Т.Е. 216  
Биноков В.И. 219  
Бирулина Ю.Г. 72, 75  
Бирюкова Е.В. 27, 28  
Благовещенский Е. 90  
Благодаренко Е.А. 143  
Блажко А.А. 133, 152, 206  
Бликян М.В. 101  
Бобик Т.В. 210  
Бобров К.С. 227  
Бобров П.Д. 27, 28  
Богачева П.О. 64  
Богачук А.П. 50  
Богданов И.В. 215  
Богданова А.М. 130  
Богданова Е.О. 41  
Богданова Е.С. 234  
Боголепова А.Е. 41  
Боголюбова Н.В. 192  
Боголюбовский А.И. 28  
Богородский А.О. 229  
Бодрова Т.Н. 164  
Бойко О.В. 62  
Бойко Ю.А. 99  
Бойченко П.К. 143  
Бокерия Л.А. 155  
Бокерия О.Л. 155, 156  
Болдырева Г.Н. 31, 86  
Болдырева М.А. 42, 44  
Бондарева В.М. 107  
Бондаренко Н.С. 106  
Бондарчук Ю.А. 133, 153, 206  
Борисова Е.В. 197  
Борисова М.А. 59  
Борисова О.И. 117  
Борончук Г.В. 112  
Борулева Е.А. 229  
Борщевский В.И. 229  
Ботязова О.А. 189  
Бочаров А.В. 167  
Бочаров М.И. 202  
Бочкарев С.В. 162, 163  
Бочкарева А.Я. 105  
Бредихина Ю.П. 183  
Брежневский П.Д. 75  
Бубякина В.В. 221, 223  
Будаговская Н.В. 84  
Буданова М.Н. 61  
Будилин С.Ю. 27  
Будко Д.Ю. 121, 188  
Будунова И.В. 117  
Бузан В.И. 112  
Бузанаков Д.М. 107  
Буканова Ю.В. 58  
Букарчук М.Г. 112  
Букатяру Ю.С. 98  
Букина Л.Г. 135  
Булекбаева Л.Э. 120  
Бульгина В.В. 84, 85  
Буравкова Л.Б. 42, 43, 45, 126  
Буркова Н.В. 47  
Буркова С.А. 169  
Бурлакова Е.Б. 221  
Бурлуцкая А.В. 176  
Бусыгина И.И. 91  
Бутов С.Н. 74, 75  
Буторина Н.А. 188  
Бухараева Э.А. 61, 65, 66  
Бушкова Ю.В. 27  
Быков И.М. 121  
Быстрова М.Ф. 69  
Бюльфт Г. 229  
Валеева Г.Р. 57  
Валеева Л.Р. 218  
Валитова Ю.Н. 217  
Валиуллина Ф.Ф. 67  
Ван Л. 223, 226  
Ван М. 226  
Вармарь Г.И. 141  
Вартамян И.А. 177  
Варфоломеев С.Д. 26  
Василевский А.А. 77  
Васильев Д.С. 49  
Васильева Г.Ю. 33  
Васильева Е.А. 207  
Васильева Е.В. 50  
Васильева И.В. 221, 223  
Вахитова Ю.В. 80  
Вашанов Г.А. 155  
Вдовин В.М. 133, 151, 152, 206  
Ведяйкин А.Д. 230, 234  
Велигурова В.С. 176  
Велиева Г.Дж. 175  
Венедик К.Б. 220  
Вениаминова Е.А. 58  
Вербицкий Е.В. 180  
Вергунов Е.Г. 169  
Верлов Н.А. 158  
Веселкин Н.П. 64, 65  
Веселов А.Е. 209  
Ветчинникова Л.В. 221  
Викуллова Н.Н. 143  
Вильчинская Н.А. 34  
Виноградова И.А. 125  
Виноградова Л.В. 53, 59  
Винокуров Л.М. 236  
Винокурова Д.Е. 57  
Виссарионов С.В. 29  
Вишняков И.Е. 230  
Власенко Н.Ю. 187  
Власов В.В. 233  
Власова Н.С. 222  
Воденев В.А. 81, 83  
Воеводина М.Э. 50  
Волгушев М.А. 165  
Волков П.В. 226  
Волкова А.Е. 94  
Волкова В.В. 125  
Володько А.В. 223  
Волошин Е.С. 173  
Волошин Р.А. 219, 220  
Вольнский П.Е. 78  
Вольф Н.В. 123

- Воронин В.В. 191  
 Воронов А.В. 35  
 Воронцова З.А. 196  
 Воропаев Е.С. 235  
 Вострикова Л.В. 34, 36  
 Врабье В.Г. 25, 140, 142  
 Вуду Л.Ф. 109  
 Вульфийус Е.А. 78  
 Габриелян Д.А. 219, 220  
 Гаврина А.И. 235  
 Гагинская Е.Р. 234  
 Гагкаева Т.Ю. 227  
 Гаджиев А.М. 32, 196  
 Газизова А.Р. 50  
 Газизова Н.И. 218  
 Гайворонская Т.В. 145  
 Гайдуков А.Е. 64  
 Галагудза М.М. 47  
 Галзитская О.В. 52  
 Галкина О.В. 41  
 Ганопольский В.П. 187  
 Ганиева А. 131  
 Гараева С.Н. 141  
 Гарунова Р.Э. 147  
 Гасанова Г.А. 175  
 Гасанова М.А. 187  
 Гасанова С.И. 111  
 Гаспирович В.В. 81  
 Гасымова Г.И. 92  
 Гатапов А.Р. 53  
 Гафурова З. 176  
 Гацанова М.В. 55, 107  
 Гашимова У.Ф. 111, 138, 181  
 Гевондян Т.А. 120  
 Геворкян Э.С. 134  
 Гендзелевская А.А. 59  
 Генш Т. 229  
 Герасименко Н.Ю. 174, 180  
 Герасименко Ю.П. 29  
 Гетман И.А. 217  
 Гикавий В.И. 154  
 Гилевич И.В. 43, 47  
 Гиниатуллин А.Р. 63  
 Глаголева Е.С. 221  
 Гладкова Н. 231  
 Глазкова Е.Н. 56  
 Глижин А.Г. 25, 140, 142  
 Глотов А.С. 197  
 Глотов О.С. 197  
 Глумскова Ю.Д. 161  
 Глухоедова Н.В. 99  
 Глушанкова Л.Н. 72, 74, 80, 82  
 Глушанкова Н.А. 116  
 Глушко Л.А. 155  
 Го С. 226  
 Гобова А.Е. 216  
 Говорун В.М. 22, 214  
 Гоголев Ю.В. 208, 214, 215, 217  
 Гоженко А.И. 40  
 Головин И.А. 161  
 Головина И.В. 96  
 Головченко В.М. 204  
 Головахина А.В. 61  
 Голосова Д.В. 37, 40  
 Голубева И.С. 120  
 Голубцова Н.Н. 125  
 Голяко И.А. 72  
 Гончаров Н.В. 70  
 Гончарова Н.Д. 124, 133  
 Гоптарь И.А. 212  
 Горбачев Д.А. 230  
 Горбачева Л.Р. 72  
 Горбунова В.Ю. 198  
 Горделий В.И. 229  
 Гордова В.С. 180  
 Горина С.С. 215, 217  
 Горина Я.В. 125, 173  
 Горностаева А.Н. 42  
