

Фізіологічний журнал

ТОМ 57 № 5 2011

Науково-теоретичний журнал • Заснований у січні 1955 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

Зміст

Матеріали ІІІ съезда физиологов СНГ «Физиология и здоровье человека»
(Ялта, 1-6 октября 2011 года)

МЕМОРИАЛЬНЫЕ ЛЕКЦИИ

- Крышталь О.А.* Вклад П. Г. Костюка в парадигму кальциевой сигнализации 5
- Григорьев А.И.* Роль академика О.Г. Газенко в становлении и развитии космической физиологии и медицины 8
- Наточин Ю.В.* Водно-солевой гомеостаз – роль рефлексов, гормонов, инкретинов, аутокоидов 13
- Сепиашвили Р.И.* От теории клеточной патологии Р. Вирхова к фагоцитарной теории И.И. Мечникова 16

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ И ЛЕКЦИИ

- Агаджанян Н.А.* Адаптационная физиология и экология человека: культура, нравственность, духовность 23
- Бережная Н.М.*, *Сепиашвили Р.И.* Физиология TOLL-подобных рецепторов – регуляторов врожденного и приобретенного иммунитета 26
- Брежневский П.Д.* Физиологические аспекты молекулярной организации синапса 30
- Войтенко Н.В.* Молекулярные механизмы функционирования и регулирования глутаматных AMPA-рецепторов при хронической боли 35
- Зефиоров А.Л.* Медиаторы, эволюция представлений 37
- Иванова Л.Н.* Вазопрессин: молекулярные основы антидиуретического эффекта 39
- Кувшицкий В.А.*, *Стрижак И.В.* Поведенческие реакции крыс при аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа 42
- Лукьянова Л.Д.*, *Кирова Ю.И.*, *Сукоян Г.В.*, *Германова Э.Л.* Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии, их взаимодействие и роль в системной регуляции 44

<i>Лукьянец Е.А.</i> Роль ионов кальция в патологических состояниях нервной системы	48
<i>Мойбенко А.А.</i> Системные и молекулярно-генетические механизмы кардиопротекции	51
<i>Никольский Е.Е.</i> Потенциалзависимые кальциевые каналы разных типов в нервно-мышечных синапсах позвоночных и их вклад в модуляцию процесса нейросекреции	55
<i>Ноздрачѳв А.Д.</i> Физиологическая лаборатория императорской академии наук в истории своего возникновения и развития: Ф.В. Овсянников, И.П. Павлов	57
<i>Островский М.А.</i> Молекулярная физиология зрительного пигмента родопсина	64
<i>Романов А.И., Каллистов Д.Ю.</i> Роль системных последствий обструктивного апноэ сна в формировании кардиоваскулярной патологии	70
<i>Северин Е.С., Посыпанова Г.А.</i> Новые подходы к избирательной доставке противоопухолевых препаратов: клеточная физиология и нанотехнологии	73
<i>Donald A. Simone, Sergey G. Khasabov, David M. Cain, Darryl T. Hamamoto, and Iryna A. Khasabova</i> Changes in response properties of nociceptors and dorsal horn neurons in a murine model of cancer pain	75
<i>Соловьева О.Э., Мархасин В.С.</i> Математическое моделирование в физиологии	78
<i>Ткачук В.А., Семина Е.В., Рубина К.А., Сысоева В.Ю., Калинина Н.И., Стамбольский В.Д., Парфенова Е.В.</i> Навигационные рецепторы клеток: физиологическая роль и механизмы функционирования	80
<i>Угрюмов М.В.</i> Нейроэндокринные регуляции у взрослых мелкочитающих и в онтогенезе	84
<i>Ушаков И.Б.</i> Новый вид психофизиологического стресса на земле и в космосе: стресс смертельно опасных состояний (этиология и физиологические характеристики) . . .	86
<i>Фурдуй Ф.И., Чокинѳ В.К., Фурдуй В.Ф., Вуду Г.А.</i> Причины преждевременной общеебиологической деградации человека, пути ее предупреждения и решение проблемы здоровья с позиции санокреатологии	88
<i>Чумак А.Г., Руткевич С.А., Каравай Т.В., Люзина К.М., Альфер И.Ю.</i> Тормозные механизмы в рефлекторных реакциях симпатической нервной системы	91

**Всеукраїнська наукова конференція молодих учених
«Фізіологія: від молекул до організму» (Київ, 20-21 жовтня 2011 року)**

Молекулярна та клітинна фізіологія	95
Нейрофізіологія	105
Фізіологія вісцеральних систем	113
ЮВІЛЕЙНІ ДАТИ	
Мойбенко Олексій Олексійович (до 80-річчя з дня народження)	125
Рибальченко Володимир Корнійович (на честь 70-річчя з дня народження)	127
Лиманський Юрій Петрович (на честь 80-річчя з дня народження)	129

МЕЖДУНАРОДНАЯ АССОЦИАЦИЯ АКАДЕМИЙ НАУК
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА
ИНСТИТУТ ИММУНОФИЗИОЛОГИИ
СОЮЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЩЕСТВ СТРАН СНГ
УКРАИНСКОЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМ. П.Г. КОСТЮКА

III СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ
«ФИЗИОЛОГИЯ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА»
Посвящается памяти академика П.Г. Костюка
ЯЛТА, УКРАИНА, 1– 6 октября 2011



Платон Григорьевич Костюк
20 августа 1924 — 10 мая 2010

Украинский и советский учёный и государственный деятель. Академик НАН Украины (1969), АМН Украины (1994), АН СССР (1974, с 1991 — академик РАН), Европейской академии (1989), АН Чехословакии (1990), Венгерской АН (1990). Заслуженный деятель науки и техники Украины (2004). Лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники (1976, 1992, 2003). Лауреат Государственной премии СССР (1983). Депутат Верховного Совета УССР (1980 - 1990), председатель Верховного Совета Украинской ССР (1985 – 1990). Герой Социалистического Труда (1984). Герой Украины (2007). Директор Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины (1966-2010). Президент Украинского физиологического общества (1994 – 2010). Один из основателей Союза физиологических обществ стран СНГ и его президент (с 2005 г.)

III Съезд физиологов СНГ

Ялта, Украина

1–6 октября 2011

Союз физиологических обществ стран СНГ

Президент

П.Г. КОСТЮК

Вице-президенты

Ю.В. Наточин

Р.И. Сепиашвили

Ф.И. Фурдуй

Организационный комитет III СЪЕЗДА ФИЗИОЛОГОВ СНГ

Председатель программного комитета

А.И. ГРИГОРЬЕВ

Председатель оргкомитета

Р.И. СЕПИАШВИЛИ

Сопредседатели программного комитета

О.А. Крышталь

Ю.В. Наточин

М.А. Островский

Р.И. СЕПИАШВИЛИ

Ф.И. ФУРДУЙ

Научный секретариат

Т.А. СЛАВЯНСКАЯ

М.В. ТРЕТЬЯК

Л.Н. ШАПОВАЛ

Адрес Союза физиологических обществ стран СНГ

117513 Москва, ул. Островитянова, 4,

Институт иммунофизиологии

Тел. +7 (495) 735-1414

Факс +7 (495) 735-1441

E-mail: info@wipocis.org

cis.physiology@mail.ru

info@physiology-cis.org

WWW.PHYSIOLOGY-CIS.ORG

МЕМОРИАЛЬНЫЕ ЛЕКЦИИ

Вклад П. Г. Костюка в парадигму кальциевой сигнализации

О.А. Крышталь

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев

Идеи об особой роли кальция в биологии берут начало с XIX века, когда почти сразу после открытия кальция как неорганического элемента (Дэви, 1808) была установлена его роль в формировании костей млекопитающих, а также других минерализованных тканей, встречающихся в биологическом многообразии животного мира. Следующим этапом послужили наблюдения выдающегося английского физиолога Сиднея Рингера (S. Ringer), сделанные ближе к концу XIX века. Рингер обнаружил, что изолированное сердце лягушки намного лучше выживает, сохраняя сократительную активность, в водопроводной воде по сравнению с дистиллированной. Оказалось, что причина столь «животворного» действия воды из лондонского водопровода – высокое содержание в ней кальция (в концентрации, как выяснилось, порядка миллимоля). Таким образом, оказалось, что кальций – это не только составляющая минерализованных тканей, но и фактор, который участвует в мышечном сокращении. Следующий прорыв в понимании роли кальция случился уже в 40-х годах прошлого века, когда Л. Хейльбрам (L Heilbrunn) ввел кальций внутрь мышечных волокон через их обрезанные концы и таким образом вызвал мышечное сокращение. В 1942 году К. Бейли (K. Bailey) объяснил этот феномен, показав, что АТФ-азная активность миозина критически активируется кальцием. Дальнейшие исследования позволили первооткрывателю медиаторной роли ацетилхолина О. Леви (O. Loewy) в 1959 г.

пошутить: «Кальций – это все!» Однако чтобы установить, насколько «все» – это все, потребовалась еще пара десятилетий.

Стали умножаться данные о ключевой роли кальция в регуляции активности множества ферментов, в том числе и механизмов, управляющих клеточной смертью. Появились сведения об энергозависимом накоплении кальция в саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Почти параллельно во времени возникла концепция кальциевой проницаемости клеточных мембран, то есть участия кальция в электрогенезе и нейросекреции (в том числе и секреции нейромедиаторов). У истоков этой концепции стоят, прежде всего, имена Бернарда Каца и соавторов (B. Katz, P. Fatt, R. Miledi).

Первое прямое измерение кальциевого тока было сделано Фэттом и Гинсборгом в 1958 году на мышечных клетках ракообразного (P. Fatt and B. Ginsborg). Гигантские мышечные волокна ракообразных обладают мощной системой кальциевой проводимости и практически лишены способности генерировать натриевый потенциал действия. Это позволило С. Хагиваре (S. Nagiawara) произвести первое описание свойств кальциевой проводимости. В то же время еще А. Ходжкин (A. Hodgkin) и соавторы показали, что кальциевая проницаемость гигантского нервного волокна исчезающе мала и не способна внести сколь-нибудь заметный вклад в электрогенез, связанный с передачей нервного импульса. Перед мировой наукой встала задача

выяснить, снабжены ли нервные клетки механизмами кальциевой проводимости. Сейчас, после десятилетий развития соответствующих научных идей, этот вопрос может показаться академическим. Каждый студент-биолог может спросить: а как же можно без этой проводимости обойтись? Но необходимо было получить прямые доказательства кальциевого электрогенеза в нервных клетках, экстраполировав на этот общий случай «обычных» нервных клеток информацию, полученную на экзотических гигантских образованиях (гигантские аксоны, мышечные волокна, синапс). Не говоря уже о том, что концепция кальциевых каналов была в самом зародыше. Проявив подлинное научное дальновидение, Платон Григорьевич Костюк увлекся этой проблемой. В 1965 году П. Костюк и соавторы (В. Д. Герасимов, П. Г. Костюк и В. А. Майский) сообщили о способности некоторых гигантских нейронов пресноводных моллюсков генерировать потенциалы действия в безнатриевой среде. Возникла необходимость прямого измерения токов, отвечающих за электрогенез в этих условиях, с целью идентификации иона-носителя. Попытка решить эту проблему с применением двухмикроэлектродной фиксации потенциала на мембране гигантских нейронов моллюсков обнадежила, но не дала однозначного ответа на вопрос об участии кальция в генерации нервного импульса соматической мембраной нервной клетки. Нельзя было исключить, что входящий ионный ток, наблюдаемый при помещении окологлоточного кольца ганглиев в безнатриевый раствор, обеспечивается остатками натрия, сохраняющегося в межклеточных пространствах, огражденных соединительно-тканными оболочками. Надежда решить проблему в связи с разработкой ферментативного выделения отдельных нейронов из ганглия также не оправдалась. Оказалось, что входящий (возможно кальциевый) ток,

остающийся в безнатриевом растворе, маскируется мощным калиевым выходящим током, который лишь частично блокируется единственным существовавшим на начало 70-х годов блокатором – тетраэтил-аммонием. Для решения проблемы следовало найти новый путь. Образовавшаяся группа, занимавшаяся поиском решения, включала, кроме Платона Григорьевича Костюка, Владимира Ивановича Пидопличко и автора этих строк. Мозговой и экспериментальный штурм увенчался разработкой метода внутриклеточной перфузии или, как он «скромно» назывался в первой публикации в журнале *Nature* (1975), «метода внутриклеточного диализа». Клетка была помещена в пору, сделанную в пластике и покрытую изолирующей смазкой. Затем одна из сторон клетки («внутренняя») разрушалась скачком гидростатического давления. Убрав ионы калия из искусственной внутриклеточной среды, мы увидели, как выходящий калиевый ток постепенно исчезает. Вместо него появился очень медленный входящий ток, амплитуда которого полностью определялась концентрацией кальция во внеклеточном растворе. Можно себе представить (!!!) ликование экспериментаторов.

Проблема была решена: оказалось, что соматическая мембрана нервных клеток снабжена хорошо развитой системой кальциевой проводимости. Последующие работы, выполненные под руководством П.Г. Костюка, позволили определить важнейшие характеристики кальциевых каналов в мембране нервной клетки. Статьи, опубликованные в *Journal of Physiology (London)* в 1977 году, вошли в анналы классики цитирования (*Citation Classics*).

Последующие публикации были выполнены с использованием усовершенствованного метода внутриклеточной перфузии, который стал первым вариантом появившейся позже общеизвестной методики *patch-clamp*. Удалось сделать первое в ми-

ре описание кальциевых токов в терминах модели Ходжкина–Хаксли (m^2h), так и произвести первую регистрацию воротных токов кальциевых каналов (Nature, 1977).

Весомый вклад в парадигму кальциевой сигнализации в нервной клетке был внесен П.Г. Костюком и в последующие годы. Мировой резонанс произвели следующие достижения. В частности, определены факторы, присутствие которых в искусственной внутриклеточной среде обеспечивает функцию кальциевых каналов (знаменитый «коктейль Костюка», совместно с С.А. Федуловой и Н.С. Веселовским, 1981). С теми же соавторами, а также с Я.М. Шубой и А.Н. Савченко П.Г. Костюк был в числе первых, кому удалось показать существование нескольких типов кальциевой проводимости, чем было заложены основы современной классификации типов кальциевых

каналов (1985, 1988).

Как автор многочисленных концептуальных обзоров, основанных на успехах его лаборатории в Институте физиологии им. Богомольца, П. Г. Костюк внес неоценимый вклад в формирование парадигмы кальциевой сигнализации в нервной системе.

Мозг – уникальное устройство, в котором электрические сигналы взаимодействуют с молекулами, внося в них изменения. Изменения в молекулах приводят, в свою очередь, к изменению электрических сигналов. Ионы кальция – основной привод такого взаимодействия. Прозорливость и талант нашего Учителя позволили предвидеть важность исследований в этой области и обеспечить их успех. Вклад П.Г. Костюка в одну из важнейших проблем нейрофизиологии навсегда останется в истории науки и сердцах учеников.

Роль академика О.Г. Газенко в становлении и развитии космической физиологии и медицины

А.И. Григорьев

Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Научная деятельность академика Олега Георгиевича Газенко неразрывно связана со становлением и развитием космической физиологии и медицины.

В годы Великой Отечественной войны он служил военным врачом в военно-воздушных силах и приобрел большой практический опыт, который впоследствии пригодился ему на всех этапах его научной и прикладной деятельности. В 1946-1947 гг. О.Г. Газенко проводил научные исследования под руководством выдающегося физиолога академика Л.А. Орбели, и это во многом определило его дальнейший путь в науке.

Более 20 лет, находясь на военной службе в Институте авиационной медицины, О.Г. Газенко посвятил проблемам экстремальной и авиационной медицины, а в 50-е годы активно участвовал в медико-биологических исследованиях на высотных ракетах и спутниках, а впоследствии – в подготовке орбитальных полетов первых космонавтов.

Научные интересы О.Г. Газенко, сформированные в период 1940-60-х годов, во многом определили его последующую плодотворную деятельность в Институте медико-биологических проблем, в Академии наук и на посту Президента Российского физиологического общества и Президента Союза физиологических Обществ стран СНГ.

Начало научного пути

Первые экспериментальные исследования О.Г. Газенко выполнил в 1946-47 гг. на кафедре физиологии Военно-медицинской академии. Работая у выдающегося физиолога академика Л.А. Орбели, О.Г. Газенко познакомился с традициями его школы,

которую отличали широкий диапазон научных интересов, эволюционный подход к изучению функций организма, умение сочетать фундаментальные исследования с решением на их основе актуальных задач прикладной физиологии и медицины. На кафедре Л.А. Орбели О.Г. Газенко получил новые экспериментальные данные о влиянии гипоксии на высшую нервную деятельность, о механизмах реакций организма на кислородное голодание и на воздействие взрывной декомпрессии. Проблема гипоксии была хорошо знакома Олегу Георгиевичу, который с юных лет увлекался горным туризмом и всю жизнь сохранял любовь к горам. Впоследствии он возглавлял работы по медико-биологическому сопровождению экспедиции «Эверест-82».