 Городков А.Ю. 155  
 Горст В.Р. 157  
 Горст Н.А. 157  
 Горшков О.В. 227  
 Горшкова Т.А. 214, 227  
 Горькавая А.Ю. 170, 171  
 Горькова Т.Г. 117  
 Горященко А.С. 230, 234, 238  
 Гостев Ф. 228  
 Гостинцев А.Ф. 176  
 Гречкин А.Н. 208, 214, 215, 217, 222  
 Григорашвили Е.И. 52  
 Григорьев А.И. 33  
 Григорьев В.С. 194  
 Григорьев П.Н. 63  
 Григорьев Т.Е. 43, 47  
 Григорьева О.А. 44  
 Григорьева Э.В. 225  
 Григорьянц К.Э. 199, 200  
 Грицаев Е.И. 161  
 Гришин Е.В. 81  
 Губарева Е.А. 43, 47  
 Губарева Л.И. 105  
 Губарькова Е. 231  
 Гудашева Т.А. 104  
 Гудков А.В. 117  
 Гужов Ф.А. 183  
 Гузев М.А. 52  
 Гуликин Л.А. 120  
 Гулин А.В. 147  
 Гулова Г. 132  
 Гуляев М.В. 54  
 Гуляева Н.В. 51, 59, 85  
 Гуменюк И.С. 43, 47, 145  
 Гуменюк С.Е. 145  
 Гумерова О.В. 198  
 Гунин А.Г. 125  
 Гурова К.В. 117  
 Гурская Н.Г. 231  
 Гурская О.Я. 112  
 Гусаков А.В. 226  
 Гусакова С.В. 72, 75  
 Гусейнов Э.В. 110  
 Гусейнова Г.Г. 187  
 Гусейнова С.А. 138  
 Гущин А.Г. 127  
 Гущин А.С. 108  
 Гюнтгер Е.А. 227  
 Давыдова В.Н. 223  
 Дадаян А.К. 50  
 Дамянович Е.В. 175  
 Даниелян С.Ш. 119  
 Даниленко В.Н. 92  
 Даниленко К.А. 43  
 Данлади Б.Д. 194  
 Двоеносов В.Г. 138  
 Девицина Г.В. 179  
 Девяткин В.А. 192  
 Дегтярев В.П. 167  
 Деев А.И. 61  
 Деев С.М. 12  
 Делекторская В.В. 119  
 Демченко Г.А. 120  
 Демьянова А.С. 73  
 Денисенко Ю.П. 183, 184  
 Дергилев К.В. 42, 44  
 Держански В.В. 142  
 Деркач К.В. 107  
 Джабраилов А.Н. 134  
 Джалагония И.З. 27, 28  
 Джорджевич М. 234  
 Джус У.Ф. 52  
 Джэппи Д.Д. 67  
 Дигурова И.И. 127  
 Дикопольская Н.Б. 190  
 Дмитриева С.А. 218  
 Добрин А.В. 169  
 Добронравов В.А. 41  
 Добрякова Ю.В. 112  
 Довидченко Н.В. 52  
 Долгих Д.А. 82  
 Долгих Е.А. 213  
 Дорофейкова М.В. 87  
 Дорохов Е.В. 129, 136  
 Доценко А.С. 226  
 Драчук В.М. 42  
 Дрозд У.С. 84  
 Дронь М.Ю. 97  
 Дружкова И. 232  
 Дуб В.М. 140  
 Дубинина А.Д. 38  
 Дубинный М.А. 81  
 Дубровская Н.М. 49  
 Дубровский В.Н. 127  
 Дуденкова В. 231, 232  
 Дуденкова В.В. 235  
 Дужак Т.Г. 45  
 Дусь Т.А. 44  
 Душкина М.А. 172  
 Дыгало Н.Н. 84, 85  
 Дьяконова В.Ф. 136  
 Евсеев А.В. 115  
 Евсеева М.А. 115  
 Евстафьева Е.В. 103, 130, 190  
 Евстафьева И.А. 130  
 Евстифеева Е.А. 121, 187  
 Егоров А.Ю. 87  
 Егорова М.А. 177, 178  
 Ездакова М.И. 47, 49  
 Екимова И.В. 50, 52  
 Елагин В. 231  
 Еланцев А.Б. 196, 207  
 Елисеева Е.В. 129, 133  
 Елифанов А.В. 127  
 Емануйлов А.И. 94  
 Енукашвили А.И. 195  
 Епифанова Е.А. 60, 197  
 Ергина Ю.Л. 64  
 Еремеев В.Н. 194  
 Еркудов В.О. 158  
 Ермак И.М. 223  
 Ермилова В.С. 215  
 Ермолова Л.С. 105  
 Ерохов П.А. 208–210  
 Есаков С.А. 32, 146  
 Есауленко И.Э. 144  
 Ефетов К.А. 208  
 Ефимова Л.Н. 194  
 Ефимова С.С. 79  
 Ефремов Р.Г. 78, 79  
 Ефремова О.А. 162  
 Жаворонкова Л.А. 31, 86  
 Жарких И.Л. 70  
 Жармухамедов С.К. 219, 220  
 Жванский Д.С. 30  
 Жданов Р.И. 138  
 Желтиков А.М. 237  
 Жемчужников М.К. 179  
 Жердева В. 230  
 Жердева В.В. 229, 231, 232, 235  
 Жигачева И.В. 221  
 Жидкова Е.М. 117  
 Жидкова О.В. 47  
 Жилияков Н.В. 65  
 Житняк И.Ю. 116  
 Жмак М.Н. 79  
 Жмурова Т.А. 122  
 Жоров Б.С. 70  
 Жужиков Д.П. 212  
 Жукова О.В. 125  
 Журавин И.А. 49, 119  
 Журавлева О.А. 34, 36, 101  
 Журина С.А. 168  
 Заболотская И.В. 34, 36  
 Забуян Г.А. 119  
 Заварина Л.Б. 184, 197  
 Заволоков И.Г. 168  
 Завьялова М.В. 118  
 Загайнова А.Б. 127  
 Загайнова Е. 231, 232  
 Загайнова Е.В. 229, 233, 235, 236, 238  
 Загирова Н.А. 147  
 Заиков Г.Е. 219  
 Зайнуллина Л.Ф. 80  
 Зайцев А.В. 23, 58, 64, 65  
 Зайцев О.С. 86  
 Зайцев С.Ю. 97, 193, 195  
 Зайцева К.В. 40  
 Зайцева Н.С. 101, 112  
 Закарян Н.А. 120  
 Залата О.А. 172, 190  
 Замкова М.А. 148  
 Заморский И.И. 41, 42, 98  
 Запорожец Т.Н. 128  
 Зарудная Е.Н. 193, 195  
 Захаров А.В. 57, 67, 181  
 Захаров Е.А. 47  
 Зборовская И.Б. 116, 119  
 Зверев А.А. 95  
 Згода В.Г. 227  
 Зейниева Ф.Дж. 110  
 Землянская Н.А. 135  
 Зенина О.Ю. 168  
 Зефирова А.Л. 63, 67  
 Зефилов Т.Л. 95  
 Зиновьева Н.А. 192  
 Зинченко С.А. 130  
 Зиятдинова Н.И. 95  
 Злобовская О.А. 235  
 Змейкина Э.А. 31  
 Зобова Л.Н. 27, 28  
 Золотарев Ю.А. 50  
 Зоров Д.Б. 54, 71  
 Зоров С.Д. 71  
 Зорова Л.Д. 54, 71  
 Зубарева О.Е. 58, 65  