Деятельность в Институте авиационной медицины

С 1947 г. О.Г. Газенко работал в Институте авиационной медицины МО, где проводил исследования в области экстремальной и авиационной медицины и физиологии военного труда, занимался проблемами высотной физиологии, разработал методы моделирования ошибочных действий летчиков в полетах, участвовал в создании и испытаниях средств медицинского обеспечения систем катапультирования.

С 1948 г. в течение ряда лет О.Г. Газенко возглавлял экспедиции в Арктику и в аридные зоны, изучая медицинские аспекты труда летного состава в неблагоприятных климатических условиях и проводил клинико-физиологические обследования испытуемых в экспериментах по выживанию в полевых условиях.

В 1955 г. начинается новый этап в деятельности О.Г. Газенко, связанный с первыми биологическими исследованиями в верхних слоях атмосферы и в космосе, цель которых состояла в решении вопроса о возможности космических полетов (КП) человека. В качестве руководителя физиологических, генетических и радиобиологических исследований, он активно участвовал в экспериментах, проводимых в полетах на высотных ракетах, спутниках Земли и кораблях-спутниках. В качестве биообъектов использовали собак, грызунов, дрозофил, семена растений, микроорганизмы, вирусы, ферменты. Основным объектом физиологических исследований были собаки. О.Г.Газенко готовил животных к полетам, анализировал экспериментальные данные, участвовал в послеполетных обследованиях и в анализе полученных данных. В 1960 г. весь мир обошла фотография О.Г.Газенко на пресс-конференции в Академии наук СССР, во время которой он демонстрировал собак Белку и Стрелку – первых животных, вернувшихся здоровыми на Землю после КП.

Результаты серии медико-биологических исследований в космосе, выполненных с участием О.Г. Газенко, позволили сделать важное заключение: «полет человека в космос будет с биологической и медицинской точек зрения безопасен для его здоровья и жизни».

В этих исследованиях О.Г. Газенко проявил себя не только как опытный физиолог-экспериментатор, но и как теоретик новой области естествознания – космической биологии и медицины. Вместе с коллегами он наметил перспективы исследований и определил их основные направления, включая оценку влияния невесомости на функциональное состояние организма, на клеточные и субклеточные структуры; создание защиты от космической радиации; биологическое обеспечение КП и проблемы экзобиологии.

О.Г. Газенко и его коллеги придавали

большое значение космическим исследованиям для развития биологических наук, считая что «развитие космической биологии послужит не только целям межпланетных путешествий и освоению человеком космоса. В перспективе космическая биология будет способствовать построению наиболее общих концепций биологии, касающихся проблемы жизни вообще».

О.Г. Газенко был непосредственным участником подготовки первых пилотируемых полетов в космос – Ю.А. Гагарина и других космонавтов. Этим полетам предшествовали глубокие исследования О.Г. Газенко и его сотрудников по изучению влияния на человека факторов КП и многочисленные испытания для обеспечения безопасности космонавтов.

В публикациях О.Г. Газенко 60-х годов отразился широкий диапазон его научных интересов. Они включают работы, посвященные физиологическим методам космической медицины, проблемам биологической телеметрии, медико-биологическим исследованиям на ИСЗ, проблемам космической биологии, физиологическим исследованиям на космических кораблях «Восток» и др.

В совместной с проф. В.Б. Малкиным книге «Жизнь и космос» (1961 г.) были изложены основные проблемы космической биологии, физиологии и медицины и подведены итоги проведенных исследований. Материалы, представленные в этой работе, включали направления: факторы космической среды и условия обитаемости в космических аппаратах, эффекты невесомости и перегрузок, искусственная сила тяжести, космическая радиация, декомпрессионная болезнь, биологические системы жизнеобеспечения, экзобиологические аспекты межпланетных полетов и др. Особое внимание уделено проблемам адаптации в КП.

Во главе Института медико-биологических проблем

В 1969 году О.Г. Газенко был назначен на

пост директора Института медико-биологических проблем (ИМБП), в котором в полной мере проявились его выдающиеся творческие и организаторские способности. Под его руководством в ИМБП развернулись исследования широкого круга проблем космической биологии и медицины. Важно было выяснить закономерности и механизмы реакций организма человека и его основных систем на воздействие невесомости и других факторов КП и совершенствовать на этой основе систему медицинского обеспечения. Большое внимание уделялось проблемам космической психологии, системам жизнеобеспечения, радиационной безопасности и биологическим исследованиям.

Уже в первых КП был выявлен ряд функциональных изменений в состоянии многих систем организма. О.Г. Газенко тщательно анализировал причины и механизмы этих изменений, искал вместе с сотрудниками способы их предотвращения и коррекции. Возникла задача совершенствования методов медицинского обеспечения и управления состоянием здоровья космонавтов в полете. Стратегический подход при ее решении заключался в анализе результатов полетных медико-биологических исследований, выяснении механизмов изменений в организме в КП, в разработке и испытаниях средств и методов профилактики в наземных модельных экспериментах и в полетах.

Создание системы профилактики.

Целенаправленная работа в этом направлении, которую возглавил О.Г. Газенко, завершилась созданием эффективного комплекса средств и методов профилактики неблагоприятных эффектов невесомости. Это достижение в 1978 г. было отмечено Государственной премией. Разработанный профилактический комплекс включал систему физических упражнений, применение нагрудных и противопере-

грузочных костюмов, средства для нормализации перераспределения жидких сред и фармакологические средства. Разработанная система профилактики открыла путь к длительным КП и послужила основой профилактики на станциях МИР и МКС.

Исследования по космической физиологии человека и другим дисциплинам.

Наибольшее внимание в своей научной деятельности Олег Георгиевич Газенко уделял космической физиологии, включая такие области как изучение закономерностей процессов адаптации к невесомости; сенсорная физиология; физиология вестибулярного аппарата; физиология сердечно-сосудистой системы в невесомости и при перегрузках; водно-солевой гомеостаз; изменения в мышцах и костной ткани в невесомости и при гипокинезии; роль фактора гравитации в физиологических реакциях.

О.Г. Газенко выдвинул гипотезу о том, при нарушении деятельности отолитового аппарата в условиях невесомости важная роль в координации движений должна принадлежать зрению. Эта гипотеза подтвердилась в дальнейших исследованиях. О.Г. Газенко совместно с проф. Я.И. Винниковым выполнил цикл исследований структуры и функции вестибулярного аппарата в условиях невесомости.

Исследования сердечно-сосудистой системы в КП, начатые О.Г. Газенко совместно с академиком В.В. Париным, заложили основы космической кардиологии. О.Г. Газенко внес значительный вклад в разработку вопросов сердечной деятельности, центрального и мозгового кровообращения и микроциркуляции в условиях КП.

Учитывая сложность человеческой психики в условиях КП, О.Г. Газенко выступал за научный подход к планированию режима труда и отдыха космонавтов, оптимизации их профессиональной

деятельности, к психологическому отбору и подготовке космонавтов, содействовал созданию системы их психологической поддержки.

О.Г. Газенко вместе с проф. Е.Я. Шепелевым и Г.И. Мелешко разрабатывал принципы построения биологических систем жизнеобеспечения в КП, поддерживал исследования по использованию высших и низших растений и животных для создания оптимизированной среды обитания.

По инициативе О.Г. Газенко в 1971 г. в ИМБП была создана лаборатория барофизиологии для решением теоретических и практических проблем гипербарической физиологии, которая в 1985 г. стала центром в стране по медицинскому обеспечению глубоководных работ.

Исследования по программе БИОН.

Выдающимся достижением О.Г. Газенко и его коллег является созданная под его руководством программа «БИОН», для проведения исследований по гравитационной биологии и физиологии. В исследованиях участвовали ученые научных учреждений России и зарубежных стран. В полетах на 11 биоспутниках продолжительностью от 5 до 22 сут с 1973 по 1997 гг. изучали влияние космических факторов на биологические объекты различного эволюционного уровня. Были получены следующие результаты: отсутствие повреждающего влияния невесомости на цикл клеточного деления, генетический аппарат, процессы эмбрио- и онтогенеза; определены функциональные, морфологические и метаболические изменения в мышцах, костях, миокарде и эндокринной системе млекопитающих под влиянием невесомости, изучены механизмы полученных изменений и установлен их обратимый характер; показана роль искусственной силы тяжести в предотвращении в условиях невесомости ряда неблагоприятных изменений; выяснены механизмы развития

«болезни движения» и нарушений сенсорного регулирования; испытаны компоненты электростатической защиты от радиации и изучено комбинированное воздействие на организм радиации и невесомости.

Результаты исследований по программе «БИОН» внесли существенный вклад в развитие гравитационной биологии и физиологии способствовали усовершенствованию медицинского обеспечения длительных КП полетов человека.

О.Г. Газенко всегда отличало умение видеть перспективы развития пилотируемой космонавтики и космической биомедицины. Он глубоко интересовался медико-биологическими проблемами пилотируемых межпланетных экспедиций и был активным сторонником проекта «Марс-500» по моделированию экспедиции на Марс.

Научные публикации, общественная и международная деятельность.

О.Г. Газенко оставил богатое научное наследие. Он является основателем научной школы «Космическая физиология и медицина». Ему принадлежит более 250 научных публикаций. На протяжении многих лет он был главным редактором журналов «Космическая биология и медицина» и «Успехи физиологических наук» и соредактором многотомных выпусков «Проблемы космической биологии», двух фундаментальных российско-американских изданий «Космическая биология и медицина». Олег Георгиевич был блестящим знатоком истории космонавтики, автором увлекательных публикаций по этой тематике, в том числе интереснейшей книги «Притяжение космоса», подготовленной им совместно с В.Ю. Шаровым.

С 1984 по 2004 г. О.Г. Газенко был Президентом Российского физиологического Общества. На этом посту он объединял и направлял усилия физиологов страны на решение актуальных научных проблем.

Олег Георгиевич был инициатором объединения физиологов стран СНГ, первым Президентом Союза физиологических обществ стран СНГ, активно участвовал в подготовке двух съездов физиологов стран СНГ.

О.Г. Газенко удостоен Государственной и Демидовской премий, Золотой медали РАН им. И.П. Павлова. Он был действительным членом Российской академии наук, Международной академии астронавтики, Американской Ассоциации авиакосмической медицины, почетным членом Российской академии космонавтики им. К.Э. Циолковского, Американского и Польского физиологических обществ, почетным профессором Райтвского университета (США), лауреатом премии Ассоциации исследователей космоса, членом ордена Дельфина (за значительный вклад в международное интеллектуальное сотрудничество). Олег Георгиевич награжден высокими правительственными наградами: орденом Ленина, Октябрьской Революции, «Знак почета», Красной звезды (трижды), а также международными премиями Д. и

Ф. Гуггенхеймов, А. Эмме, Л. Бауэра, Р. Ловлесса, Н. Пейса. Он был удостоен золотой и серебряной медалей им. Я. Пуркинью Чехословацкой академии наук, золотой медали им. Я. Янсениуса (Словакия). О.Г. Газенко имеет исключительные заслуги в развитии международного сотрудничества в рамках программы «Интеркосмос», российско-американской Рабочей группы по космической биологии и медицине и сотрудничества с космическими агентствами Европы, Канады и Японии.

О.Г. Газенко отличало глубокое понимание важности для человечества космических исследований. В докладе на Международном симпозиуме, посвященном памяти академика Н.М. Сисакяна, он сказал: «Есть основания считать, что дальнейшее изучение и освоение космического пространства, может быть, один из важнейших путей выживания и устойчивого развития цивилизации».

Научные труды Олега Георгиевича Газенко имеют непреходящее значение для биомедицинских космических исследований.

Водно-солевой гомеостаз – роль рефлексов, гормонов, инкретинов, аутокоидов

Ю. В. Наточин

Учреждение Российской академии наук, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; natochin@iephb.ru

12 ноября 1904 г. в Нобелевской речи И.П.Павлов выделил проблему изучения физиологических регуляций – «физиологическую основу тончайшей реактивности живой субстанции, тончайшей приспособляемости животного организма» [4, с. 309]. Анализ физиологической деятельности многоклеточных организмов позволяет различать два типа процессов: один обеспечивает поведенческий ответ организма на стимул внешней среды или произвольный акт особи, второй – у той же особи направлен на сохранение физико-химических параметров жидкостей внутренней среды, обеспечивает гомеостаз. Реакция особи в окружающем мире будет тем корректнее, точнее, чем строже, стабильнее поддерживаются параметры жидкостей внутренней среды [1, 3].

Внутренняя среда, водно-солевой гомеостаз. К жидкостям внутренней среды относятся кровь, лимфа, внеклеточная жидкость, они обеспечивают условия для нормального функционирования клеток различных органов и систем. Особо строго регулируемые физико-химические параметры включают осмоляльность, концентрацию отдельных ионов, глюкозы, рН. Создание собственной регулируемой системы жидкостей внутренней среды произошло на достаточно высоком уровне эволюции многоклеточных организмов. Обсудим вопрос о физиологических механизмах регуляции на примере осморегуляции, поскольку осмоляльность – один из самых жестко стабилизированных параметров крови.

В крови у человека осмоляльность поддерживается строго в узком диапазоне 285-288 мосм/кг H_2O ; её колебания составляют 1%, в то время как для K^+ они достигают 6 %. Лишь при питье больших объемов воды осмоляльность может снижаться до 280 мосм/кг H_2O , а при значительном обезвоживании организма она возрастает до 295 мосм/кг H_2O . Кроме потребления жидкости изменения физико-химических параметров внутренней среды зависят от питания, больших энергозатрат, усиленного потоотделения.

Осморегулирующий рефлекс. Система стабилизации физико-химических параметров жидкостей внутренней среды сформировалась в ходе эволюции животных, поскольку от околоклеточной среды, в частности от её осмоляльности, зависит объем каждой клетки организма, включая клетки мозга. Понимание механизмов осморегуляции постепенно обретало современные очертания. В 1947 г. E. Verney обосновал гипотезу о наличии осморцепторов в гипоталамической области. В начале 50-х гг. А.Г. Гинецинский высказал предположение о широком представительстве осморцепторов в различных органах. Стимуляция осморцепторов служит ответом на сдвиги осмоляльности внеклеточной жидкости и возникает осморегулирующий рефлекс. Нейрогипофиз реагирует на это изменением секреции вазопрессина, в процесс включаются почки, изменяется реабсорбция воды, что обеспечивает восстановление осмоляльности крови до нормы. После питья воды какое-

то время осмоляльность крови у человека может быть ниже нормы, что при значительной степени отклонения ухудшит работу клеток организма. Можно ли предотвратить это изменение и каким образом?

Условный рефлекс. При питье воды условный рефлекс способствует предвосхищению события и такому преобразованию системы регуляции, при котором почки начинают экскретировать жидкость вскоре после её поступления в организм. Это смягчает влияние возмущающего фактора, которым служит пресная вода.

Обычно человек питается 3 раза в сутки, всасываемые вещества депонируются для последующего их расходования в остальное время суток. После расщепления в кишечнике белков, липидов и углеводов пищи до аминокислот, моносахаров, жирных кислот, они, а также вода, ионы всасываются в кровь и используются или удаляются, депонируются. В это время достаточно резко меняется состав крови. Это нежелательное явление, требуется регуляции основных физико-химических параметров жидкостей внутренней среды. Был бы целесообразен плавный, постепенный процесс, чтобы минимизировать изменения концентрации веществ в плазме крови. При питье воды, всасывании больших количеств глюкозы возможна гипоосмия или гипергликемия. В случае глюкозы стабилизация её концентрации в крови зависит от соотношения секреции инсулина и глюкагона, ГЛП, а при выраженной гипергликемии включается почка, удаляя избыток глюкозы, что приводит к глюкозурии.

Вазопрессин. Реакция осморорецепторов или волюморорецепторов при потреблении воды или соленой пищи сопровождается активацией осморегулирующего рефлекса, изменением секреции вазопрессина, деятельности почек с постепенной экскрецией почкой соответствующих веществ, которые в избытке поступили в кровь.

Основным регулятором водного баланса является вазопрессин (CysTyrPheGlnAsn-CysProArgGlyNH₂), подобные ему нонапептиды выявлены у различных групп живых существ. В течение многих десятилетий обсуждался вопрос о влиянии гормонов нейрогипофиза на выделение почкой не только воды, но и ионов, но он не был решен. В наших работах совместно с проф. М.И.Титовым были синтезированы и исследованы новые аналоги этих пептидов, что позволило получить высокоактивные соединения, способные селективно изменять экскрецию почкой крыс воды, ионов Na или K. Такие эффекты были обусловлены заменами аминокислот в 3, 4 и 8 положениях (в формуле эти аминокислоты выделены). При различных типах активности аналога пептида отличаются V-рецепторы и вторичные мессенджеры. Совместно с чл.-корр. РАН В.И.Цетлиным и его сотрудниками показана корреляция между энергией докинга V₂-рецепторов и реабсорбцией осмотически свободной воды в почке крыс *in vivo*.