 Зубина И.М. 41  
 Зулфугарова П.А. 111  
 Зухурова П. 205  
 Зыбина А.М. 57  
 Зыкин П.А. 55, 56  
 Ибрагимбекова Р.Ф. 138  
 Ибрагимова С.Ш. 110, 111  
 Иванен Д.Р. 227  
 Иванов А.Н. 48  
 Иванов В.Т. 21, 214  
 Иванов И.А. 79, 82  
 Иванов П.А. 130  
 Иванов Р.В. 117  
 Иванова Г.Е. 27  
 Иванова Л.Н. 38, 39  
 Ивашина Т. 230  
 Ивашина Т.В. 236  
 Ивашкина О.И. 237  
 Ивкин Д.Ю. 47  
 Игнатов В.В. 224  
 Игнатова Ю.П. 168  
 Игнатьева В.Ю. 188  
 Игнатьева С.И. 202  
 Игнатьева С.Н. 202



- Иевков С.А. 158  
Измайлова А.Х. 147  
Изьоров И.В. 174, 174  
Икоева Г.А. 29  
Иллариошкин С.Н. 50  
Ильин А.А. 182, 183  
Ильин В.К. 36  
Ильина Т.М. 222  
Ильинский Н.С. 229  
Ильницкий А.Н. 111  
Илюха В.А. 125  
Имянитов Е.Н. 115  
Иноземцев А.Н. 101, 174  
Иргашева Д.З. 163  
Иришина Ю.А. 168  
Исакова А.В. 114  
Исмаилов Т.М. 175  
Ищкович М.М. 191  
Ишкан З. 90  
Казакова Ю.М. 112  
Казанский Д.Б. 120, 148  
Казаринов В.И. 39  
Казарян Н.А. 120  
Казачкина Н.И. 231  
Казачкина Н.И. 232  
Казин Э.М. 189  
Казначеева Е.В. 69, 74, 80, 82  
Казымов А.Г. 176  
Казымова Л.А. 176  
Калебина Т.С. 224  
Калекешов А.М. 191  
Калемениев С.В. 65  
Калинин С.А. 101  
Калинина А.А. 120, 148  
Калинина Н.И. 65  
Калинина С. 233  
Калинина Т.С. 84, 85  
Камилова Н.М. 138  
Камышишкова Л.А. 162  
Канцерова Н.П. 36  
Капилевич Л.В. 182  
Карацан М.С. 220  
Карацан Н. 220  
Караваев А.С. 156  
Карал-оглы Д.Д. 47  
Карапетян М.А. 199  
Карзилов А.И. 163, 164  
Кароматов И.Д. 139  
Карпенко А.А. 195  
Карпенко Л.Ю. 195  
Карпов М.С. 119  
Карпов Н.В. 127  
Карпова А.В. 136  
Карпова И.А. 182  
Касумов Ч.Ю. 138  
Катаева Г.В. 168  
Каткова Е.В. 94  
Каушанская С.Ю. 119  
Каушанский В.Б. 119  
Кашеверов И.Е. 78, 79  
Кашина Ю.В. 176, 198  
Керечанин Я.В. 27  
Кжышковска Ю.Г. 118  
Киек О.В. 176  
Кикнадзе Г.И. 155  
Ким К.Х. 58, 64, 65  
Киракосян Г.Р. 120  
Киреев М.В. 166  
Киреева Л.А. 136  
Киричук В.Ф. 207  
Киров И.В. 214, 215  
Кирова Ю.И. 113  
Кирпичников М.П. 14  
Кирсанов К.И. 117, 118  
Киселев А.Р. 156  
Киселёв В.И. 133, 151, 160, 206  
Киселева А.Б. 180  
Киселева Н.М. 101, 174  
Кишмирян А.В. 120  
Клапшина Л.Г. 238  
Клементьева Н.В. 231, 233  
Клепиков О.В. 144  
Клешнин М.С. 236  
Клименко Л.Л. 61  
Клименков И.В. 226  
Климкина Т.Н. 171  
Климов В.В. 220  
Климович П.С. 46, 48  
Клопнев Е.О. 130  
Книрель Ю.А. 223, 226, 228  
Князев А.Н. 177, 179, 214  
Князев Г.Г. 167  
Ковалёв Г.И. 50  
Ковалев И.А. 103  
Ковалев И.В. 72, 75  
Ковалева А.А. 129, 159  
Ковалева А.Н. 36  
Коваленко Р.И. 162  
Коваль А.В. 28  
Коварская Н.В. 141  
Ковязина И.В. 67  
Ковязина О.Л. 127  
Коданев А.В. 161  
Кожечкин С.Н. 114  
Козадаев М.Н. 48  
Козлов С.А. 81  
Козлова Л.В. 227  
Козловская И.Б. 30, 34, 31, 167  
Кокшаров М.И. 237  
Колачева А.А. 51  
Колбасин П.Н. 135  
Колесник И.М. 48  
Колесник С.В. 98  
Колесников Д.О. 74, 80, 82  
Колесников Е.Г. 97  
Колесников С.С. 69  
Колик Л.Г. 104  
Колосов М.С. 59  
Колотева М.И. 34, 36  
Колотова Д.Е. 57, 60  
Командиров М.А. 59  
Комарова М.С. 58, 97  
Комельков А.В. 119  
Комиссарова О.В. 129  
Комкова О.П. 93  
Комлева Ю.К. 125, 173  
Кондакова А.Н. 228  
Кондрахин Е.А. 50  
Кондур А.А. 27, 28  
Конкина С.А. 87  
Коннова С.А. 224  
Коновалов А.Б. 233  
Коновалов Р.Н. 31  
Константинопольский М.А. 104  
Копачка М.М. 86  
Копытова Ф.В. 114  
Коренюк И.И. 148  
Корецкий Я.Г. 154  
Корзина М.Б. 60  
Кормилицын Б.Н. 211  
Корнилова Н.В. 161  
Коробкова Е.В. 86  
Коровина Е.С. 181  
Коровина Л.Д. 128  
Коротков А.В. 45, 46  
Коротков А.Д. 166  
Корф Е.А. 197  
Коряк Ю.А. 35  
Косевич И.А. 208–210  
Кост Н.В. 50  
Костин Н.Н. 210  
Кострова О.Ю. 102  
Котёлкина А.А. 102  
Котов С.В. 27, 28  
Котова Я.Н. 73, 151  
Кочеткова И.А. 162  
Кочиш И.И. 193  
Кочкин Д.В. 221  
Кочкина Е.Г. 119  
Кошелев С.Г. 81  
Кошель Е.И. 234  
Кошельская Е.В. 182  
Кравченко А.О. 223  
Крайнова Т.В. 186  
Красавин Е.А. 33  
Красильников М.А. 115  
Красильникова И.А. 53  
Краснощекова Е.И. 55, 56  
Крашенинников С.В. 43, 47  
Креславский В.Д. 219  
Креши Э. 67  
Кривой А.П. 100  
Кривошеков С.Г. 183, 201  
Кривцова Н.С. 172  
Кропотов Ю.Д. 87  
Крутецкая З.И. 74, 75  
Крутецкая Н.И. 74, 75  
Крылов В.В. 36  
Крылов Н.А. 78  
Крылова А.В. 95, 190  
Крылова М.А. 174  
Крюков К.А. 64  
Крюков С.А. 149  
Крюкова Е.В. 82  
Ксаджикян Н.Н. 134  
Кувандыкова Р.Х. 129, 191  
Кудрявцев Д.С. 78, 79  
Кудрявцев И.В. 99  
Кудрявцева П.С. 103  
Куевда Е.В. 43, 47  
Кузичкин Д.С. 34, 36, 101  
Кузмичев Ю.Г. 143  
Кузнецов В.В. 217  
Кузнецова А.П. 135  
Кузнецова И.А. 170  
Кузнецова Л.А. 107  
Кузьмина О.И. 96  
Кузьмина У.Ш. 80  
Куимова М.К. 238  
Куликов А.В. 123  
Куликов И.М. 222  
Куликов М.А. 86  
Куликова А.А. 107  
Куличенкова К.Н. 57, 60  
Кульбацкий Д.С. 79, 82  
Кульминская, А.А. 227  
Кульчицкий В.А. 68  
Куприянов С.В. 162, 163  
Курбанов Б. 137  
Курганская М.Е. 27, 28  
Курмашева Е.Д. 66  
Курочкина К.А. 171  
Курчавый Г.Г. 65  
Курьянова Е.В. 136  
Куст Н.Н. 44  
Кутина А.В. 37, 39  
Куцулаб А.М. 140  
Кучер Е.О. 87  
Кучеренко Е.Е. 208  
Кыров Д.Н. 127  
Лаврентьева В.В. 65  
Лавриненко В.А. 38, 39  
Лавриненко И.А. 155  
Лавров А.И. 209  
Лазарева Н.А. 51, 59, 85  
Лазаренко В.А. 48  
Лактионов П.П. 45  
Лакуста В.Н. 141  
Ланцев В.Л. 222  
Ланшаков Д.А. 84  
Лапшин Д.Н. 179  
Лапшина К.В. 50  
Ларина О.Н. 37  
Латанов А.В. 88  
Ле Т.Г. 155  
Лебедев А.А. 108  
Лебедев Д.С. 82  
Лебедева (Осипова) М.А. 213  
Левин Г.Я. 154  
Левченко О.А. 59  
Левшина И.П. 85  
Левшина М.Н. 194  
Леорда А.И. 142  
Лепунова О.Н. 127  
Лесовая Е.А. 117, 118  
Лила Н.Л. 143  
Липкин В.М. 50  
Липунова Е.А. 162  
Лисина О.Ю. 53  
Литвинова Л.Д. 30, 167  
Литвяков Н.В. 118  
Лобанов К.В. 117  
Лобанова М.В. 49  
Ломоносова Ю.Н. 34  
Ломтатидзе О.В. 191  
Лопатина О.Л. 125, 173  
Лотош Т.А. 125  
Лузикова Е.М. 180  
Лукина М. 232  
Лукина Н.А. 193  
Лукомская Н.Я. 65  
Лукьянов К. 232  
Лукьянов К.А. 230, 231, 233, 235  
Лукьянова Л.Д. 113  
Луничкин А.М. 177  
Лупандин Ю.В. 32  
Лутова Л.А. 213  
Лучаков Ю.И. 96  
Лысенко Л.А. 36, 210  
Лычёва Н.А. 133, 151, 152, 206  
Львовская Е.И. 188  
Лю Б. 223  
Любашина О.А. 91  
Любимов В.В. 233  
Любимова К.А. 34  
Любимова Н.Е. 159  
Любунь Г.П. 48  
Люкманов Р.Х. 27  
Люкманова Е.Н. 79, 82  
Люпина Ю.В. 208–210  
Ляшенко Л.С. 235  
Магазаник Л.Г. 23, 58, 64, 65, 74  
Мадиева Г.Б. 207  
Мазилина А.Н. 61  
Майкова А.С. 234  
Макаревич П.И. 42, 44  
Макарова И.И. 168, 187  
Макарьева Т.Н. 79  
Макашев Е.К. 191  
Макеев О.Г. 45, 46  
Максимов А.Л. 201  
Максимов В.И. 97, 194, 195  
Максимюк А.В. 119  
Макшакова О.Н. 227  
Малев В.В. 79  
Малинина Е.С. 177  
Малинина И.Н. 136  
Малкин С.И. 58

- Малова Е.С. 99  
Маломуж А.И. 67  
Мальшев А.Ю. 165  
Мальшева Ю.В. 152, 153  
Малюта И.А. 52  
Мамедова Г.Р. 187  
Мамедова К.Г. 109, 110  
Мамедова С.Дж. 110  
Мамедова С.И. 198  
Мантоптин А.И. 140, 141  
Мануйло А.М. 119  
Марина А.С. 37, 39  
Маркевич В.А. 112  
Маркель А.Л. 38  
Маркин А.А. 34, 36, 101  
Маркин В.В. 169  
Маркина Л.Д. 134, 169  
Марков А.Г. 93  
Маркова К.Б. 168  
Маркова Н.П. 120  
Мартиросов В.Ю. 148  
Мартиросов М.Ю. 130  
Мартыненко И.В. 188  
Мартынова О.В. 89  
Марцынишина К.Ю. 188  
Марченко Л.А. 222  
Марченков В.В. 52  
Марынич Н.К. 234  
Масленникова Ю.Л. 185  
Маслоков П.М. 94  
Матвеева В.Л. 96  
Матвеева О.В. 48  
Матвеева Ю.П. 125  
Матиенко Л.И. 219  
Матийцев Н.П. 81  
Маугенбаев А.А. 196  
Маугенбаев А.А. 207  
Махнова Н.М. 161  
Машкина Е.А. 162  
Медведев С.В. 166  
Медведев С.С. 216  
Медведева Е.В. 182  
Медникова Ю.С. 114  
Меерович И.Г. 235  
Мелентьев П.А. 81  
Меликбекян Е.О. 129  
Мелкумян К.В. 108  
Мельник К.Н. 83  
Мельников А.С. 234  
Мельникова Д.Н. 215  
Мельничкая А.В. 74  
Мереуца И.Г. 112  
Меркулова Л.М. 102  
Мершина Е.А. 167  
Микшина П.В. 224  
Миленина Л.С. 75  
Миллер Н.В. 27, 28  
Миль Е.М. 219  
Милотина Ю.П. 173  
Минасян С.М. 134  
Минибаева Ф.В. 217, 218  
Минигалин А.Д. 197  
Минкин В.А. 119, 161, 176  
Мираков Р.С. 145  
Мираков Х.М. 145  
Мирева С.Б. 111  
Мирзоева З. 131  
Мирриева С.Б. 110, 111  
Мироненко М.Ю. 155, 156  
Миронов А.С. 117  
Миронов К.С. 220  
Миронова Г.Ю. 70, 71  
Мирхулава Н.Г. 161  
Митрошина Е.В. 60  
Михайлов В.С. 208–210  
Михайлова Е.С. 174, 180  
Михайлова М.Н. 102  
Михайлова С.В. 143  
Михалева А.В. 178  
Мишенин А.Ю. 186  
Мишин А.В. 229  
Мишин А.С. 230, 231, 233  
Мишина Н.М. 229  
Мищенко Н.П. 207  
Моисеев К.Ю. 94, 160  
Моисеева Т.Г. 133, 206  
Моисеева Ю.В. 59, 85  
Моисеенко И.А. 56  
Мокиенко О.А. 27  
Мокрушина Е.А. 32, 146  