Инкретин. Известно, что в клетках желудочно-кишечного тракта образуются физиологически активные вещества, которые влияют на пищевое поведение. После поступления углеводов пищи в кишечник и всасывания его клетки начинают секрецию ГЛП, он стимулирует секрецию инсулина на фоне повышающейся концентрации глюкозы в крови. Возникло предположение о существовании физиологически активных веществ, способных ускорить выведение тех веществ, которые нарушили состав внутренней среды. Одним из таких пептидов является эксенатид, миметик ГЛП – HisGlyGluGlyThrPhe-ThrSerAspLeuSerLysGlnMetGluGluGluAlaValArgLeuPheIleGluTrpLeuLysAsnGlyGlyProSerSerGlyAlaProProProSer-NH₂.

Эксперименты с инъекцией этого пептида и его новых синтезированных аналогов крысам вместе с водной нагрузкой,

показали, что выделение осмотически свободной воды почкой начинается раньше, введенная жидкость экскретируется быстрее, восстанавливаются физико-химические параметры крови [2]. Тем самым, нами получены экспериментальные данные, что реализуется еще один сценарий работы системы регуляции водно-солевого обмена и обеспечивается более быстрое восстановление почкой состава жидкостей внутренней среды. Таким образом, инкретины могут рассматриваться как своеобразный защитный механизм следующего уровня после условного рефлекса для стабилизации состава жидкостей внутренней среды.

Аутокаиды. В 90-е гг. нами выявлена роль нового пласта регуляции водного обмена, связанного с участием аутокаидов. Это, возможно, эволюционно наиболее древний тип регуляции, он функционирует у человека, его дисфункция приводит к появлению ряда форм патологии. Ранее регуляцию водного обмена рассматривали как функцию действия одного гормона – АДГ, но становится очевидным, что функционирует пара веществ – вазопрессин и аутокаид [7]. Эти данные показывают значение в регуляции местно образующихся физиологически активных веществ. В процессе эволюции образование физиологически активных веществ, определяющих отношение организма к воде и еде, было сосредоточено не в одном эндокринном органе, а сформировалось в клетках эффекторных органов, связанных с осуществлением этих функций. В этом случае, когда эта функция передана каждой клетке, резко возрастает надежность всей системы.

Итоги. Адаптация особи, реакция на стимул наиболее эффективно могут быть осуществлены только при стабильности внутренней среды, что обеспечивается совокупным участием регуляторных физиологических систем. Теоретическое значение этих данных состоит в обосновании

роли в стабилизации водно-солевого обмена наряду с участием нервной системы и гормонов, также инкретинов и аутокаидов. Этот новый обнаруженный в нашей лаборатории способ регуляции водно-солевого обмена ускоряет включение почек в стабилизацию состава внеклеточной жидкости, что уменьшает изменение состава крови при потреблении воды и солей. Прикладное значение: 1) синтезированы аналоги нонапептидов по натрий-уретическому действию более чем в 50000 раз эффективнее фуросемида [5]; 2) выявлена роль аутокаидов в генезе ночного энуреза у детей и разработана на этой основе схема эффективного сочетания нонапептидов и блокаторов синтеза аутокаидов в лечении недуга, которым в некоторых странах страдает до 28 % детей [6]; 3) выявлена роль инкретинов [2] и синтезированы их новые аналоги для возможной коррекции нарушения физико-химических параметров внутренней среды.

Искренне благодарю Е.И.Шахматову, А.В.Кутину, А.С.Марину, А.А.Кузнецову, М.И.Титова, совместно с которыми была выполнена эта работа, она поддержана РФФИ (№ 11-04-01636), программой «Ведущие научные школы» (НШ-65100.2010.4), ОБН РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баркрофт Дж. Основные черты архитектуры физиологических функций. М.-Л.: Биомедгиз. 1937. 319 с.
2. Марина А.С., Кутина А.В., Наточин Ю.В. ДАН, 437 (4): 1-3. 2011.
3. Наточин Ю.В. Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 88 (2) : 129-143. 2002.
4. Павлов И.П. Избранные труды. М. Медицина. С. 293 – 309. 1999.
5. Karavashkina T.A., Kutina A.V., Shakhmatova E.I., Natochin Y.V., Gen. Comp. Endocrinol., 170(3):460-467. 2011.
6. Natochin Y.V., Kuznetsova A.A. Pediatr. Nephrol. 14: 42-47. 2000.
7. Natochin Yu.V., Parnova R.G., Shakhmatova E.I. et al. Eur. J. Physiol. 433:136-145. 1996.

От теории клеточной патологии Р. Вирхова к фагоцитарной теории И.И. Мечникова

Р.И. Сепиашвили

Институт иммунофизиологии, Москва, Россия

Почти 130 лет отделяют нас от наблюдения И.И. Мечникова о взаимоотношениях шипа розы, погруженного в прозрачное тело личинки морской звезды, и ее блуждающих клеток. Истолкование этого феномена породило идею фагоцитоза (1883), об исторической судьбе которого можно сказать словами А.М. Безредки: «Как всякая истина, идея о фагоцитозе пережила автора. Она продолжает будить мысли и зарождать новые исследования» («История одной идеи», 1926, с. 3).

Созданное гением И.И. Мечникова учение о фагоцитозе прошло славный путь от «восточной сказки» до всемирного признания. Историческая заслуга «...великого И.И. Мечникова, создавшего первую теорию иммунитета – фагоцитарную теорию, и обосновавшего наличие у высших организмов специализированной иммунной системы...» (Р.В. Петров «Иммунология» М., 1982. с. 5), не вызывает сомнений.

Из трех великих открытий, революционизировавших естествознание и мировоззрение того времени, одно – закон сохранения и превращения энергии – относится к области физики и имеет универсальное естественнонаучное значение, а два других – клеточная теория и эволюционное учение – фундаментально характеризуют биологическую форму движения материи. Первый этап синтеза биологии и медицины был осуществлен трудами Р. Вирхова на основе взаимосвязи клеточной теории и патологии человека.

Более 150 лет прошло с момента выхода фундаментального труда Рудольфа Вирхова «Клеточная патология» (Die

Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebslehre), в котором и была сформулирована его знаменитая клеточная теория.

Однако клеточной патологии Вирхова была присуща и принципиальная историческая ограниченность, обусловленная как научными, так и методологическими причинами. Само содержание понятия *клетка* было тогда чрезвычайно узким. Хотя в своей книге Вирхов рассуждает о питании, образовании, отправлениях, возбуждении и даже о деятельности частей тела, он оказался не в состоянии понять – и в этом его историческая ограниченность – активную роль клеток в жизни здорового и больного организма. Для Вирхова клетка является пассивным субстратом болезненного процесса, она только претерпевает болезненные изменения в результате повреждения или ослабления питания, но никогда не реагирует на воздействие того или иного фактора. Сама идея клеточной реакции и, тем более, целесообразной клеточной реакции была совершенно чужда Вирхову. Можно смело сказать, что клетка Рудольфа Вирхова не наделена полноценной жизнью, она образуется, существует, питается, подвергается пассивным изменениям, но не ощущает, не реагирует, словом не действует и уж, конечно, не взаимодействует с другими клетками.

Великая революция, которую Дарвин совершил в биологии, состоит в создании научно обоснованной теории происхождения и эволюции живых организмов. На основе дарвиновского учения категории «приспособление» и «борьба за существо-

вованье» стали идейной основой второго по времени синтеза биологии и медицины, который произошел путем воздействия дарвинизма на медицину или, конкретнее, на учение о воспалении и бактериальной этиологии инфекционных заболеваний. Осуществление этого синтеза в январе 1883 года стало звездным часом выдающегося русского зоолога и дарвиниста И.И. Мечникова, посвятившего первые 20 лет своей научной деятельности изучению беспозвоночных.

Можно выделить дофагоцитарный этап исследования внутриклеточного пищеварения, основными вехами которого были две публикации 1877 года. В отправленной 3 (15) апреля из Одессы первой статье «Исследования о губках» он смело опровергает представления корифея биологии того времени Эрнста Геккеля о том, что пищеварение у губок осуществляется исключительно энтодермой. В результате тщательного исследования четырех видов губок Мечников устанавливает попадание внутрь клеток паренхимы кармина и пищевых частиц, которые затем расщепляются и растворяются. Здесь же он указывает, что своим паренхимным пищеварением губки приближаются к бескишечным ресничным червям и более первобытным миксомицетам. Фактических данных об этих организмах в первой статье нет и термин «внутриклеточное пищеварение» еще не фигурирует. Однако именно эта статья знаменует начало интенсивной работы Мечникова по внутриклеточному пищеварению, которое именуется пока паренхимным.

Во второй статье «О пищеварительных органах пресноводных турбеллярий», отправленной 3 (15) сентября 1877 года из с. Поповка, где он завершил эту работу, Мечников сообщает о переваривании пищевых частиц внутри плазмодия миксомицета. Но главное в другом. Мечников доказывает, что прямокишечные и трех-

ветвистые турбеллярии являются настоящими паренхиматиками, которые переваривают принятую пищу внутри амебообразнодвигающихся клеток с тупыми протоплазматическими отростками, участвующими в поедании пищи. Этим клеткам Мечников дает название амебовидного эпителия. Отмечено, что и среди турбеллярий, имеющих обособленный кишечник, есть животные, воспринимающие пищу наподобие паренхиматиков.

В этой статье впервые раскрывается важнейшее и до того неизвестное свойство клеток, осуществляющих паренхимное пищеварение, – их способность к самостоятельному передвижению к пищевым частицам. Более того, экспериментально подтвержденная идея паренхимного, фактически внутриклеточного, пищеварения получает здесь свое дальнейшее развертывание, поскольку оно трактуется уже «...как основное сходство между низшими представителями двух исходных типов многоклеточных животных», то есть червей и кишечнополостных; к последним, как мы помним, тогда относили губок. Хотя сам термин еще не введен, есть все основания считать, что открытие внутриклеточного пищеварения как филогенетически исходного типа питания многоклеточных сделано Мечниковым в течение апреля–сентября 1877 года, когда он находился в Одессе и с. Поповка.

В итоге проведенных к концу 1878 года исследований Мечников формулирует понятие «паренхиматозного способа переваривания» (то есть переваривания внутри меток или же проникновения в них пищевых веществ), который наблюдался им помимо простейших только у турбеллярий, – самых низших червей и губок, которых Мечников уже отделяет от кишечнополостных и рассматривает как гораздо более низшую ветвь многоклеточных. Попытка обнаружить такой способ пищеварения у их ближайших родичей, – кишечнополостных,

несмотря на многократные пробы, пока не удалась.

Очевидно, именно это является причиной совершенно предположительной формы, в которой Мечников высказывает свои филогенетические построения. Он рассматривает их не «как обоснованную теорию, но лишь как программу к ряду исследований, которые, может быть, когда-нибудь послужат поводом к построению теории».

Термин «внутриклеточное пищеварение» у Мечникова появляется впервые в статье «О внутриклеточном пищеварении у кишечнорастных», отправленной из Италии 24 апреля 1880 года и опубликованной в этом же году в журнале «*Zoologischer Anzeiger*». В ней Мечников установил при кормлении кармином факт внедрения твердых пищевых частиц в клетки энтодермы у гидрополипов, гидромедуз, сифонофор и актиний. У гребневиков (их тогда относили к кишечнорастным) захваченная пища проникает в блуждающие клетки мезодермы, что напоминает Мечникову такое же соотношение у губок.

Обнаружение внутриклеточного пищеварения у представителей главных групп кишечнорастных позволяет Мечникову обобщить все полученные им результаты. Он приходит к обоснованному заключению, что «внутриклеточное пищеварение составляет первобытное явление у многоклеточных и было правилом также у предков последних». Этот вывод, по Мечникову, имеет два следствия: во-первых, позволяет считать особую пищеварительную полость у многоклеточных вторично приобретенным образованием, поскольку для внутриклеточного пищеварения она не нужна; во-вторых, объясняет только что обнаруженное Крукенбергом отсутствие секреции пищеварительных ферментов у кишечнорастных.

Таким образом, в работах Мечникова 1878–1880 гг. понимание внутриклеточного

пищеварения не только как филогенетически исходного типа питания, но и как процесса, определившего ранние этапы исторического развития многоклеточных получило свое окончательное обоснование.

Дофагоцитарный этап исследования внутриклеточного пищеварения завершился статьей, опубликованной Мечниковым в журнале «*Zoologischer Anzeiger*» в 1882 году под названием «К учению о внутриклеточном пищеварении у низших животных». В статье нашел отражение большой интерес, который возник к этой проблеме у зоологов после систематических работ Мечникова. Из новых данных здесь сообщается о наблюдении с начала до конца процесса поглощения и переваривания пищи клетками энтодермы одной особи у молодых гребневиков. Интересен не известный ранее факт образования из клеток энтодермы плазмодиев (многоядерных образований) вокруг поглощенных пищевых частиц крупного размера.

Следующая работа Мечникова «Исследования о внутриклеточном пищеварении у беспозвоночных», отправленная из Ривы (Италия) 22 мая 1883 года и опубликованная в «*Arbeiten a. d. Zool. Inst. zu Wien*» и в 1884 году «Русской медицине», знаменует начало фагоцитарного этапа в исследовании внутриклеточного пищеварения, когда оно выступает уже в совершенно новом качестве, выходя за пределы процесса питания как такового.

В методологическом и историко-научном отношении важно, что само открытие фагоцитоза и формулировка основных положений о целебной (фагоцитарной) системе организма человека и высших животных было сделано преимущественно теоретическим путем. При микроскопическом наблюдении за подвижными мезодермальными клетками личинки морской звезды в январский день 1883 года Мечникова, как он сам вспоминал, «сразу осенила новая мысль, ... что подобные клетки

должны служить в организме для противодействия вредным действиям». Хотя Мечников давно наблюдал включение в организм и переваривание в нем посторонних частиц клетками мезодермального происхождения, но мысль о том, что этот процесс может быть защитным, по-видимому, не приходила ему в голову, а явилась, как пишет он в своем весьма «остросюжетном» воспоминании, совершенно неожиданно. «В чудной обстановке Мессинского пролива, отдыхая от университетских передраг, я со страстью отдавался работе. Однажды, когда вся семья отправилась в парк смотреть каких-то удивительных дрессированных обезьян и я остался один над своим микроскопом, наблюдая за жизнью подвижных клеток у прозрачной личинки морской звезды, меня... осенила новая мысль. Мне пришло в голову, что подобные клетки должны служить в организме для противодействия вредным деятелям. Чувствуя, что здесь кроится нечто особенно интересное, я до того взволновался, что стал шагать по комнате и даже вышел на берег моря, чтобы собраться с мыслями. Я сказал себе, что если мое предположение справедливо, то заноза, вставленная в тело личинки морской звезды, не имеющей ни сосудистой, ни нервной системы, должна в короткое время окружиться налезшими на нее подвижными клетками, подобно тому как это наблюдается у человека, занозившего палец. Сказано – сделано. В крошечном садике при нашем дворе, в котором несколько дней перед тем на мандариновом деревце была устроена детям рождественская «елка», я сорвал несколько розовых шипов и тотчас вставил их под кожу великолепных, прозрачных, как вода, личинок морской звезды. Я, разумеется, всю ночь волновался в ожидании результата – и на другой день рано утром с радостью констатировал удачу опыта. Этот последний и составил основу теории фа-

гоцитов, разработке которой были посвящены последующие 25 лет моей жизни». Возникшая в результате озарения аналогия между предполагаемым окружением занозы, «налезшими на нее подвижными клетками у морской звезды, не имеющей ни сосудистой, ни нервной системы», и известным еще Вирхову накоплением лейкоцитов (также мезодермальных по происхождению) в очаге воспаления у человека была на следующее утро подтверждена единственным опытом, который и «составил основу теории фагоцитов».

По предложению профессора зоологии Венского университета Карла Клауса (C. Claus) и его сотрудников К. Гроббена (K. Grobben) и К. Грейдер (R. Heider), которым И.И. Мечников рассказал о своем открытии, клетки-защитники были названы фагоцитами (от греч. phagein – пожирать и cytos – клетка), а само явление – фагоцитозом.

Не следует однако полагаться на скромность Мечникова. Можно смело утверждать, что основу фагоцитарной теории образует отнюдь не удача этого опыта, а гениальное прозрение Мечникова, сумевшего умозрительным путем установить глубокую внутреннюю связь между столь разнородными процессами в столь далеких друг от друга организмах, как морская звезда и человек. «Из всех признаков, отличающих гениальность, два, кажется, являются наиболее показательными – это, во-первых, способность охватывать и объединять широкие области знания и, во-вторых, способность к резким скачкам мысли, к неожиданному сближению фактов и понятий, которые для обыкновенного смертного кажутся далеко стоящими друг от друга и ничем не связанными, по крайней мере до того момента, когда такая связь будет обнаружена и доказана» (Л.А. Чугаев). Эти черты были в полной мере присущи И.И. Мечникову, осуществившему синтез медицины и дарвиновской

биологии путем сближения столь далеких областей научного знания, как патология человека и зоология беспозвоночных.

Органичный сплав каких факторов образовал основу мечниковского озарения в январе 1883 года? Среди них можно выделить следующие:

1. Социальная важность борьбы с инфекционными болезнями и необходимость создания научной теории иммунитета в эпоху открытия бактериальной этиологии распространенных заболеваний.

2. Наличие в научном кругозоре Мечникова, начиная с 1878 года, интереса к бактериальным болезням беспозвоночных.

3. Использование в качестве объекта живых беспозвоночных, обеспечивающее непосредственное видение процесса, чего были лишены медицинские бактериологи и патологи, наблюдавшие отдельные разрозненные «кадры». Последние могли быть реконструированы в процесс только при теоретическом допущении единственно правильного вектора.

4. Мастерское владение Мечниковым принятого в эволюционной морфологии беспозвоночных способа теоретизирования, состоящего в моделировании филогенеза по данным онтогенеза. В основе этого способа лежит систематический перенос и модификация «сегодняшних данных» в далекое прошлое с целью реконструкции происходивших тогда процессов. Иными словами, это способность и постоянная готовность к сближению весьма далеких фактов и понятий.

С другой стороны, существенно, что в первом спонтанном варианте фагоцитарной гипотезы защитная роль подвижных клеток формулируется в чрезвычайно общем виде: «противодействие вредным деятелям». Не упоминаются ни микробы, ни внутриклеточное пищеварение. Таким образом, мысль Мечникова идет от общего к частному и ее можно рассматривать как гипотетико-дедуктивный путь развертывания

научного знания, который является одним из видов восхождения от абстрактного к конкретному. Исходной абстракцией Мечникова была амебообразная клетка паренхимного мезэнтобласта, существование которой он ранее постулировал у своей паренхимеллы – гипотетического предка многоклеточных.

Эмпирическое обоснование фагоцитарной гипотезы, которым Мечников занимался в Мессине с января по апрель 1883 года, состояло исключительно в наблюдениях и экспериментах на беспозвоночных. Результаты этой работы, изложенные в статье «Исследования о внутриклеточном пищеварении у беспозвоночных», которая была опубликована на немецком и русском языках соответственно в 1883 и 1884 годах, следует подразделить на эмпирически обоснованные закономерности и теоретическое обобщение. К первым принадлежат доказательства: (а) способности мезодермальных блуждающих клеток к поглощению и перевариванию твердых пищевых частиц; (б) поедания мезодермальными клетками материала, возникшего в самом организме и в определенный момент ставшего излишним; (в) слияния блуждающих мезодермальных клеток в многоядерные плазмодии вокруг значительных по объему инородных тел; (г) поглощения и переваривания посторонних веществ, в том числе чужеродных эритроцитов и, что особенно важно, бактерий и их спор; (д) способности подвижных мезодермальных клеток к различению того или иного поглощаемого материала, то есть, говоря современным языком, способности к клеточному узнаванию.

В результате последующих пяти лет целенаправленной работы Мечникову удалось эмпирически обосновать фагоцитарную гипотезу применительно к позвоночным. Многообразные эксперименты и наблюдения за естественными и патологическими процессами доказали, что

целебная и профилактическая роль фагоцитов является непреложным законом для всего животного царства, включая человека. Представления о целебной фагоцитарной системе были расширены включением в нее миндалин и других «лейкоцитарных желез», то есть солитарных и агрегированных фолликулов и всей диффузной лимфоидной ткани дыхательных путей и пищеварительного тракта.

Выяснив биологический смысл воспаления, состоящий в противодействии фагоцитов любому чужеродному внедрению, а также в уничтожении ослабленных или мертвых тканей, Мечников впервые внес в медицинское мышление понятие о целесообразной реакции клеток макроорганизма, направленной на преодоление болезнетворного фактора. Так дарвиновская концепция приспособления и борьбы за существование была впервые перенесена на клеточный уровень и трансформирована в теорию активной защиты организма с помощью специализированной целлюлярной системы. Более того, фагоцитарная теория принципиально преобразовала содержание понятия «клетка». В отличие от пассивно страдающей клетки Вирхова, клетка Мечникова ощущает, реагирует, целесообразно действует и, наконец, взаимодействует с другими клетками. Эта совершенно новая постановка вопроса, завоевавшая в результате ожесточенной идейной борьбы всеобщее признание, повела к коренному перевороту в медико-биологическом мышлении и стала основным теоретическим положением современной медицины. Мечниковский синтез дарвинизма и патологии человека по его методологическому значению и принципиальной новизне эмпирических данных следует с полным основанием рассматривать как научную революцию в медицине.

Фагоцитарная теория И.И. Мечникова – одно из важнейших достижений биологии и медицины XIX века – явилась результатом

обобщения достижений зоологии низших беспозвоночных (внутриклеточное пищеварение) и человека (бактериальная этиология инфекционных болезней и учение о воспалении). Это обобщение было произведено на идейной основе дарвиновской теории целесообразности и борьбы за существование и его следует рассматривать как мечниковский синтез биологии и медицины, неразрывно связанный с предшествующими трудами Дарвина, Пастера и Вирхова.

Фагоцитарная теория впервые внесла в биологическое и медицинское мышление понятие о целесообразной реакции клеток организма человека и высших животных, направленной на преодоление вредных факторов в виде микроорганизмов. Так, дарвиновская концепция приспособления и борьбы за существование была спроецирована на клеточный уровень и трансформирована в теорию активной защиты организма с помощью специализированной целлюлярной системы. Тем самым был открыт и обоснован клеточный принцип иммунологии, выдающееся значение которого подтверждено бурным развитием этой науки в последней трети XX века. Принципы фагоцитарной теории в результате ожесточенной борьбы обрели общее признание и обусловили коренной теоретический переворот в биологии и медицине, который с полным основанием следует рассматривать как научную революцию в этих сферах знания.

Итак, И.И. Мечников, не будучи по образованию врачом, совершил революционный переворот в медицине, значение которого отнюдь не исчерпывается фагоцитарной теорией. Мечниковский синтез медицины и биологии обусловил качественные сдвиги в медицинском мышлении, покончил с гипнотическим влиянием вирховского механицизма и чисто эмпирического подхода, дал толчок к переходу на позиции, свойственные дарвинизму.

Неоценимая заслуга И.И. Мечникова перед медицинской наукой заключается и в том, что он первый доказал наличие в организме специализированной системы, физиологическая функция которой состоит в противодействии вредным агентам, и заложил основы изучения ее на клеточном уровне, создав знаменитую фагоцитарную теорию иммунитета.

Следует подчеркнуть и другую историческую заслугу И.И. Мечникова в науке. Благодаря ему явление фагоцитоза стало предметом изучения, а затем и методом для исследования функций фагоцитирующих клеток, одной из которых является их защитная «иммунная» функция. Его идеи о фагоцитарной защите нашли блестящее подтверждение и развитие в лекциях о «Сравнительной патологии воспаления» (1892), что позволяет считать И.И. Мечникова «пионером» сравнительного метода изучения в биологии и патологии.

До И.И. Мечникова не существовало теоретической иммунологии. Он по праву считается основателем современной фундаментальной иммунологии. Им впервые были четко сформулированы определения естественного и приобретенного иммунитета, проведен сравнительный анализ защитной роли фагоцитирующих клеток. Им же были намечены основные пути внедрения в медицинскую практику достижений теоретической иммунологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мечников И.И. Академическое собрание сочинений. – М.: Медгиз, 1947–1955.
2. Мечников И.И. Этюды оптимизма. – М., 1987. – С. 5.

3. Ноздрачев А.Д., Марьянович А.Т., Поляков Е.Л., Сибаров Д.А., Хавинсон В.Х. Нобелевские премии по физиологии или медицине за 100 лет // СПб.: Гуманистика, 2003. – 752 с.
4. Сепиашвили Р.И. Лауреаты Нобелевской премии в области физиологии и медицины. – М.: Медицина-Здоровье, 2005. – 34 с.
5. Сепиашвили Р.И. Основы физиологии иммунной системы. – М.: Медицина-Здоровье, 2003. – 240 с.
6. Сепиашвили Р.И. Ранняя фагоцитарная реакция нейтрофильных лейкоцитов: Характеристика и механизмы развития по данным филогенеза и неонатального антогенеза. – В кн.: Функция иммунной системы в инфекционном и неинфекционном процессе. Молекулярная биология бактерий. – Краснодар, 1984. – С. 127–138.
7. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Физиология естественных киллеров. – М.: Медицина-Здоровье, 2005. – 455 с.
8. Ульянкина Т.И. Зарождение иммунологии. – М.: Наука, 1994. – С. 97.
9. Цынкаловский Р.Б. Учение о фагоцитозе и развитии системного метода в иммунологии. – В кн.: Функция иммунной системы в инфекционном и неинфекционном процессе. Молекулярная биология бактерий. – Краснодар, 1984. – С. 16–23.
10. Шабров А.В., Князькин И.В., Марьянович А.Т. Илья Ильич Мечников. Энциклопедия жизни и творчества. – СПб: ДЕАН, 2008. – 1264 с.
11. Шубич М.Г. Дофагоцитарный этап развития учения о внутриклеточном пищеварении. – В кн.: Вопросы истории естествознания и техники. – 1999. – С. 40–46.
12. Шубич М.Г. «Методологический анализ открытия фагоцитоза. – В кн.: Функция иммунной системы в инфекционном и неинфекционном процессе. Молекулярная биология бактерий. – Краснодар, 1984. – С. 9–16.
13. Шутько Л.В., Ансерова Н.М. Мечников Илья Ильич, 1845–1916. Материалы к биобиблиографии ученых. Биологические науки. Общая биология». – Вып. 2 (М.: Наука), 2005. – 273 с.
14. Cooper E. From Darwin and Metchnikoff to Burnet and Beyond. Trends in Innate Immunity, 2008. – P. 1–11.
15. Cruse J., Lewis R. Historical Atlas of Immunology. – London and New York, 2006. – 338 p.
16. Feldan B. The Nobel Prize. – New York, 2000. – 489 p.

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ И ЛЕКЦИИ

Адаптационная физиология и экология человека: культура, нравственность, духовность

Н.А. Агаджанян

Российский университет дружбы народов, Москва

В различных регионах земли люди рождаются и развиваются в соответствии со свойствами их естественной колыбели, где живые организмы находятся в гармонии с окружающей средой. Наукой об оптимальном развитии человека и окружающей его среды обитания, о гармоничном сочетании телесного, духовного и социального здоровья является адаптационная физиология.

Проведенные многолетние комплексные исследования физиологических механизмов адаптации к различным природно-климатическим условиям (высокогорье, Крайний Север, аридная зона, Мировой Океан) позволили выработать критерии адаптации, а также сформулировать представление об экологическом портрете человека (Агаджанян Н.А., 1981).

Экологический портрет – это совокупность генетически обусловленных свойств и наследственных морфофункциональных признаков, характеризующих специфическую адаптацию индивидуума к конкретному набору факторов среды обитания (высокогорье, аридная зона, Крайний Север и др.).

Расселение людей по планете осуществляется без учета индивидуальных конституциональных свойств, генетических и экологических особенностей человека, тогда, как хорошо известно, что для роста, развития, существования и размножения каждого организма имеется некое оптимальное сочетание условий среды обитания.

Исследование структурно-физиологической, биохимической и популяционной структуры аборигенов конкретных регио-

нов позволит создать своеобразный эталон для формирования экологического портрета населения той или иной среды обитания со специфическим набором природно-климатических, геохимических, гелиогеофизических показателей.

Современный мир находится под мощным антропогенным стрессом, который испытывает не только человек, но и окружающая среда. От экологического стресса содрогается вся планета, и это проявляется в деградации почв и лесов, загрязнении атмосферы и нарушении водных режимов. Мы очень много говорим об экологическом кризисе, о деградации природы, но если глубоко вдуматься, то изначально деградирует не природа, не биосфера, а духовная ценность – человек, который стоит на вершине пирамиды.

В конечном итоге получается так, что разрушается не природа вообще, в результате упадка морали наносится наибольший вред самому человеку. Нравственно-эстетическое сознание должно опираться на объективные реальные ценности. К таким ценностям принадлежит прежде всего наша культура. Именно поэтому вопросы экологической культуры и экологического воспитания становятся сегодня одним из самых насущных.

Существование организма без внешней среды, поддерживающей его, невозможно. Окружающую нас среду обитания надо рассматривать, как продолжение нашего собственного тела. Установлено, что различные виды существуют, пока давление

среды на организм не превышает его приспособительных возможностей. Чтобы жить в гармонии с окружающей естественной средой, человеку надо переориентировать исторически сложившийся человеческий эгоизм по отношению к природе на альтруизм.

Природа задала нам три программы: «для себя», «для рода», «для вида», т.е. себе, семье, всем людям. Эгоизм нам тренировать не нужно, его оказалось сверх достаточно. Сколько же отдавать людям? Вот здесь родословная альтруизма и нравственность оказались весьма хрупкими и не поддающимися тренировке, несмотря на призывы: «Отдайте без меры, Вам воздастся». Если учесть, что человек часть природы, а природа всегда рождает законы более справедливые и достоверные, чем те, которые создает человек, надо осознать, что над природой можно властвовать, только повинувшись ей.

Главный приоритет в глобальном природопользовании состоит в гармонизации, или, как писал В.И.Вернадский, «образумлении» отношений человека и общества с биосферой. Мера всему – человек и его здоровье, которое зависит от здоровья среды обитания. Для сохранения и поддержания здоровья человека необходимо не только здоровьесбережение и средоулучшающие технологии, но и средосбережение. Борьба с природой бессмысленно, надо жить в гармонии с ней.

Многие мыслители в современном мире ищут причины кризиса, заката философии, падения морали, нравственности и пути к спасению. Ещё Кант говорил, что действительность не может погибнуть естественно, поскольку законы природы более надёжны; в естественных законах жизни всё взаимосвязано, гармонично и устойчиво и нет основания для её возможной гибели. Она может погибнуть противоестественно, а именно в том случае, если сами люди поставят и начнут осуществлять бездум-

ные и разрушительные цели, которые, в конце концов, могут уничтожить биосферу Земли и превратить нашу планету в хаотическую безжизненную туманность.

Снова и снова мы ставим вечный вопрос: что же делать? Куда деваться от этих небывалых открытий и изобретений, от этого абсолютизации научно-технического прогресса?

Жизненная потребность, гражданский долг, жизненное кредо каждой личности нашего общего дома – планеты Земля – способствовать всеобщему и свободному человеческому благоденствию, нравственному совершенствованию человека и общества. И здесь особая роль отводится интеллекции.

Спор об интеллекции стар, как мир. Обновление и раскрытие гуманистической сути демократического общества немислимы без активации его духовного потенциала, заключённого в науке, образовании, литературе, искусстве.

Что же случилось с нами – одной из самых богатых стран обладающих золотым запасом нравственности. Честь и благородство были достоянием всенародной морали. По этому поводу известный публицист Жан д'Ормессон: «Все мы знаем, какую роль сыграла Россия в развитии Европейской цивилизации. По-моему, нельзя понять итальянское искусство, не увидев, что собой представлял синтез псковской и итальянской школы в архитектуре Кремля. Европейская культура немислима без Толстого, Достоевского, Пушкина, Грибоедова, Лермонтова, Горького, Булгакова, Пастернака...». Неслучайно многие сейчас говорят, что будущее Российской литературы – её прошлое.

Главное в человеке это не ум, а добрые чувства и передовые идеи. А людей по сердцу, а не только по интеллекту.

За своей внешней самоуверенностью человек, утратив духовное доверие к себе, скрывает недостаток уверенности внут-

ренной. Наше поколение, вопреки своим огромным возможностям, открытиям и изобретательности в материальной сфере, при этом так низко пало в духовно-нравственной сфере. Человек должен понять, что доминирующая ориентация на материальные ценности ведёт человечество к духовному банкротству и деградации умственно-интеллектуальной деятельности, откату назад. На пути нравственности первое активное действие мысли – это смирение, альтруизм, сострадание, любовь к ближним, внутренняя независимость от внешних событий. Сострадание ко всем живым существам – вернейшая гарантия чистоты нравственного поведения человека. Мы должны понять, что жизнь имеет ценность, мы рождаемся из жизни других людей и связаны со всей жизнью – биосферой. Благодаря этому мы обретаем духовную связь со всей Вселенной по пути в ноосферу. И сегодня, когда жестокость и насилие как никогда царят в нашем мире, только правильное поведение человека – высокая нравственность, миролюбие, сострадание и доброта способны смирить насилие и жестокость.