Мокшина Н.Е. 227  
Молчанов Д.В. 39  
Молянова Г.В. 194  
Морачевская Е.А. 78  
Морозов В.И. 108  
Морозова Д.М. 54  
Морозова Е.Н. 81  
Морозова М.И. 101  
Морозова Н.Е. 230, 234  
Морозова О.Ю. 93  
Морозова С.Н. 31  
Моруков Б.В. 33  
Москаленко С.В. 133, 152  
Москаленко Ю.Е. 157  
Московчук К.М. 103  
Московчук О.Б. 103  
Мосолова Л.А. 219  
Мосягин В.В. 193  
Мосягина И.П. 193  
Мотылева С.М. 222  
Мошонкина Т.Р. 29  
Муллакаев А.О. 194  
Муравьева И.В. 132  
Муранова А.В. 101  
Мурзина С.А. 209  
Муртазина А.Р. 106  
Мухамедзянов Р.Д. 67  
Мухина Т.С. 31  
Мухитова Ф.К. 217, 222  
Мухтарова Л.Ш. 208, 214, 215, 217  
Мышкин И.Ю. 170  
Мышкин М.Ю. 79  
Мясоедов Н.Ф. 50  
Нагаева Э.И. 74  
Нагорнова Ж.В. 28  
Надеев А.Д. 70  
Надточенко В. 228  
Нажмидинова М.Н. 146  
Назарова М. 90  
Назарян О.А. 120  
Назипова А.Р. 227  
Накохов Р.З. 43  
Наливаева Н.Н. 49, 119  
Нарасв Г.П. 130  
Нарьжний С.Н. 227  
Насретдинов А.Р. 57  
Насыров Р.А. 55  
Наточин Ю.В. 3, 37  
Наумова А.А. 75  
Негуляев Ю.А. 78  
Недогреева О.А. 51  
Недопекин С.А. 191  
Недорезова Р.С. 96  
Недоспасов С.А. 18  
Некрасова А.А. 193  
Немова Н.Н. 36, 209, 210  
Нестерова И.В. 100  
Нестерова Л.А. 63  
Нефедова З.А. 209  
Нечипуренко Д.Ю. 73, 151  
Нигматуллина Л.Р. 218  
Нигматуллина Р.Р. 96  
Никитин В.М. 162  
Никитюк И.Е. 29  
Никишина Ю.О. 106  
Николаев В.Ю. 133, 160, 206  
Николаев Г.М. 197  
Николаев М.В. 58, 97  
Николаева Е.И. 169  
Никольский Е.Е. 61, 65, 67  
Никоноров Ю.М. 211  
Никулин В. 90  
Никулина А.В. 131  
Никулина Д.М. 130  
Нимирицкий П.П. 44  
Нифантьев Н.Э. 227  
Ничипорук И.А. 33  
Ниязова Д. 205  
Новикова В.А. 119  
Новикова Е.М. 83  
Новикова М.Р. 85  
Новоселецкая А.В. 101, 174  
Ноздрачев А.Д. 6, 93  
Нольде Д.Е. 78  
Норкин И.А. 48  
Носикова И.Н. 30, 167  
Носова М.Н. 133, 153, 206  
Нурмагомедова Х.А. 147  
Нуруллин Л.Ф. 66  
Обидова М.Д. 150  
Обухов К.Ю. 52  
Обухов Ю.В. 52  
Обыденный С.И. 73, 151  
Овсиенко П.Г. 119  
Овчинникова Т.В. 215  
Оглоблина А.М. 118  
Огородникова А.В. 222  
Одинцова Н.Н. 232  
Одинцова Т.И. 216  
Оленко Е.С. 207  
Омберген А. Ван 30, 167  
Омельченко В.П. 181  
Онуфриев М.В. 59, 85  
Оплатчикова М.А. 53  
Орган А.Н. 140  
Ордян Н.Э. 86  
Орехов А. 236  
Орипов М. 144  
Орлов О.И. 101  
Орлов С.Н. 72, 75  
Орлов Ю.А. 103  
Орлова А.Г. 229, 236  
Орынбаева З.С. 98  
Осикбаева С.О. 98  
Осипов А.В. 78  
Осипова А.Д. 144  
Осипова Е.В. 214  
Осмаков Д.И. 81  
Островский М.А. 14, 33  
Остроумова О.С. 79  
Остроушко Т.С. 136  
Отеллин В.А. 86  
Павлова Г.В. 44  
Павлова О.Г. 27  
Павловская М.А. 171  
Падалка Г.И. 35  
Пан А.С. 202  
Панин В.П. 165  
Панина М.И. 165  
Панина Ю.А. 173  
Панов А.В. 98  
Пантелеев Д.Ю. 44  
Пантелеев М.А. 73, 151  
Пантелеев С.И. 73  
Пантелеев С.С. 91  
Парамонов А.С. 79  
Парамонова Н.М. 54  
Парфенова Е.В. 15, 42–44  
Парфенова И.А. 96  
Паршкова Е.В. 208  
Пастухов Ю.Ф. 50, 52  
Патова О.А. 227  
Патюков А.Г. 170  
Пацановский В.М. 122  
Певзнер И.Б. 54, 71  
Пекин В.Н. 130  
Пеккова С.Н. 209  
Пенжоян А.Г. 119, 176  
Перельман Г.С. 235  
Перепелкина О.В. 197  
Перепелов А.В. 223  
Перепелов А.В. 226  
Перец Д.С. 28  
Перк А.А. 221, 223  
Перова Ю.Ю. 161  
Перфилов М.М. 231  
Перхурова В.Д. 129, 133  
Перченко А.Ю. 211  
Петенкова А.А. 162  
Петров А.М. 63  
Петров К.А. 67  
Петрова Е.С. 62  
Петросян А.А. 128  
Петросян А.Д. 156  
Петроченко А.С. 153  
Петроченко Е.П. 152, 153  
Печенкова Е.В. 30, 167  
Пинелис В.Г. 53  
Пирогов Ю.А. 54  
Плаксина Д.В. 50  
Платонова О.Н. 95  
Плаханов В.И. 236  
Плотников Е.Ю. 54, 71  
Плотникова Ю.И. 81, 83  
Плохотюк Е.Н. 121, 188  
Погодина С.В. 184  
Погосбекян Э.Л. 31, 86  
Подвигина Т.Т. 92, 93  
Подоплелова Н.А. 73, 151  
Пожванов Г.А. 216  
Пожидаева Е.С. 217, 220  
Пойдашева А.Г. 31  
Покровский В.М. 26, 43, 48  
Полещиков А.В. 99  
Полеваева И.И. 197  
Полищук Л.В. 135  
Половинкин В.А. 229  
Полунин И.Н. 157  
Польничева Н.А. 136  
Поляков Ю.И. 87  
Полякова Л.Д. 140  
Пономарев А.В. 130  
Пономарев А.Г. 221, 223  
Пономарев В.А. 87  
Пономарев С.А. 34, 101  
Пономарева А.А. 218  
Понукалина Е.В. 204  
Попков В.А. 71  
Попков В.В. 161  
Попов К.А. 121  
Попов С.В. 227  
Попова Н.М. 107  
Попова Т.С. 123, 160  
Поповичева А.Н. 154  
Порнялэ И.Д. 140, 142  
Порсева В.В. 60  
Порханова Н.В. 119  
Постникова Т.Ю. 64

- Постолати Г.В. 141  
 Потапов М.Г. 129  
 Потапова Н.Н. 58, 74  
 Потловский К.Г. 155  
 Похотько А.Г. 43, 161  
 Почечуев М.С. 237  
 Правдивцев В.А. 115  
 Присный А.А. 200, 211  
 Прозоровская Е.Л. 99  
 Пронин И.Н. 31  
 Пронина М.В. 87  
 Проничев И.В. 32, 146  
 Проскурина С.Е. 67  
 Прохорова Е.Е. 212  
 Процаев К.И. 111  
 Птицын К.Г. 34  
 Пуговкин А.П. 158  
 Пузина Т.И. 222  
 Пустовая Ж.В. 176  
 Пучиньян Д.М. 48  
 Пятин В.Ф. 56, 181  
 Пятченко А.К. 119  
 Рабаданова А.И. 62, 126, 134  
 Рабданов М.М. 176  
 Рагинов И.С. 96  
 Радаев А.В. 234  
 Ражабкадиева Т.Р. 62  
 Разуванова А.В. 182  
 Разумникова О.М. 123  
 Райхлин Н.Т. 232  
 Ратушный А.Ю. 126  
 Рахматуллина Д.Ф. 218  
 Ревишин А.В. 44  
 Ржепецкая М.К. 187  
 Ровнягина Н. 236  
 Рогачевская О.А. 69  
 Родик А. 234  
 Родионова М.В. 220  
 Рожкова А.М. 226  
 Рожкова Л.А. 122  
 Розенгарт Е.В. 211  
 Розов А.В. 67  
 Ронк Р.О. 108  
 Романов А.Е. 103  
 Романов В.Н. 192  
 Романов Р.А. 69  
 Романчук Н.П. 56  
 Романчук Н.П. 56, 181  
 Романюк Д.Н. 141  
 Россохин А.В. 55  
 Рошка Н.В. 112  
 Рощевская И.М. 156  
 Рощевский М.П. 156  
 Рошин В.Ю. 27, 28  
 Рошин М.В. 165  
 Рошина М.А. 237  
 Рубан М.К. 155  
 Рубец Е.Д. 162  
 Рубина К.А. 46, 48  
 Рубцова С.Н. 116  
 Рудакова Т.А. 41  
 Руденская Г.Н. 210  
 Рукавишников И.В. 30, 167  
 Румшильская А.Д. 30, 167  
 Рустамзаде А.Ш. 175  
 Рустамова А.Ф. 175  
 Рыбина Е.В. 134  
 Рыбникова Е.А. 113, 114  
 Рыдченко В.С. 72, 75  
 Рыкова М.П. 101  
 Рысенкова К.Д. 46, 48  
 Рябова Е.В. 81  
 Рябовол В.В. 218  
 Рябчикова Н.А. 175  
 Рязанцева М.А. 69, 72
- Сааков В.С. 211  
 Саакян Н.А. 128  
 Сабанцев А.В. 230, 234  
 Сабиров М.А. 157  
 Савилов П.Н. 39  
 Савинкова А.В. 117  
 Савицкий А. 230  
 Савицкий А.П. 229, 231, 232,  
 234–236, 238  
 Савостина М.С. 61  
 Савостьянов А.Н. 167  
 Савченко Е.А. 44  
 Сагардзе Г.Д. 44  
 Садыкова Д.И. 96  
 Саенко И.В. 30, 31, 34  
 Саидов Б. 205  
 Саидова С.С. 150  
 Саифитдинова А.Ф. 234  
 Салина В.А. 197  
 Салихова Е.Ю. 149  
 Салмина А.Б. 125, 173  
 Салтыкова М.М. 101  
 Сальковский Ю.Е. 48  
 Самигуллин Д.В. 61, 65  
 Самойлов М.О. 114  
 Самородова А.П. 213  
 Самцов М.П. 235  
 Сандуца С.Г. 140  
 Сапронова А.Я. 106  
 Саранцева С.В. 81  
 Саркисова К.Ю. 197  
 Саркисян А.С. 161  
 Саркисян К.С. 230  
 Сасмаков С.А. 98  
 Сатюкова А.С. 155  
 Сафаров А. 144  
 Сафронова Н.С. 143  
 Свешникова А.Н. 73, 151  
 Северинов К.В. 234  
 Селиванова О.М. 52  
 Селимов Р.М. 117  
 Селионов В.А. 30  
 Семенович А.А. 162  
 Семенов Р.Н. 185  
 Семилетова В.А. 144  
 Семина Е.В. 46, 48  
 Семьянов А.В. 66  
 Сенченкова С.Н. 223  
 Сепиашвили Р.И. 10, 99  
 Сергеев И.В. 158  
 Сергеева В.Е. 180  
 Сергеева Е.А. 162, 163  
 Сергеева М.С. 181  
 Сергеева Т.Ф. 235  
 Серебрякова М.К. 99  
 Серебрякова О.С. 221  
 Середина А.В. 214  
 Серов И.Н. 172  
 Сиваченко И.Б. 91  
 Сигида Е.Н. 224  
 Сидоров Р.В. 148  
 Сидорова М.В. 72  
 Сидорова Н.А. 56  
 Сидорова О.Н. 170, 171  
 Сизов В.В. 65  
 Сизякина Л.П. 102, 148  
 Силачев Д.Н. 54, 71  
 Симонова В.В. 52  
 Симомян Л.Ю. 128  
 Синицын В.Е. 30, 167  
 Синс Д.Б. 43  
 Ситдинов Ф.Г. 95, 190  
 Ситдинова Г.Ф. 66  
 Сичинава Д.К. 161  
 Скальный А.В. 61
- Скедина М.А. 36, 129, 159  
 Скобелева К.В. 69, 72  
 Скопин А.Ю. 74, 80, 82  
 Скорикова Л.А. 161  
 Скребицкий В.Г. 24, 58  
 Славохотова А.А. 216  
 Славущая А.В. 174  
 Сломинский П.А. 50  
 Слонимская Е.М. 118  
 Слюсаренко А.Е. 190  
 Смаглий Л.В. 72, 75  
 Смагулов Н.К. 134, 138  
 Смирнов А.А. 31  
 Смирнов А.Ф. 193  
 Смирнов И.В. 210  
 Смирнов К.А. 41  
 Смирнова В.А. 133  
 Смирнова Д.В. 235  
 Смирнова Е.О. 215, 217  
 Смирнова С.Л. 156  
 Смоликова Г.Н. 216, 218  
 Смышляева И.В. 204  
 Сниткин Д.В. 178  
 Соколенко А.П. 115  
 Соколинский К.Б. 119  
 Соколов О.Ю. 50  
 Соколова Е.В. 223  
 Соудатов А.А. 96  
 Соллертинская Т.Н. 104  
 Соловьев В.С. 127  
 Соловьев И.Д. 236  
 Соловьева З.О. 36  
 Соловьева С.В. 127  
 Сологуб Н.А. 130  
 Солодков Р.В. 57  
 Солопова И.А. 29, 30  
 Сомов И.М. 161  
 Сонькин К.М. 28  
 Сороко С.И. 200  
 Сосин Д.В. 115  
 Сотниченко А.С. 43, 47  
 Спиридонова В.А. 41  
 Спирина Е.Н. 79  
 Станкевич Л.А. 28  