Когда речь идет о мире, о спасении

цивилизации и сохранении жизни на нашей планете, каждый человек должен занять активную жизненную позицию, раскрыть весь свой гуманистический потенциал. Здесь нельзя быть равнодушным, нельзя уходить от животрепещущих проблем человечества. Чтобы жить счастливо, надо выработать строгие критерии мышления и действия: честность, мужество.

Реализация гуманистической программы заключается в практическом движении, в развитии науки и культуры, создающем реальные условия для мирного, созидательного труда и всестороннего развития личности. Все человечество и каждый из нас должны понять, что человек, создающий все ценности на Земле, является главной из этих ценностей, а сама жизнь есть самосохранение в глубоком и широком смысле этого слова.

Каждая эпоха оставляет свои памятники, в которых их творцы рассказывают о времени и о себе. Люди, причастные к этим творениям, находятся на переднем крае человеческого знания и мастерства, перед ними – неизвестные глубины вечности, Вселенной, материи, человеческой души.

Физиология TOLL-подобных рецепторов – регуляторов врожденного и приобретенного иммунитета

Н.М. Бережная, Р.И. Сепиашвили

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого, Киев, Украина;

Институт иммунофизиологии, Москва, Россия

Открытие Toll-подобных рецепторов (TLRs) явилось одной из ярких страниц в современной иммунологии и вызвало огромный интерес к их изучению, что обусловлено важнейшей ролью этих рецепторов в формировании врожденного и приобретенного иммунитета [2, 25].

Первая идентификация TLRs была осуществлена на основе их большой гомологии с Toll-белком *Drosophila melanogaster*, который инициирует продукцию антимикробных антител у этих насекомых [13]. К настоящему времени известно 11 членов этих рецепторов у человека и 13 у мышей [6, 29]. TLRs представляют собой эволюционно консервативные белковые структуры [1, 14, 15, 27]. Лигандами для TLRs могут быть прежде всего молекулы многих патогенов – паттернов (PAMP, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны), которые распознаются TLRs в структуре микроорганизмов и инициируют врожденный и приобретенный иммунитет. В роли паттернов могут выступать различные молекулы: белков, сахаров, гликопептидов, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот, липопептидов и других структур микроорганизмов различных групп, а также такие эндогенные лиганды, как белки теплового шока, мочевины и др. [4, 26].

TLRs экспрессируются, во-первых, практически все-ми клетками системы иммунитета, а, во-вторых, клетками многих органов и тканей, включая нервную [1, 19]. В общей группе TLRs в зависимости от расположения можно выделить три подгруппы: 1) экспрессия на поверхности

клетки; 2) внутриклеточно; 3) поверхностно и внутриклеточно. Большинство TLRs располагаются на поверхности клетки – TLR-1, TLR-2, TLR-5, TLR-6, TLR-10; примером внутриклеточного расположения могут быть TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9; TLR-4, TLR-11, TLR-12 и TLR-13 – экспрессируются как поверхностно, так и внутриклеточно. На основе особенностей экстракеллюлярных доменов суперсемейство TLRs распределено на две подгруппы: первая имеет иммуноглобулинсодержащий домен, а вторая – домен, обогащенный лектинами (LRR); к первой группе относятся также ИЛ-1R, ИЛ-18R, ST2, SIGIRR [7].

Филогенетический анализ TLRs позволил выделить шесть категорий этих рецепторов, каждая из которых имеет сходные лиганды:

- TLR1/2/6/10 со специфическими лигандами для различных липопротеинов;
- TLR4, лигандом для которого является ЛПС;
- TLR3/7 и
- TLR8/9, лигандами для которых служат РНК и ДНК;
- TLR5 взаимодействует с флагеллином;
- лигандами для TLR11 служат различные протеины [22].

Известно, что TLRs экспрессируют не только все клетки системы иммунитета, но и клетки подавляющего большинства различных органов и систем, включая нервную. По всей вероятности, именно это обстоятельство обеспечивает широкий диапазон регуляторной роли TLRs в под-

держании физиологического гомеостаза не только системы иммунитета, но и других органов и систем. Процесс эволюции надежно закрепил эту способность TLRs, и она особенно ярко проявляется в регуляции врожденного и приобретенного иммунитета, что осуществляется с участием различных механизмов.

Врожденный иммунитет

Первое. В условиях нормы физиологическая регуляция с участием TLRs проявляется, прежде всего, в инициации выделения провоспалительных цитокинов, необходимых для физиологического иммунологического ответа при различных воздействиях, среди которых одно из центральных мест занимают не только традиционные инфекции (различные бактерии, грибы), но и инфекции, вызываемые такими вирусами, как ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), а также недавно идентифицированным вирусом гриппа H1N1 [9, 17].

Второе. Известно, что воспаление непосредственно связано в первую очередь с нейтрофилами, которые, как показано в последнее время, экспрессируют практически все известные TLRs. Это объясняет важную роль TLRs в регуляции активности нейтрофилов: активация TLR-4 ЛПС индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ФНО α , а активация TLR-2 – MCP-1; стимуляция TLR-2, TLR-4 и TLR-9 сопровождается респираторным взрывом и изменением экспрессии молекул адгезии. Отмечается также дифференцированная регуляция нейтрофилов с участием этих рецепторов: TLR-2 защищает клетки от апоптоза, а TLR-4 проявляет себя как важный регулятор выживаемости нейтрофилов [11, 31].

Третье. Влияние TLRs проявляется и в отношении В-лимфоцитов, что сопровождается экспрессией различных костимулирующих молекул, в частности CD40, с последующим контролем TLRs за активацией, пролиферацией, дифференцировкой

и выживаемостью В-лимфоцитов; в этих случаях костимулирующие молекулы могут осуществлять синергическое действие с TLR-2, TLR-4, TLR-9. Этот путь активации В-лимфоцитов сопровождается усилением выброса кальция, фосфорилированием некоторых киназ, усилением эндоцитоза, синтеза иммуноглобулинов и рассматривается как альтернативный путь активации В-лимфоцитов [12].

Четвертое. Трудно переоценить роль TLRs, которые экспрессируются эпителиальными клетками слизистой желудочно-кишечного тракта, в обеспечении и поддержании врожденного иммунитета кишечника, включая ВИЧ-инфекцию [28].

Пятое. Не менее важна роль TLRs и в нормальном функционировании центральной нервной системы, большинство клеток которой экспрессируют TLRs (нейроны, астроциты, глия, эндотелиальные клетки сосудов мозга). Такая распространенность экспрессии TLRs на различных клетках нервной ткани объясняет их активное участие не только в особенностях иммунологического ответа мозга, но и в поддержании его гомеостаза [10].

Приобретенный иммунитет

Первое. Участие TLRs в индукции этой формы иммунологического ответа начинается уже на первых этапах, так как все антигенпрезентирующие клетки экспрессируют высокий уровень TLRs. В этом плане особенной иллюстративностью отличаются дендритные клетки, TLRs которых после взаимодействия со своим лигандом приобретают способность активировать наивные Т-лимфоциты [21]. Активация дендритных клеток происходит преимущественно с участием TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-9. Эффективность участия TLRs в активации антигенпрезентирующих клеток связана не только с индукцией продукции провоспалительных цитокинов, но и с усилением экспрессии различных костимулирующих молекул, необходимых для эф-

фективного процесса распознавания антигена [16]. Кроме того, TLRs осуществляют контроль за созреванием дендритных клеток и их антигенпрезентирующей функцией [20].

Второе. В процесс презентации с участием TLRs активно включаются и макрофаги, а сигналы, которые осуществляются через TLRs, способствуют выделению больших количеств провоспалительных цитокинов и хемокинов; особенно активно секретируются ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ФНО α , а также различные хемокины [18].

Третье. Процесс распознавания может осуществляться и с участием тучных клеток, которые экспрессируют TLR-9. Роль TLR-9 в распознавании тучными клетками особенно выражено проявляется в отношении генетического материала бактерий, грибов, ДНК вирусов. Активация TLR-3 и TLR-4 тучных клеток может приводить к секреции ими таких интерлейкинов, как ИЛ-13 и ИЛ-4 [24].

Четвертое. Основные популяции Т-лимфоцитов – CD4⁺ и CD8⁺ – экспрессируют практически все известные TLRs. Различные антигены в зависимости от условий активируют TLRs, индуцируют соответствующие сигналы, что приводит к стимуляции различных функций этих клеток. Например, экспрессия TLR3 CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитами сопровождается их активацией и это дает им возможность непосредственно включаться в различные формы иммунологического ответа [23].

Пятое. В индукции иммунологического ответа существенную роль играет и способность TLRs функционировать в качестве ко-стимуляторов антигенспецифических Т-лимфоцитов, усиливая их выживаемость и повышая экспрессию различных эффекторных молекул. Получены доказательства того, что гетеродимер TLR-1/2, экспрессируемый цитотоксическими Т-лимфоцитами, усиливает цитотоксическую активность этих клеток [5].

Шестое. В общей популяции Т-лимфоцитов особое место занимают $\gamma\delta$ Т-лим-

фоциты, распознающие рецепторы которых могут действовать в комбинации с TLR-1, TLR-2, TLR-5, TLR-6, что приводит к усилению продукции хемокинов и цитокинов. Весьма существенна роль TLRs в реализации цитотоксического действия, а также регуляции супрессорной активности $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов [30].

Приведенные факты, перечень которых мог бы быть продолжен, достаточно демонстративно показывают, что активация TLRs приводит к широкому спектру влияний как на врожденный, так и приобретенный иммунитет. При этом нельзя не отметить, что некоторые механизмы этих влияний на указанные формы иммунологического ответа имеют определенную идентичность, что особенно проявляется в отношении воспаления, степень выраженности которого при физиологическом ответе и патологии существенно различается. Соответственно это находит отражение и в интенсивности продукции провоспалительных цитокинов, степени активации нейтрофилов, тучных клеток и др.

Бесспорный факт многоплановости влияния TLRs на различные проявления врожденного и приобретенного иммунитета оправдывает постановку вопроса об очевидных перспективах использования влияния на TLRs с терапевтической целью. В этой связи несомненно оправдано развитие нового иммунотерапевтического направления (преимущественно в отношении воздействия на приобретенный иммунитет) на основе использования новых иммуномодуляторов – агонистов и антагонистов TLRs [2, 8].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сепиашвили Р.И. Основы физиологии иммунной системы. – М.: Медицина–Здоровье, 2003. – 227 с.
2. Сепиашвили Р.И. Физиология Toll-подобных рецепторов и их роль в регуляции иммунного ответа. Тез. докл. XX Съезда физиол. об-ва России, 4–8 июня 2007, Москва.
3. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Физиология

- естественных киллеров. – М.: Медицина–Здоровье, 2005. – 456 с.
4. Тухватулин А.И., Логунов Д.Ю., Щербин Д.Н. Toll-подобные рецепторы и их адапторные молекулы. – Биохимия. – 2010. – **75**(9). – С. 1224–1243.
 5. Asproditis N., Zheng L., Geng D., Velasco-Gonzalez C., Sanchez-Perez L., Davila E. Engagement of Toll-like receptor-2 on cytotoxic T-lymphocytes occurs in vivo and augments antitumor activity // *FASEB J.* – 2008. – **22**(10). – P. 3628–3637.
 6. Barreiro L.B., Ben-Ali M., Quach H., Laval G., Patin E., Pickrell J.K., Bouchier C., Tichit M., Neyrolles O., Gicquel B., Kidd J.R., Kidd K.K., Alcans A., Ragimbeau J., Pellegrini S., Abel L., Casanova J.L., Quintana-Murci L. Evolutionary dynamics of human Toll-like receptors and their different contributions to host defense // *PloS Genet.* – 2009. – **5**(7). – e1000562.
 7. Barton G.M., Kagan J.C. A cee biological view of Toll-like receptor function: regulation through compartmentalization // *Nat.Rev.Immunol.* – 2009. – **9**(8). – P. 535-542.
 8. Basith S., Manavalan B., Lee G., Kim S.G., Choi S. Toll-like receptor modulators: a patent review (2006-2010) // *Exp. Opin Ther PaT.* – 2011. – **21**(6). – P. 927–944.
 9. Engel A., Holt G., Lu H. The pharmacokinetics of Toll-like receptor agonists and the impact on the immune system // *Expert Rev Clin. Pharmacol.* – 2011. – **4**(2). – P. 275–289.
 10. Hanisch U., Johnson T., Kipnis J. Toll-like receptors: roles in neuroprotection // *Trends Neurosci.* – 2008. – **31**(4). – P: 176-182.
 11. Hyang L.T., Paredes C.J., Papoutsakis E.T., Miller W.M. Gene expression analysis illuminates the transcriptional programs underlying the functional activity of ex vivo-expanded granulocytes // *Physiol. Genomics.* – 2007. – **31**(1). – P.114-125.
 12. Jain S., Chodisetti S, Agrewala J.CD40 signaling synergizes with TLR-2 in the BCR independent activation of resting B cells // *PLoS One.* – 2011. – **6**(6). – e20651.
 13. Jeneway C., Medzhitov R. Viral interference with IL-1 and toll signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – **97**(20). – P.10682–10683.
 14. Kuhlicke J., Frick J., Morote-Garsia J., Rosenberger P., Eltzschig H.K. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 coordinates induction of Toll-like receptors TLR2 and TLR6 during hypoxia // *PloS One.* – 2007. – **2**(12). – e1364.
 15. Liang F., Huang N., Wang B., Chen H. Assessment of the role of TLR-4 in shear-stress-induced IL-8 gene transcription activation in vascular endothelial cells by gene mutation and gene transfection technology // *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* – 2002. – **19**(4). – P. 667–672.
 16. Lin Q., Li M., Fang D., Fang J., Su S.B. The essential roles of Toll-like receptor signaling pathways in sterile inflammatory diseases // *Int. Immunopharmacol.* – May 18, 2011 [Epub ahead of print].
 17. Lin Y., Chen H., Sun Y., Chen F. Antiviral role of toll-like receptors and cytokines against the new 2009 H1N1 virus infection // *Mol. Biol. Rep.* – May 21, 2011 [Epub ahead of print].
 18. Macedo L., Pinhal-Enfield G., Alshits V., Elson G., Cronstein B.N., Leibovich S.J. Wound healing is impaired in MyD88-deficient mice: a role for MyD88 in the regulation of wound healing by adenosine A2A receptors // *Amer. J. Pathol.* – 2007. – **171**(6). – P. 1774–1788.
 19. Mishra B.B., Gundara U.M., Teale J.M. Expression and distribution of Toll-like receptors 11-13 in the brain during murine neurocysticercosis // *J. Neuroinflammation.* – 2008. – **5**. – P. 53.
 20. Pasare C. Toll-like receptors: balancing host resistance with immune tolerance // *Curr Opin Immunol.* – 2003. – **15**(6). – P. 677–682.
 21. Pasare C., Medzhinov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity // *Microbes Infect.* – 6(15): 1382–1387, 2004.
 22. Roach J., Glusman G., Rowen L., Kaur A., Purcell M.K., Smith K.D., Hood L.E., Aderem A. The evolution of vertebrate Toll-like receptors // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – **102**(27). – P. 9577–9582.
 23. Salem M.L., Diaz-Montero C.M., El-Naggar S.A., Chen Y., Moussa O., Cole D.J. The TLR3 agonists poly (I:C) target CD8+ T cells and augments their antigen-specific responses upon their adoptive transfer into nanve recipient mice // *Vaccine.* – 2009. – **27**(4). – P. 549–557.
 24. Smrz D., Iwaki S., McVicar D.W., Metcalfe D.D., Gilfillan A.M. TLR-mediated signaling pathways circumvent the requirement for DAP12 in mast cells for the induction of inflammatory mediator release // *Eur. J. Immunol.* – 2010. – **40**(12). – P. 3557–3569.
 25. Takeda K. Toll-like receptor // *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* – 2005. – **28**(5). – P. 309–317.
 26. Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence // *Nat Rev Immunol.* – 2007. – **7**(3). – P.179–190.
 27. Wan Y., Xiao H., Affolter J., Kim T.W., Bulek K., Chaudhuri S., Carlson D., Hamilton T., Mazumder B., Stark G.R., Thomas J., Li X. Interleukin-1 receptor-associated kinase 2 is critical for lipopolysaccharide-mediated post-transcriptional control // *J. Biol. Chem.* – 2009. – **284**(16). – P. 10367–10375.
 28. Wang Y, Lechner T. Induction of innate immunity in control of mucosal transmission of HIV // *Curr. Opin. HIV AIDS.* – Jul 2, 2011 [Epub ahead of print].
 29. Wei T., Gong J., Russle S.C., Jamitzky F., Heckl W.M., Stark R.W. A leucine-rich repeat assembly approach for homology modeling of the human TLR5-10 and mouse TLR11-13 ectodomains // *J. Mol. Model.* – 2011. – **17**(1). – P. 27–36.
 30. Wesch D., Peters C., Oberg H.H., Pietschmann K., Kabelitz D. Modulation of гд T cell responses by TLR ligands // *Cell Mol Life Sci.* – 2011. – **68**(14). – P. 2357–2370.
 31. Yoshimura A, Ohishi HM, Aki D, Hanada T. Regulation of TLR signaling and inflammation by SOCS family proteins // *J. Leukoc. Biol.* – 2004. – **5**(3). – P. 422–427.

Физиологические аспекты молекулярной организации синапса

П.Д. Брежестовский

*Средиземноморский институт нейробиологии, Марсель, Франция;
piotr.bregestovski@univmed.fr*

Нейрональная организация мозга человека представляет собой сеть невероятной сложности, включающую 10^{11} нейронов, каждый из которых имеет порядка 10^4 синаптических входов и примерно такое же число выходов на другие нейроны. Таким образом, число синаптических контактов между нейронами достигает 10^{15} [4]. Химические синапсы осуществляют взаимодействие клеток, трансформируя действие химических передатчиков в электрические сигналы. Эти сигналы реализуются в специфические паттерны нейрональной активности и модулируют внутриклеточные события, благодаря которым происходят изменения свойств нейронов и нейронных сетей. Функционирование синапсов, изменения их морфологии, числа и эффективности лежит в основе восприятия, обработки и закрепления информации, в основе поведения. Электрофизиологические, фармакологические, электронно-микроскопические, иммуноцитохимические и другие исследования показали важность синапсов для формирования нейронных сетей и передачи межклеточной информации. На протяжении последних десятилетий представления о принципах формирования синапсов, их молекулярной организации и пластичности значительно расширились и углубились. Оказалось, что фундаментальные механизмы функционирования синапсов, а также молекулярные модули, формирующие эти структуры, являются высококонсервативными среди организмов из разных эволюционных ветвей, имеющих огромные различия в морфологии, физиологии и сложности организации нервных систем.

Уровень сложности и гармоничной многокомпонентной организации синапсов стал проявляться только в последнее десятилетие, с развитием молекулярных методов расшифровки полных геномов, с развитием протеомики – направления, оценивающего полные наборы белков организмов. Оказалось, что пресинаптический протеом мыши (набор белков, обеспечивающих формирование и функцию пресинапса) содержит несколько сот белков, а постсинаптический – еще сложнее: в его состав входит, по-видимому, около 1500 белков [1, 8]. Таким образом, для нормального функционирования синапсов в нервной системе млекопитающих природа создала около 2 000 белков.

В состав постсинаптической мембраны входят различные классы белков и белковых модулей, включая ионные каналы, рецепторы, транспортеры, адгезивные и цитоскелетные белки, киназы и фосфатазы, “арматурные” белки и сигнальные молекулы. Ключевыми из них являются рецепторуправляемые и потенциалзависимые каналы, а также белки, осуществляющие точную ко-локализацию необходимых синаптических компонент в ограниченном пространстве синапса.

Архитектура и состав функциональных модулей синапса поражает точностью и целесообразностью организации. Огромное количество высокоспециализированных компонент располагается в определённых микродоменах и в результате формируется сложный, гармонично работающий молекулярный блок, осуществляющий передачу межклеточных сигналов.

Пресинаптическая область содержит

синаптические везикулы диаметром примерно 40 нм. Они близко ассоциируются с утолщением пресинаптической мембраны: активной зоной в которой происходит экзоцитоз везикул, содержащих нейромедиатор. Пре- и постсинаптические области разделены щелью шириной 20-25 нм.

Точно под активной зоной находится постсинаптическая мембрана, белки экстра-синаптической адгезии и внутриклеточные постсинаптические компоненты, формирующие сложно организованный многокомпонентный белковый микродомен, называемый постсинаптическая плотность (ПСП, PSD - postsynaptic density) [13, 29]. На электронно-микроскопических фотографиях эта структура представляет собой диск шириной 200 – 800 нм (в среднем, 300-400 нм) и толщиной 30-50 нм (Sheng and Hoogenraad, 2007). ПСП выполняет широкий спектр специализированных функций, связанных с приемом, обработкой и регуляцией постсинаптических сигналов, а также модификацией размеров и морфологии шпиков.

Архитектура ПСП представляет собой как бы многоэтажное здание, в котором на

верхнем этаже находятся постсинаптические рецепторы, ионные каналы, молекулы синаптической адгезии и другие трансмембранные белки [24]. Следующие этажи формируют «арматурные», сигнальные, цитоскелетные и другие белки (рис. 1). По-видимому, такая организация и количественное соотношение белковых компонент потенциально обеспечивает структурную базу для физиологической регуляции эффективности синаптической передачи через модификацию числа рецепторов глутамата и функциональных микромодулей, обеспечивающих кратковременную и длительную пластичность синапсов.

Одним из фундаментальных свойств мозга является синаптическая пластичность – положительные или отрицательные изменения эффективности связи между нейронами в ответ на нейрональную активность. Это свойство является важным для формирования и функционирования нейронных сетей, процессов запоминания и обучения. В синапсах нейронов гиппокампа и других областях мозга обнаружено несколько форм синаптической пластичности. Основные из них: длительная потен-

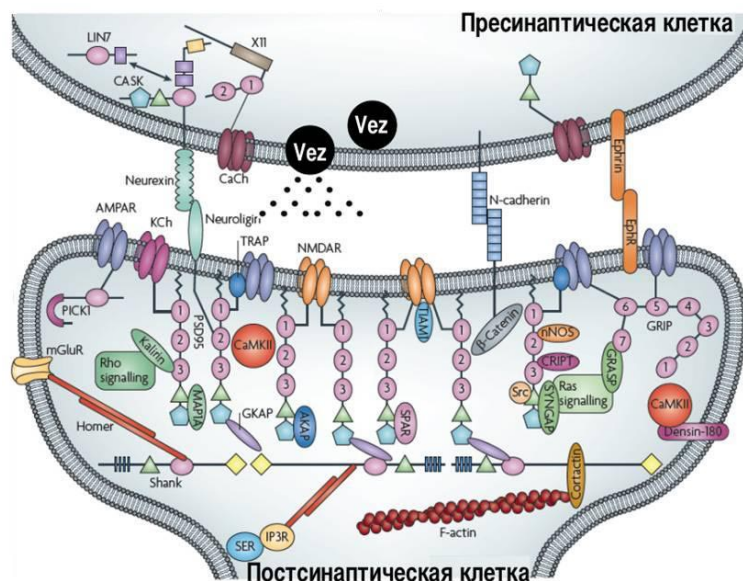


Рис. 1. Схема «многоэтажной» организации синапса и белок-белковых взаимодействий в постсинаптической плотности.

Показаны только основные классы белков. Положения пре- и постсинаптической мембраны фиксировано с помощью трансмембранных белков адгезии (Neurexin, neuroligin, N-cadherin). Ионотропные глутаматные рецепторы (AMPA и NMDAR), а также калиевые каналы (KCh) «заякорены» на PDZ-содержащие «арматурные» белки (PSD-95 и GRIP). PDZ-домены (1,2,3 и т.д.) расположены точно под пресинаптической мембраной, из которой везикулы (Vez) выбрасывают нейромедиатор (глутамат). Вне ПСП, в перисинаптической зоне мембраны встроены метаболитные глутаматные рецепторы (mGluR). Они также «заякорены» на «арматурный» белок

HOMER, который в свою очередь взаимодействует с PDZ-доменом Shank белка, имеющего повторяющиеся анкириновые домены и взаимодействующего с актиновыми филаментами (из Feng & Zhang, 2009)

циация и длительная депрессия [2, 17]. Длительная потенцияция – это процесс усиления синаптической связи. Длительная депрессия (LTD – long-term depression) – это длительное уменьшение синаптической активности. Пластические изменения при длительной потенциации или при длительной депрессии рассматриваются как модели процессов обучения и памяти [3, 18, 25], хотя последние, несомненно, намного более сложные явления.

Исследования последних лет показали, что в основе регуляции эффективности работы возбуждающих синапсов лежат морфологические и биохимические модификации дендритных шипиков. Оказалось, что дендритные шипики представляют собой сложно организованные субклеточные компартменты [5, 23, 26], являющиеся ключевыми блоками, которые обеспечивают локальный прием, обработку и контроль синаптической информации.

Дендритные шипики – это небольшие (0,5-2 мкм в длину) “выросты” из дендритов. Они содержат важные компоненты, обеспечивающие синаптическую пластичность, включая белки постсинаптической плотности, актиновый цитоскелет и разные органеллы. Анализ молекулярных механизмов морфогенеза и модуляции размеров шипиков позволил углубить понимание их роли в функционировании нервной системы, как морфологических структур, обеспечивающих синаптическую пластичность, лежащую в основе памяти и длительного хранения информации.

Кальцийзависимое изменение состояния цитоскелета в дендритах и шипиках является одним из ключевых факторов, регулирующих синаптическую пластичность. Было показано, что фармакологические стимулы, которые имитируют длительную потенциюцию уменьшают скорость латеральной диффузии, а стимулы, вызывающие длительную депрессию приводили к увеличению подвижности

рецепторов в синаптической зоне [27].

Предполагается, что структура шипиков зависит от состояния актина и регулируется благодаря координированной активности актин-связывающих белков. Было обнаружено, что в зависимости от характера стимуляции индивидуальные синапсы могут изменять морфологию и усиливать или уменьшать силу синаптической передачи за периоды времени от секунд до десятков часов [19, 21]. Было показано, что стимуляция, вызывающая длительную потенциюцию, приводит к увеличению объема головки шипиков и это сопровождается повышением формирования актиновых филаментов. Более того, разрушение актиновых филаментов деполимеризующими агентами предотвращает подвижность шипиков [19] и экспрессию длительной потенцииции, хотя не блокирует кратковременную потенциюцию [7, 14, 16]. Таким образом, физиологически пластичность возбуждающих синапсов непосредственно связана с морфогенезом, изменением актинового цитоскелета и функциональным состоянием дендритных шипиков (рис. 2).

Важной формой кратковременной пластичности является быстрая регуляция эффективности синаптической передачи осуществляемая путем ретроградной сигнализации. В возбуждающих и ингибиторных синапсах нервной системы позвоночных один из основных принципов ретроградной синаптической модуляции осуществляется через эндогенную каннабиноидную систему.

Молекулярная архитектура, лежащая в основе этого механизма оказалась высоко консервативной в разных типах синапсов. Торможение синаптической передачи, ретроградно индуцируемое эндоканнабиноидами, было показано для ГАМК- [10, 28], глутамат- и глицинергических [6, 20] синапсов. Таким образом, этот вид синаптической пластичности – широко распространенное явление в нервной системе

позвоночных. Эндоканнабиноиды синтезируются в стимулируемых нейронах “по

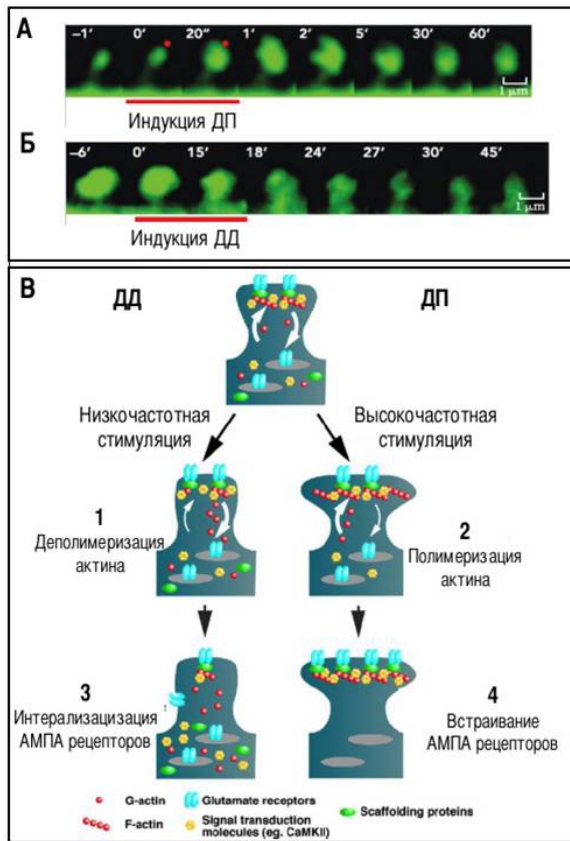


Рис.2. Цитоскелет и структурная пластичность дендритных шипиков.

А, Б: Визуализация GFP-актина в дендритах с помощью 2-фотонной микроскопии. Дендритные шипики увеличиваются в размерах при протоколе длительной потенциации (А) и уменьшаются при протоколе длительной депрессии (Б).

В: Схема основных преобразований при длительной потенциации и депрессии. Кратковременная высокочастотная стимуляция (протокол длительной потенциации), вызывает сдвиг равновесия в сторону F-актина (справа). Увеличение актиновых филаментов приводит к увеличению размеров шипика (2) возрастанию числа мест для взаимодействия с другими белками, встраиванию новых рецепторов в постсинаптическую мембрану и повышению структурной ПСП (4). Наоборот, длительная низкочастотная стимуляция (протокол длительной депрессии) приводит к сдвигу равновесия в сторону G-актина (слева). Происходит деполимеризации актиновых филаментов, уменьшение размеров шипиков (1), уменьшение числа АМПА-рецепторов в постсинаптической мембране (3) и снижению структурной организации компонент ПСП (из Hayashi & Majewska, 2005)

необходимости” (“on demand”) и по принципу отрицательной обратной связи, выполняют защитную функцию от сверхактивации выброса нейромедиатора из пресинаптического окончания и сильного возрастания активности синапса.

Интеграция этих процессов может приводить к длительным изменениям эффективности синапсов лежащих в основе пластичности и памяти.

Таким образом, функциональный синапс содержит огромное количество компонент, обеспечивающих транспорт и накопление нейромедиатора в везикулах, специфическую локализацию белков, обеспечивающих выброс везикул в синаптическую щель, кластеризацию специфических рецепторов в постсинаптической мембране, систему деградации и/или быстрого убирания нейромедиатора из синаптической щели и регуляции молекулярных доменов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bayes A., Grant S.G. Neuroproteomics: understanding the molecular organization and complexity of the brain // *Nature Rev. Neurosci.* – 2009. – **10**. – P.635–646.
2. Bear M.F., Kirkwood A. Neocortical long-term potentiation // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 1993. – **3**. – P.197–202.
3. Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus // *Nature.* – 1993. – **361**. – P. 31–39.
4. Blitzer R.D., Iyengar R., Landau E.M. Postsynaptic signaling networks: cellular cogwheels underlying long-term plasticity // *Biol. Psychiatry.* – 2005. – **57**(2). – P. 113–119.
5. Bourne J.N., Harris K.M. Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines // *Annu Rev. Neurosci.* – 2008. – **31**. – P. 47–67.
6. Bregestovski P., Mukhtarov M. Synaptic function and modulation of glycine receptor channels in the hypothalamic nucleus // *Neurofiziol / Neurophysiol.* – 2007. – **39**(4/5). – P. 338–349.
7. Chen L.Y., Rex C.S., Casale M.S., Gall C.M., Lynch G. Changes in synaptic morphology accompany actin signaling during LTP // *J. Neurosci.* – 2007. – **27**. – P. 5363–5372.
8. Collins M.O., Husi H., Yu L., Brandon J.M., Anderson C.N., Blackstock W.P., Choudhary J.S., Grant S.G. Molecular characterization and comparison of the components and multiprotein complexes in the postsynaptic proteome // *J. Neurochem.* – 2006. – 97 (Suppl. 1). – P. 16–23.