 Станкова Е.П. 170  
 Становова М.В. 208, 210  
 Старицын А.Н. 27  
 Старков В.Г. 78  
 Староверова И.Н. 97  
 Старченко М.Г. 166  
 Стахеева М.В. 118  
 Степанов М.Ю. 51, 59, 85  
 Степанов К.В. 162, 163  
 Степанова В.В. 43  
 Стефанова Ю.Ю. 119  
 Стоник В.А. 79  
 Страхов К.А. 168  
 Стрелков А.А. 60  
 Стрельник А.В. 105  
 Струкова С.М. 72  
 Струтинский Ф.А. 140  
 Стручко Г.Ю. 102  
 Ступин В.О. 136  
 Суворина М.Ю. 52  
 Суворов А.А. 211  
 Суворова В.Н. 195  
 Судаков Н.П. 226  
 Сударикова А.В. 78  
 Сулаймонова Д. 205  
 Сулаквелидзе Т.С. 146, 147  
 Сулейманова Е.М. 53, 59  
 Сулкарнаева А.Г. 217  
 Ситдинова Г.Ф. 66  
 Сурина А.К. 52  
 Сурина А.М. 53
- Сурина Н.М. 197  
 Сурменев Д.В. 115  
 Сусин Д.С. 168  
 Сухов В.С. 81, 83  
 Сухов И.Б. 107  
 Суховских А.В. 225  
 Сухотина И.А. 29  
 Сушинская-Тетерева А.О. 89  
 Схинас А.А. 135  
 Сыромятникова В.Ю. 138  
 Сысоев А.А. 96  
 Сысоев В.Н. 172, 188  
 Сысоева И.В. 96  
 Тагиров З.С. 148  
 Тайгибова З.А. 62  
 Таку Н.Н. 140  
 Тамбовцева А.А. 186  
 Тамкович С.Н. 45  
 Тананакина Т.П. 143  
 Тарабыкин В.С. 166, 197  
 Тараканов В.А. 97  
 Тарасов С.Д. 235  
 Татаринова Т.Д. 221, 223  
 Татарников В.С. 56  
 Телушкин П.К. 108  
 Теплый Д.Л. 124  
 Терентьева Е.О. 98  
 Терещенкова В.Ф. 212  
 Тер-Маркосян А.С. 108  
 Тетенев К.Ф. 164  
 Тетенев Ф.Ф. 164  
 Тилова Л.Р. 117  
 Титов А. 228  
 Титов В.Н. 101  
 Тихомирова И.А. 152, 153  
 Тихонов Д.Б. 58, 70, 74, 97  
 Тихонова Т. 236  
 Тихонова Т.Б. 73  
 Тихонович И.А. 213  
 Тишкина А.О. 85  
 Ткаченко Л.А. 55, 56  
 Ткачук В.А. 5, 15, 43, 44, 46, 48  
 Токаева Л.К. 204  
 Томиловская Е.С. 30, 34, 167  
 Топоркова Я.Ю. 208, 214, 215,  
 217  
 Тоукач Ф.В. 228  
 Трашков А.П. 122  
 Тришин А.С. 186  
 Тропская Н.С. 123, 160  
 Трошина Е.М. 31  
 Труфанов С.К. 70  
 Труханова Л.С. 117  
 Трухина А.В. 193  
 Труш Е.И. 81  
 Трясучев А.В. 136  
 Тулеуханов С.Т. 98, 158  
 Туник С.П. 234  
 Туниц Т. 220  
 Турбасова Н.В. 127  
 Турбина Л.Г. 27, 28  
 Турна А.А. 61  
 Туровская М.В. 197  
 Туровский Е.А. 197  
 Турчин И.В. 236  
 Турчина В.В. 172  
 Туганов О.С. 45  
 Тымченко С.Л. 130  
 Тюкавин А.И. 47  
 Тюлькова Е.И. 114  
 Тюрин-Кузьмин А.Ю. 37  
 Тяглов Б.В. 117  
 Тятенкова Н.Н. 135  
 Уайтс Ф. 30, 167  
 Угарова Н.Н. 235, 237

- Углов А.С. 233  
 Угрюмов М.В. 15, 50, 106  
 Ударцева О.О. 45, 47  
 Улитина О.М. 133, 206  
 Умрюхин А.Е. 53  
 Урбан А.С. 214  
 Урунова Ш.Д. 150  
 Усатикова Э.А. 54  
 Устоев Б.Р. 150, 204  
 Устюжанина Н.Е. 227  
 Уткин Ю.Н. 78, 79, 82  
 Ушаков В.С. 225  
 Фаворская И.А. 119  
 Фадеев В. 236  
 Фала В.Д. 141  
 Фатеев М.М. 108  
 Фатихова З. 206  
 Фахридинов М.Б. 145  
 Федаш В.В. 140  
 Федделе Т. 90  
 Федоненко Ю.П. 224  
 Федонников А.С. 48  
 Федореев С.А. 207  
 Фёдорова Е.С. 70  
 Федорова Е.Ю. 195  
 Фёдорова Я.В. 234  
 Федотов А.Б. 237  
 Федотов И.В. 237  
 Федотова И.Б. 197  
 Феликсова О.М. 159  
 Фесенко И.А. 214  
 Фетисов Т.И. 117  
 Филаретова Л.П. 90, 92  
 Филатов А.В. 226  
 Филиппов Ф.Н. 125  
 Филиппова И.Ю. 212  
 Филиппова Л.В. 93–95  
 Филиппченкова С.И. 121, 187  
 Финкина Е.И. 215  
 Фоменко А.В. 143  
 Фомичева Е.М. 198  
 Фохт Э.В. 206  
 Фрейман С.В. 85  
 Фролов А.А. 27, 28, 216  
 Фурдуй В.Ф. 25, 140, 142  
 Фурдуй Ф.И. 25  
 Фурман О.Е. 233  
 Хазигалеева Р.А. 214  
 Хазиев Э.Ф. 61, 65  
 Хазиев Э.Ф. 65  
 Хазипов Р.Н. 57  
 Хакимова Г.Б. 199, 200  
 Халимова Ф.Т. 147, 150, 203  
 Хананашвили Я.А. 158  
 Хананашвили Я.А. 181  
 Харковлюк-Балакина Н.В. 126  
 Харламова А.Д. 67  
 Хасанова Д.В. 80  
 Хачиян М.С. 128  
 Хидиров М.А. 163  
 Хижкин Е.А. 125  
 Ходорковский М.А. 230, 234  
 Хожай Л.И. 86  
 Хоменко Ю.Г. 28, 168  
 Хорунжий Г.Д. 177, 178  
 Хренова М. 230  
 Хромова А.В. 159  
 Хромых Л.М. 120, 148  
 Хрусталева Л.И. 215  
 Худавердян Д.Н. 108  
 Худякова Н.А. 32, 146  
 Хузахметова В.Ф. 66  
 Хусайнов Д.Р. 148  
 Цатурян Л.Д. 129, 133, 191  
 Цатурян М.О. 129  
 Цветков В.Б. 117  
 Центалович Ю.П. 45  
 Ценцевицкий А.Н. 61  
 Цеомашко Н.Е. 98  
 Цеглин В.И. 77–79  
 Цирульников Е.М. 177  
 Цитрин Е.Б. 70, 71  
 Цоколаева З.И. 42, 44  
 Чанцева В.В. 216  
 Частухина И.Б. 218  
 Чвалун С.Н. 43, 47  
 Чебан Л.Н. 140  
 Чеботарь И.В. 53  
 Чебыкина А.В. 172  
 Чевкина Е.М. 119  
 Челушкин П.С. 234  
 Челяпина М.В. 31, 86  
 Челяпина М.В. 86  
 Чемерис Г.Ю. 119  
 Червяков А.В. 31  
 Чердынцева Н.В. 118  
 Чередник И.Л. 176, 198  
 Черезов В.Г. 229  
 Черенкова Л.В. 186  
 Черетаев И.В. 148  
 Черешнев В.А. 100  
 Черкашина О.И. 170  
 Черкесова Д.У. 62, 126, 134  
 Чермаков С.А. 162  
 Чермаков С.А. 163  
 Черникова Л.А. 27, 30, 31, 87  
 Черноштан К.В. 173  
 Черных А.И. 125  
 Черных И.В. 55, 107  
 Чернышева М.Р. 112  
 Чернявский О.О. 234  
 Чибирева М.Д. 96  
 Чигарова О.А. 133  
 Чижов А.В. 64  
 Чижонкова Е.А. 53  
 Чистякова О.В. 107  
 Чокинэ В.К. 25, 140, 142, 157  
 Чокинэ М.С. 140  
 Чубинский-Надеждин В.И. 71, 78  
 Чугунов А.О. 78, 79  
 Чумак А.Г. 68  
 Шабалин К.А. 227  
 Шабалова А.А. 125, 173  
 Шабанов П.Д. 104  
 Шабанов П.Д. 108, 115  
 Шадрин М.И. 50  
 Шайхелисламова М.В. 190  
 Шакиров Е.В. 218  
 Шакулов Р.С. 117  
 Шалоня Т.А. 56  
 Шалыгин А.В. 74, 80, 82  
 Шамадькова Д.В. 44  
 Шамсиев Д.А. 150  
 Шамсиев Э.Д. 146, 150  
 Шандра А.А. 99  
 Шапошников Л.А. 238  
 Шарипова М.Р. 218  
 Шаркова В.А. 103  
 Шарова Е.В. 31, 86  
 Шарова Н.П. 208, 209  
 Шаронова И.Н. 58  
 Шатилло Г.Ю. 133, 206  
 Шафаревич И.А. 53  
 Шахматов И.И. 133, 151–153, 160, 206  
 Шашков А.С. 226  
 Шашкова И.Г. 123, 160  
 Шварц В.А. 155, 156  
 Швецова С.В. 227  
 Швыдченко И.Н. 186  
 Шевякова А.А. 129  
 Шелепин Ю.А. 87  
 Шелухина И.В. 78, 79  
 Шемеровский К.А. 139  
 Шемякина Н.В. 28  
 Шенкарев З.О. 79, 82  
 Шенкман Б.С. 34  
 Шехова М. 206  
 Шептицкий В.А. 140  
 Шереметьев Ю.А. 154  
 Шерстнева О.Н. 83  
 Шехова М. 137  
 Шехова М. 206  
 Шимолина Л.Е. 238  
 Шингарова Л.Н. 79  
 Шинкаренко А.С. 189  
 Шипаева Е.В. 117  
 Ширинян В.З. 117  
 Ширманова М.В. 232, 235, 236, 238  
 Ширшин Е. 236  
 Ширяева А.А. 234  
 Ширяева О.М. 119  
 Шитов А.В. 220  
 Шишкина Г.Т. 85  
 Шишко Е.Ю. 135  
 Шишлятников С.М. 226  
 Шлык И.Ф. 148  
 Шлык С.В. 148  
 Шогерян С.А. 128  
 Шорохов М.В. 104  
 Шошина И.И. 87  
 Шпаков А.В. 35  
 Шпаков А.О. 106, 107  
 Штарк М.Б. 24  
 Штиль А.А. 117  
 Шувалова Е.П. 224  
 Шуканов А.А. 131, 194  
 Шуканов Р.А. 194  
 Шукуров Ф.А. 130, 147, 149, 203  
 Шукурова Н.Я. 145  
 Шукюрова П.А. 111  
 Шуляя Н.М. 161  
 Шулепко М.А. 79, 82  
 Шуман Е.А. 45, 46  
 Оссатчи А. 89  
 Шуртова С.В. 128  
 Шутров И.Е. 48  
 Щагина Л.В. 79  
 Щербачев А.М. 117  
 Щербачев А.О. 203  
 Щербицкая А.Д. 173  
 Шеславский В.И. 231, 232, 234  
 Щулькин А.В. 55, 107  
 Эллидина Е.Н. 212  
 Энейская Е.В. 227  
 Юнаш В.Д. 125  
 Юферев В.С. 149  
 Юшков Б.Г. 100, 153  
 Ягодина О.В. 211  
 Ягупова Ю. 105  
 Якименко А.О. 73  
 Яковлев А.В. 66  
 Якубовская М.Г. 117, 118  
 Якушева Е.Н. 55, 107  
 Янкаускас С.С. 71  
 Янова Я.А. 162, 163  
 Яроцкий С.В. 117  
 Ярушкина Н.И. 91  
 Ярцева Ю.О. 72  
 Яценко Л.Г. 183, 184  
 Balcke G.U. 225  
 Bhattacharya S. 77  
 Bilova T. 225  
 Birkemeyer C. 225  
 Bisinger A. 233  
 Blackburn G.M. 19  
 Blagoveshchensky E. 89  
 Brauch Dominic 225  
 Bregestovski P. 76  
 Breymayer J. 233  
 Caruthers M.H. 18  
 Chantseva V. 225  
 Colosio M. 90  
 Contag Ch.H. 17  
 Corringer P.J. 76  
 Didio Anna 225  
 Engelhardt J. von 77  
 Ernst M. 76  
 Fajkus Jiří 213  
 Feurra M. 89  
 Fonsova N.A. 88  
 Frolov Andrej 225  
 Gerzer R. 14  
 Gorin A. 89  
 Greifenhagen Uta 225  
 Grishina T. 225  
 Gyires K. 90  
 Haering S.C. 77  
 Hollmann M. 77  
 Ilatovskaya D.V. 68  
 Jin Yi 19  
 Klucharev V. 88–90  
 Lebedeva A. 89  
 Levchenko V. 68  
 Lukasheva Elena 225  
 Mavropolo-Stolyarenko G. 225  
 Mamac C. 220  
 Medvedev S. 225  
 Milkowski C. 225  
 Moiseeva V.V. 88  
 Molt R. 19  
 Nalivaeva N.N. 84  
 Nazarova M. 89  
 Nikulin V. 89, 90  
 Novikov N. 90  
 Osmolovskaya N. 225  
 Ossadtschi A. 89  
 Palygin O. 68  
 Paudel G. 225  
 Pozdeeva D. 89  
 Richards N.G. 19  
 Rück A. 233  
 Schilyaev N. 225  
 Schmiedhofer P. 76  
 Shestakova A. 88–90  
 Shulgovskiy V.V. 88  
 Shuyskiy L.S. 68  
 Silman I. 16  
 Simeone X. 76  
 Slavutskaya M.V. 88  
 Smolikova G. 225  
 Soboleva A. 225  
 Staruschenko A. 68  
 Stefanov Vasily 225  
 Strasdeit T. 77  
 Traynelis S.F. 77  
 Treven J. 76  
 Turner A.J. 84, 119  
 Volgushev M. 165  
 Waltho J.P. 19  
 Warschel A. 4  
 Wessjohann L.A. 225  
 Yurevich M. 89  
 Zubarev I. 89  
 Aslam M. 77