9. Diana M.A., Levenes C., Mackie K., Marty A. Short-term retrograde inhibition of GABAergic synaptic currents in rat Purkinje cells is mediated by endogenous cannabinoids // *J. Neurosci.* – 2002. – **22**. – P. 200–208.
10. Diana M.A., Bregestovski P. Calcium and endocannabinoids in the modulation of inhibitory synaptic transmission // *Cell Calcium.* – 2005. **37**(5). – P. 497–505.
11. Feng W., Zhang M. Organization and dynamics of PDZ-domain-related supramolecules in the postsynaptic density // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2009. – **10**(2). – P. 87–99.
12. Hayashi Y., Majewska A.K. Dendritic spine geometry: functional implication and regulation // *Neuron.* – 2005. – **46**(4). – P. 529–532.
13. Kennedy M.J., Ehlers M.D. Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2006. – **29**. P. 325–362.
14. Kim C.H., Lisman J.E. A role of actin filament in synaptic transmission and long-term potentiation // *J. Neurosci.* – 1999. – **19**. – P.: 4314–4324.
15. Kreitzer A.C., Regehr W.G. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells // *Neuron.* – 2001. – **29**. – P. 717–727.
16. Krucker T., Siggins G.R., Halpain S. Dynamic actin filaments are required for stable long-term potentiation (LTP) in area CA1 of the hippocampus // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2000. – **97**. – P. 6856–6861.
17. Linden D.J. Long-term synaptic depression in the mammalian brain // *Neuron.* – 1994. – **12**. – P. 457–472.
18. Malinow R. LTP: desperately seeking resolution // *Science.* – 1994. – **266**. – P.1195–1196.
19. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines // *Science.* – **290**. – P. 754–758.
20. Mukhtarov M., Ragozzino D., Bregestovski P. Dual Ca²⁺ modulation of glycinergic synaptic currents in rodent hypoglossal motoneurons // *J. Physiol.* – 2005. (Lond). – **569**. – P. 817–831.
21. Okamoto K., Bosch M., Hayashi Y. The roles of CaMKII and F-actin in the structural plasticity of dendritic spines: a potential molecular identity of a synaptic tag? // *Physiology (Bethesda).* – 2009. – **24**. – P.357–366.
22. Okamoto K., Nagai T., Miyawaki A., Hayashi Y. Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity // *Nat. Neurosci.* – 2004. – **7**(10). – P.1104–1112.
23. Popov V.I., Stewart M.G. Complexity of contacts between synaptic boutons and dendritic spines in adult rat hippocampus: three-dimensional reconstructions from serial ultrathin sections in vivo // *Synapse.* – 2009. – **63**(5). – P.369–377.
24. Sheng, M., Hoogenraad C.C. The postsynaptic architecture of excitatory synapses: amore quantitative view // *Annu. Rev. Biochem.* – 2007. – **76**. – P. 823–847.
25. Sjostrom P.J., Rancz E.A., Roth A., Hausser M. Dendritic excitability and synaptic plasticity // *Physiol. Rev.* – 2008. – **88**(2). – P. 769–840.
26. Sorra K.E., Harris K.M. Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines // *Hippocampus.* – 2000. – **10**(5). – P. 501–511.
27. Tardin C., Cognet L., Bats C., Lounis B., Choquet D. Direct imaging of lateral movements of AMPA receptors inside synapses // *EMBO J.* – 2003. – **22**(18). – P. 4656–4665.
28. Wilson R.I., Nicoll R.A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses // *Nature.* – 2001. – **410**. –P. 588–592.
29. Ziff E.B. Enlightening the postsynaptic density // *Neuron.* – 1997. – **9**. – P. 1163–1174.

Молекулярные механизмы функционирования и регулирования глутаматных AMPA-рецепторов при хронической боли

Н.В. Войтенко

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев

Постоянная или хроническая боль, которая может быть результатом воспаления, инфекции, повреждения ткани или нерва, – одна из главных проблем здравоохранения во всем мире. Успех лечения хронической боли ограничен нашим неполным пониманием молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе ее развития и поддержания. Общеизвестно, что усиленная активация глутаматных рецепторов в нейронах спинного мозга во время болевых синдромов способствует центральной сенситизации, которая является механизмом развития и поддержания хронической боли [1]. Однако молекулярные механизмы функционирования и регулирования глутаматных рецепторов при хронической боли до сих пор неясны. Углубление понимания этих механизмов может послужить основой для разработки новых терапевтических подходов лечения хронической боли.

Глутаматные рецепторы, наиболее изменяющие свои функции при развитии периферических болевых синдромов, так называемые AMPA-рецепторы, являются тетрамерами, состоящими из комбинации четырех субъединиц GluR1-4. Ключевая субъединица GluR2 определяет свойства AMPA-рецептора, в частности, его проницаемость для ионов кальция и проводимость одиночного канала. Если субъединица GluR2 присутствует в тетрамере, то канал не проницаем для ионов кальция, если ее нет, то канал становится кальцийпроводящим. Спинальные нейроны дорсального

рога (ДР) экспрессируют как кальций-проницаемые (без GluR2), так и кальций-непроницаемые (при наличии GluR2) AMPA-рецепторы. Генетический нокаут гена субъединицы GluR2 не только приводит к росту числа спинальных кальций-проницаемых AMPA-рецепторов, но и способствует спинальной ноцицептивной пластичности [2]. Этот факт указывает на то, что изменения в свойствах AMPA-рецепторов, в частности увеличение их кальциевой проницаемости при потере субъединицы GluR2 на синаптической мембране нейронами ДР, играют критическую роль в центральной сенситизации, лежащей в основе хронической боли. Увеличение кальциевой проводимости AMPA-рецепторов приводит к гипервозбудимости нейрона, процессу эксайтотоксичности и клеточной смерти. Данный процесс сопровождается такими патологическими процессами в головном мозгу, как инсульт, инфаркт, повреждение нерва, хроническое воспаление [3].

Известно, что С-терминаль субъединицы GluR2 AMPA-рецепторов, связываясь с двумя синаптическими опорными белками, GRIP и PICK1, может участвовать в синаптическом перемещении этих рецепторов. В наших предыдущих работах было показано, что белок GRIP удерживает AMPA-рецепторы, содержащие субъединицу GluR2, в синапсах ДР-нейронов. В то же время белок PICK1 отвечает за взаимодействие важного для возникновения хронической боли энзима, протеинкиназы

Ca (PKCa), с синаптическими субъединицами GluR2. Нами было продемонстрировано, что спинальная PKCa, активируется во время периферического воспаления [4]. Активация PKCa приводит к фосфорилированию субъединицы GluR2, что нарушает взаимодействие GluR2 с синаптическим анкорным белком GRIP с последующей интернализацией (переходом из плазматической мембраны во внутриклеточную среду) AMPA-рецепторов, содержащих GluR2 субъединицу [4]. Мы показали, что фосфорилирование субъединицы GluR2 и её последующая интернализация зависят от активации сигнального каскада NMDA-рецептор – PKCa.

Поскольку GluR2 определяет свойства AMPA-рецепторов, то интернализация субъединицы GluR2 при периферическом воспалении приводит к увеличению числа кальцийпроницаемых AMPA-рецепторов, что в свою очередь потенцирует различные кальцийзависимые внутриклеточные каскады, принимающие участие в развитии и поддержании хронической боли.

Нами было показано, что описанные выше изменения в составе синаптических AMPA-рецепторов являются необходимыми для поддержания хронической боли

и что блокада PKCa приводит к достоверному уменьшению хронической воспалительной боли у подопытных крыс [4]. Нами также было продемонстрировано, что увеличение количества кальцийпроницаемых внесинаптических AMPA-рецепторов также может вносить существенный вклад в развитие хронической боли [5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Voitenko N., Gerber G., Youn D., Randiž M. Peripheral inflammation-induced increase of AMPA-mediated currents and Ca²⁺ transients in the presence of cyclothiazide in the rat substantia gelatinosa neurons // *Cell Calcium*. – 2004. – **35**, № 5. – P. 461-469.
2. Youn D., Royle G., Kolaj M., Vissel B., Randiž M. Enhanced LTP of primary afferent neurotransmission in AMPA receptor GluR2-deficient mice // *Pain*. – 2008. – **136**, №1. – P. 158-167.
3. Shepherd J.D., Huganir R.L. The cell biology of synaptic plasticity: AMPA receptor trafficking // *Annu.Rev.Cell Dev.Biol.* – 2007. – **23**. – P. 613-643.
4. Park J.S., Voitenko N., Petralia R.S., Guan X., Xu J.T., Steinberg J.P., Takamiya K., Sotnik A., Kopach O., Huganir R.L., Tao Y.X. Persistent inflammation induces GluR2 internalization via NMDA receptor-triggered PKC activation in dorsal horn neurons // *J.Neurosci.* – 2009. – **29**, № 10. – P. 3206-3219.
5. Kopach O., Kao S.-C., Petralia R.S., Belan P., Tao Y.-X., Voitenko N. Inflammation alters trafficking of extrasynaptic AMPA receptors in tonically firing lamina II neurons of the rat spinal dorsal horn // *Pain*. – 2011. – **152**, № 4. – P. 912-923.

Медиаторы, эволюция представлений

А.Л. Зефирова

Казанский государственный медицинский университет

Медиаторы (передатчики, посредники, нейромедиаторы, нейротрансмиттеры) – ключевые информационные молекулы в мозге и в периферической нервной системе. В настоящее время известны по крайней мере несколько десятков возможных медиаторов, относящиеся к различным классам химических соединений. Вместе с термином «медиатор» иногда в том же контексте используются расплывчатые термины «нейромодулятор», «нейроактивное вещество», «мессенджер», «комедиатор», «классический медиатор» и т.д. Большинство ученых воспринимают понятие медиатор очень широко, в то время как некоторые вкладывают в него очень жесткие и четкие критерии. Поэтому в нейрофизиологии вопрос, что такое медиатор, до сих пор полностью не решен.

До 50-х годов к медиаторам относили две группы низкомолекулярных соединений, которые сейчас называются “классическими”, “традиционными” медиаторами, — амины (ацетилхолин, адреналин, норадреналин, дофамин, серотонин и др.) и аминокислоты (глутамат, аспартат, ГАМК, глицин). В 60-е годы была открыта третья группа низкомолекулярных медиаторов — пуриновые нуклеотиды. В это же время было выдвинуто предположение о медиаторной роли пептидов, которые составляют четвертую, по всей видимости самую многочисленную группу медиаторов. Совсем недавно к разряду медиаторов стали относить некоторые, образующиеся в организме газы (NO, H₂S, CO) и D-аминокислоты.

Такое обилие медиаторов ставит перед учеными вопрос – что же такое медиатор и каковы его критерии. Известно, что

ацетилхолин – это первый медиатор. Он был всесторонне изучен в нервно-мышечном соединении и в автономной нервной системе. Отсюда сформировалось представление, что все медиаторы должны быть точно такими как ацетилхолин. Они должны запасаться в нервном окончании в синаптических везикулах, высвобождаться из нервных окончаний кальцийзависимым образом, взаимодействовать со специфическими рецепторами постсинаптической мембраны и приводить к изменению проводимости мембраны для определенных ионов.

Однако в этих представлениях очень много сомнительного. Выяснилось, что медиаторы могут оказывать два принципиально разных типа физиологического действия, быстрое и медленное. Быстрые эффекты (наподобие вышеописанных эффектов ацетилхолина) обычно включают открытие или закрытие ионных каналов, являющихся частью рецепторного белка мембраны (ионотропные рецепторы) и сопровождаются изменениями проводимости мембраны. Медленные эффекты являются следствием метаболических изменений в клетке-мишени, чьи рецепторные белки называют метаботропными. Классические примеры – это образование циклического ГМФ, циклического АМФ или инозитолтрифосфата с помощью ферментов, связанных с рецепторами через ГТФ-связанные белки. Причем один и тот же медиатор может активировать как ионотропные, так и метаботропные рецепторы клетки. Кроме этого рецепторы к многим медиаторам обнаружены как на пре-, так и на постсинаптической мембранах. Сложность проблемы усугубляется тем, что

нейроны могут обмениваться информацией не только через нервные окончания, а и через сому, дендриты и аксоны. Эти данные привели к возникновению новых вопросов о функциях медиаторов. Может ли медиатор выделяться не из нервных окончаний нервной клетки? Оказалось, что некоторые медиаторы, высвобождаясь из нервных окончаний, действуют на рецепторы, встроенные в мембрану этого нервного окончания. Может ли вещество, которое действует на тот нейрон, который его и секретирует, быть медиатором? Возникает много вопросов с глиальными клетками. Количество нейронов среди клеток мозга невелико, а клетки глии составляют 85% от всех клеток. Может ли вещество быть медиатором, если оно действует преимущественно на глию, а не на нейроны? Может ли глиа высвобождать медиатор?

Представления о том, что системы выброса медиатора и рецепторы к нему колокализированы (расположены рядом) и разделены только узкой синаптической щелью между пре- и постсинаптическими клетками также требуют уточнения. Специфичность передачи сигнала может быть обусловлена наличием специализированных рецепторов к данному медиатору на клетках-мишенях, удаленных от места выброса, причем передача сигнала становится медленной и диффузной. Именно так действуют многие нейропептиды и некоторые классические нейромедиаторы, в частности моноамины, которые могут высвобождаться дистантно по отношению к клетке-мишени. Все это приближает механизм действия некоторых медиаторов к представлению о нейрогормонах, секре-

тируемых в межклеточную и спинномозговую жидкость или кровь и модулирующих состояние клетки-мишени, расположенной на значительном расстоянии от секреторной клетки.

В качестве медиаторов нейропептиды также не удовлетворяют догматическим критериям. Строго не доказано, что специфические пептидазы могут вызывать синаптическую инактивацию. Большинство пептидов не вызывают нейронального торможения или возбуждения, как ацетилхолин или ГАМК. Кроме этого пептиды в нервном окончании содержатся обычно в особых синаптических везикулах, которые в отличие от классических медиаторов, заполняются в теле нервной клетки. Эти везикулы секретируют пептиды обычно кальцийнезависимым механизмом экзоцитоза, без последующего эндоцитоза.

Еще меньше отвечают классическим критериям медиаторов газы (NO, H₂S, CO). Они не могут запасаться в синаптических везикулах и высвобождаться экзоцитозом. Более того, для них не существует рецепторов на постсинаптической мембране соседних клеток. Газы диффундируют из нейронов в соседние клетки, где связываются «ферментным рецептором». В отличие от классической схемы газы обычно участвуют в передаче ретроградного сигнала от пост- к пресинаптическому нейрону, а также могут вырабатываться в клетках глии.

Таким образом, после ацетилхолина каждый кандидат в медиаторы изменял наши представления о них. В лекции будут представлены современные данные о всех существующих в настоящее время медиаторных системах, рассмотрена современная интерпретация принципа Дейла.

Вазопрессин: молекулярные основы антидиуретического эффекта

Л.Н. Иванова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск; ludiv@bionet.nsc.ru

В работе обобщены наиболее существенные данные последних лет, характеризующие тенденцию развития представлений о молекулярно-клеточных механизмах регуляции водной проницаемости почечных канальцев, которая составляет основу концентрирующей функции почек и определяет точный контроль осмоляльности циркулирующей плазмы крови и ее объема. Повышение осмоляльности плазмы или уменьшение объема циркулирующей крови стимулирует через соответствующие рецепторные зоны секрецию и высвобождение нейрогипофизом пептидного гормона аргинин-вазопрессина (AVP), являющегося главным регулятором реабсорбции воды в почечных канальцах.

Одним из выдающихся достижений, связанных с именем Питера Агри (P. Agre), удостоенного в 2003 году Нобелевской премии, была идентификация белков, образующих водные каналы в клеточных мембранах [Agre et al., 1987; Agre, 2000]. Это открытие позволило ответить на вопрос о том, каким образом вода быстро пересекает липидные слои клеточных мембран, и какова молекулярная структура внутримембранных частиц, которые ранее были обнаружены и описаны рядом авторов на замороженных сколах мембран клеток эпителия почечных канальцев и клеток мочевого пузыря амфибий [Ganote et al., 1968; Kachadorian et al., 1975; Комиссарчик и др., 1985]. Исследование белков, образующих селективные водные каналы в клеточных мембранах, получивших название «аквапорины» (AQPs), открыло новую эру в развитии представлений о механизмах регуляции трансмембранного потока воды.

Из 13 изоформ аквапоринов, обнаруженных у млекопитающих 8 типов локализованы в различных отделах почечных канальцев [Fenton a. Knepper, 2007; Hasler, 2009]. Аквапорины 1, 2, 3 и 4 типов опосредуют быстрый транспорт воды через высоко проницаемый эпителий почечных канальцев и эндотелий *vasa recta* и играют ключевую роль в процессе осмотического концентрирования.

Открытие аквапоринов поставило вопрос о механизмах вовлечения этих белков в регуляцию водной проницаемости эпителия почечных канальцев вазопрессинном. В настоящее время в регуляции транспорта воды вазопрессинном выделяют 2 независимых механизма различной длительности.

1. Быстрый эффект выявляется в первые минуты действия вазопрессина и обусловлен активацией цепи внутриклеточных реакций, завершающихся транслокацией AQP2 из внутриклеточных везикул в апикальную мембрану.

2. Долговременная регуляция функции эпителия собирательных трубок вазопрессинном основана на изменении содержания в клетках белков — аквапорина2, аквапорина 3 и 4, а также транспортера мочевины UT-A1, и β и γ -субъединиц эпителиального натриевого канала (ENaC).

К настоящему времени последовательность событий, реализующих быстрый эффект вазопрессина, достаточно подробно изучена. Взаимодействие вазопрессина с V_2 -рецептором на поверхности базолатеральной мембраны главных клеток собирательных трубок стимулирует G_s -белок, активирующий аденилатциклазу. Повышение уровня цАМФ приводит к активации

протеинкиназы А (ПКА), которая фосфорилирует AQP2, заключенный в везикулы, по сайту Ser²⁵⁶ С-конца молекулы, при этом по крайней мере 3 из 4 мономеров AQP2 должны быть фосфорилированы для последующего взаимодействия с белками, обеспечивающими встраивание AQP2 в апикальную мембрану или удаление из нее [Zelenina et al., 2000; Nielsen et al., 2002; Noda, Sasaki, 2005; Fenton et al., 2008]. Другие базофильные киназы также могут фосфорилировать AQP2 по Ser²⁵⁶ [Brown et al., 2008]. Координированная доставка везикул, заполненных AQP2, к апикальной мембране осуществляется вдоль элементов цитоскелета благодаря взаимодействию везикулярных белков с белками, которые формируют так называемый «мультипротеиновый моторный комплекс» [Hoffert et al., 2009; Pisitkun et al., 2008; Ходус и др., 2006]. Для транслокации везикул к мембране необходимо также ремоделирование барьерной сети F-актина в апикальной части клетки и высвобождение кальция из рианодинчувствительного депо. Прекращение действия вазопрессина приводит к эндоцитозу AQP2 и восстановлению низкой водной проницаемости мембраны. Процесс осуществляется путем накопления AQP2 в покрытых клатрином пузырьках, образование которых происходит при участии ГТФазы-динамина [Sun et al., 2002].

Один из наиболее существенных локально действующих модуляторов эффекта вазопрессина – простагландин E₂, синтез которого активируется самим вазопрессинем, что обеспечивает обратную связь на основе ауто- и паракринной регуляции [Boone, Deen, 2008; Bachtseva et al., 2007]. PGE₂ оказывает различное действие на водную проницаемость в зависимости от типа рецепторов, G-белков, с которыми они сопряжены, и путей трансдукции сигнала. Ингибирующий эффект PGE₂ на гидросмотический эффект вазопрессина вероятно опосредован EP₁- и EP₃-рецепторами.

Предполагалось, что водная проницаемость базолатеральной поверхности клеток является стабильно высокой, не представляет барьера для потока воды, поступившей в клетку через апикальную мембрану, и не подвергается специфической регуляции [Bankir, 2001; Boone, Deen, 2008]. Прямой эффект вазопрессина на водную проницаемость базолатеральной мембраны был исследован в нашей лаборатории методом компьютерной морфометрии на изолированных фрагментах собирательных трубок, в просвет которых для блокады апикальной мембраны введена капля масла [Соленов и др., 2002; Нестеров и др., 2007; Solenov et al., 2003]. Инкубация кортикальных фрагментов собирательных трубок в течение 25 мин с агонистом V₂-рецепторов вазопрессина (dDAVP, 10⁻⁷М) приводила к двукратному повышению водной проницаемости базолатеральной мембраны. В присутствии хлористой ртути (0,1 мМ Hg₂Cl₂) кинетика набухания клеток резко замедлялась, что явилось свидетельством участия ртуть-чувствительных водных каналов AQP3, локализованных в этом сегменте собирательных трубок. Реакция базолатеральной мембраны на вазопрессин осуществляется с V₂-рецепторов с вовлечением аденилатциклазного пути трансдукции гормонального сигнала, поскольку такой же эффект повышения проницаемости наблюдается в условиях действия дибутирил-цАМФ (0,1 мМ) [Батурина и др., 2004]. В быструю реакцию базолатеральной мембраны на вазопрессин вовлекаются также кальций-зависимые механизмы и протеинкиназа С: связывание внутриклеточного Ca²⁺ хелатором ВАРТА-АМ и обработка каналцев ингибитором ПКС (Ro31-8220) блокировало эффект вазопрессина [Ходус и др., 2006; Соленов и др., 2006].

Таким образом, быстрый ответ на вазопрессин включает повышение водной проницаемости как апикальной, так и базолатеральной мембраны клеток эпителия

собирательных трубок на всем их протяжении, причем этот эффект реализуется с V_2 -рецепторов с вовлечением, по-видимому, одних и тех же внутриклеточных посредников гормонального сигнала. Однако, в отличие от AQP2, для AQP3 и AQP4 пока не получено доказательств их скопления в везикулах и транслокации в базолатеральную мембрану в ответ на вазопрессин. Предполагается что регуляция проницаемости индивидуальных аквапоринов 3 и 4 типа, синтезированных и встроенных в мембрану, осуществляется путем изменения конформации молекулы и ее проводимости в результате фосфорилирования [Zelenina et al., 2002].

Длительная регуляция водной проницаемости эпителия собирательных трубок реализуется на геномном уровне и имеет в своей основе регуляцию транскрипции генов водных каналов и изменение содержания этих белков в главных клетках [Кнеррег, 2002]. Наиболее подробно изучено действие вазопрессина на экспрессию гена AQP2, играющего ключевую роль в регуляции проницаемости собирательных трубок на всем их протяжении. Последовательность событий, индуцированных вазопрессинном и его аналогом dDAVP, исследована на культуре почечных клеток LLC-PK, экспрессирующих V_2 -рецептор и трансфецированных фрагментом промотора гена AQP2 [Yasui et al., 1997]. Установлено, что каталитическая субъединица ПККА, активированная цАМФ, транслоцируется в ядро, фосфорилирует цАМФ-распознающий связывающий белок (CREB) по Ser¹³³, он в комплексе с гетеродимером cFos/cJun связывается с сайтами промотора CRE и AP-1 (цАМФ-распознающий элемент и белок активатор-1), что приводит к активации транскрипции гена AQP2. Мутация AP-1 и CRE редуцирует биосинтез AQP2, стимулированный вазопрессинном. Следует отметить, что CREB мо-

жет быть активирован кроме ПККА и другими киназами, фосфорилирующими Ser¹³³ [Sun et al., 1994].

Антидиуретический эффект вазопрессина в почечных канальцах проявляется в постнатальном онтогенезе к концу периода молочного вскармливания. В нашей лаборатории на модели развивающейся почки крыс изучена цепь внутриклеточных реакций, обеспечивающих трансдукцию сигнала вазопрессина и реализацию его в физиологический ответ [Ходус и др., 2009; Каткова и др., 2009]. Обнаружено что, в процессе постнатального становления реакции почек крыс и мышей на вазопрессин нарастает экспрессия генов V_2 -рецепторов, повышается ГТФазная активность G-белков и их сопряжение с рецептором вазопрессина, увеличивается содержание мРНК и белка AQP2. Таким образом, становление гормональной компетентности почки обусловлено изменением практически всех звеньев трансдукции сигнала вазопрессина. Нелинейный характер возрастной динамики различных элементов механизма действия последнего в развивающейся почке, вероятно, отражает сложный процесс формирования единой консолидированной системы, способной реализовать гормональный стимул.

Экспериментальный анализ молекулярных механизмов действия вазопрессина на процесс осмотического концентрирования дал возможность подойти с новых позиций к изучению патогенеза нарушений водовыделительной функции почек и послужить основой для поиска путей ее коррекции при таких видах патологии, как нефрогенный диабет различной этиологии, сердечная недостаточность, гипертония и другие заболевания, осложненные нарушением водного баланса.

Работа поддержана грантом РФФИ №10-04-01280 и грантом ВНШ № НШ-6477.2010.4.

Поведенческие реакции крыс при аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа

В.А. Кульчицкий, И.В. Стрижак

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск; vladi@fizio.bas-net.by

Наиболее распространенной моделью системного воспалительного процесса, включающего защитные поведенческие реакции, является внутривенное или внутрибрюшинное введение эндотоксина, в качестве которого часто используют липополисахарид кишечной палочки (ЛПС *Escherichia coli*). Однако к естественным моделям поступления индуктора «системного воспаления» в организм такой методологический подход отнести нельзя, поскольку типичным для человека и животных является проникновение чужеродных агентов (в том числе возбудителей инфекций, эндотоксинов) через слизистые оболочки или поврежденные участки кожи. В связи с этим закономерно возникает вопрос – как изменится контроль защитных реакций организма, а также организация поведения крыс в опытах с моделированием естественного контакта эндотоксинов со слизистыми оболочками и кожными покровами, например, со слизистой оболочкой полости носа? Вопрос отнюдь не праздный, учитывая сумятицу в среде специалистов по кишечным инфекциям после обнаружения нового высокопатогенного штамма кишечной палочки, который явился причиной гибели людей в одной из самых развитых стран Европы.

Опыты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар ($n=92$) массой 0,22-0,25 кг. После предварительной адаптации животных в течение 7 сут к экспериментальным условиям (ежедневное наблюдение и хендлинг крыс в виварии, моделирование горизонтальной гипокинезии в боксах, начиная с 20-30 мин фиксации до 4-5 ч, контроль общего состояния животных по приросту массы тела, грумингу,

питьевому поведению и т.п.) осуществляли билатеральную аппликацию 10 мкл эндотоксина *E. coli* в концентрации 1,0; 10,0; 100,0; 1000 мкг/мл на слизистую оболочку полости носа. Для регистрации глубокой температуры тела животных помещали в боксы, которые располагали в термостате при 29°C и влажности 50%, после чего через анальное отверстие на глубину 7-9 см в кишечник вводили термодатчик (электротермометр, «Physitemp», США). Колониальную температуру регистрировали в течение часа до начала экспериментального исследования и на протяжении 5 ч после интраназальной аппликации эндотоксина. Латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) регистрировали с помощью метода hot-plate («Stoelting», США). ЛПНР измеряли за 1 ч до аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа и через 1, 2, 4 и 5 ч после интраназального введения ЛПС *E. coli*. Поведенческую активность крыс изучали в приподнятом крестообразном лабиринте при помощи видеокамеры и компьютерной программы «Stoelting» (США). Лабиринт состоит из четырех площадок, размером каждая 50x10 см, соединенных в виде креста перпендикулярно друг к другу. В центре располагается квадратная площадка 10x10 см. Две площадки, расположенные напротив друг друга, открыты, две другие с трех сторон (кроме торцевой стороны, обращенной к центру) огорожены стенками высотой 30 см. За 1 ч до проведения исследования крыс помещали в клетки, расположенные в экспериментальной комнате, с целью максимальной адаптации к условиям проведения опыта. Изучая

поведение крыс, в течение пяти минут для каждого экспериментального животного регистрировали ряд показателей: количество посещений и время пребывания в открытом, закрытом пространстве и центральном секторе; число эпизодов замираний и их продолжительность, общую пройденную дистанцию, общее время двигательной активности, время неподвижного состояния, среднюю скорость перемещения.

Статистическую обработку результатов проводили методом парных сравнений с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни ($P \leq 0,05$). Данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего.

После интраназальной аппликации 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора у 57,1% экспериментальных животных глубокая температура тела оставалась стабильной. У 42,9% крыс зафиксирована первая фаза подъема глубокой температуры тела на $0,53^{\circ}\text{C} \pm 0,07^{\circ}\text{C}$, свидетельствующая о развитии лихорадки. У 28,6% крыс второй подъем колонической температуры тела на $0,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ наблюдался через 2 ч, что является признаком развития двухфазного лихорадочного ответа. У 14,3% крыс подъем глубокой температуры тела носил монофазный характер. Исходная колоническая температура животных составила $38,1^{\circ}\text{C} \pm 0,07^{\circ}\text{C}$.

Исходная ЛПНР крыс составила $74,9 \text{ с} \pm 12,3 \text{ с}$. Через 1 ч после интраназального введения 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора ЛПНР снизилась на 27,8%. Через 2 и 4 ч после введения ЛПС ЛПНР сохранялась сниженной на 20–30%, а через 5 ч – увеличилась на 15%.

При изучении двигательной активности крыс через 1 ч после аппликации эндотоксина (10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора) на слизистую оболочку полости носа, выявлено увеличение общей пройденной дистанции в 1,4 раза, средней скорости перемещения – в 2 раза, общей двигательной активности – в 1,3 раза по сравнению с показателями крыс, которым прово-

дили имитацию аппликации ЛПС *E. coli*. Общее время неподвижного состояния при этом снизилось в 1,2 раза. При оценке количества посещений, времени пребывания, пройденной дистанции в открытых, закрытых площадках и центральном секторе получены следующие результаты. Через 1 ч после интраназальной аппликации 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора количество посещений открытых площадок и время, проведенное в них, увеличилось в 3,6 и 2,5 раза соответственно. Аналогичная тенденция наблюдалась также в центральном секторе. А именно, количество посещений данной зоны увеличилось в два раза, как и время, проведенное в данной области приподнятого крестообразного лабиринта. Дистанция, пройденная в открытых площадках и центральном секторе, также увеличилась в 4,7 и 1,8 раза соответственно. Через 2 ч после интраназальной аппликации эндотоксина наблюдалось увеличение общего количества и времени эпизодов замираний в 23,6 и 53,8 раза соответственно. При этом замиранья преимущественно происходили в дистальных частях закрытых площадок. Так, количество эпизодов замираний в данных областях приподнятого крестообразного лабиринта увеличилось 19,3 раза. А время замираний – в 47,3 раза.

Зафиксированный паттерн защитных реакций у экспериментальных животных после аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа аналогичен таковому у человека при инициации заболевания вирусной или бактериальной природы (в начальный период развития защитного ответа по типу «fight» “ «борьба», а в последующем по типу «flight» “ «избегание»). Полагаем, что характерный паттерн поведенческой активности животных при аппликации ЛПС на слизистую оболочку носа может быть эффективной и удобной моделью для анализа механизмов системного воспалительного ответа, а также для апробации новых противовоспалительных препаратов.

Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии, их взаимодействие и роль в системной регуляции

Л.Д. Лукьянова, Ю.И. Кирова, Г.В. Сукоян, Э.Л. Германова

НИИ общей патологии и патофизиологии, УРАМН, Москва; ldluckyanova@gmail.com

Адаптация к гипоксии – это эволюционно сформировавшаяся ответная реакция организма, направленная на поддержание и сохранение кислородного и энергетического гомеостаза в условиях дефицита кислорода. Различают две стадии формирования механизмов адаптации: 1) фазу индукции адаптации; 2) фазу формирования геном-зависимых реакций долгосрочной адаптации. Фаза индукции адаптации характеризуется, как правило, увеличением срочной толерантности (резистентности). Одновременно в этот период активируются множественные соподчиненные сигнальные системы, составляющие основу для формирования отсроченных геномзависимых защитных эффектов долгосрочной адаптации. Главным медиатором адаптивных процессов при гипоксии является специфический гипоксический белковый фактор HIF-1 α . Однако в литературе рассматриваются и другие сигнальные пути, которые могут участвовать в этом процессе: свободнорадикальные реакции, провоспалительные факторы, система оксида азота и др. Существует также точка зрения, что аккумуляция HIF-1 α при гипоксии связана с репрограммированием работы дыхательной цепи и увеличением образования эндогенного сукцината – ингибитора реакций его протеасомальной деградации и активатора его кислороднезависимого синтеза в сигнальных путях IP3K и MAPK. Тем не менее, вопрос о триггерных механизмах адаптации к гипоксии в настоящее время остается открытым. В связи с этим нами были изучена роль и соотношение некоторых ведущих сигнальных систем на разных стадиях формирования адаптации

и их зависимость от тяжести гипоксического воздействия.

Влияние гипоксических воздействий на экспрессию HIF-1 α и формирование резистентности. Сразу же после любого часового гипоксического воздействия (сравнительно слабого при моделировании интервальной нормобарической гипоксии (ИНГ), 10% O₂; средней тяжести – при гипобарической гипоксии на «высоте» 5000 м, 10% O₂ (ГБГ) 5000; тяжелого – при ГБГ–7000 м, 4% O₂) в неокортексе неустойчивых к гипоксии крыс развивались однотипные фазные изменения: а) увеличение содержания HIF-1 α – результат ингибирования его кислород-зависимой протеасомной деградации в пролилгидроксилазных реакциях; б) снижение его уровня в последующие 2 ч; в) вторичное увеличение его содержания через сутки, что может быть результатом индукции его кислороднезависимого синтеза, контролируемого сигнальными путями IP3K и MAPK. При курсовом применении гипоксических воздействий фаза, характеризующаяся вторичным повышением уровня HIF-1 α , сохранялась до 8-12 тренировок, после чего он несколько снижался, что отражало завершение формирования адаптации. Эта динамика коррелировала с таковой формирования срочной резистентности неустойчивых животных к гипоксии: ее первичным увеличением, быстрым последующим снижением, вторичным увеличением через 24 ч и вторичным снижением после 15 тренировок.

Ответная реакция HIF-1 α на гипоксические воздействия в неокортексе устойчивых к гипоксии крыс, характери-

зующихся отсутствием способности адаптироваться к гипоксии, отличалась от неустойчивых животных: а) существенно меньшей аккумуляцией HIF-1 α , либо вообще отсутствием этой реакции в неокортексе сразу после однократного часового гипоксического воздействия; б) снижением содержания HIF-1 α сравнительно с фоновыми его значениями в процессе курсового применения гипоксических воздействий. Таким образом, существует четкая корреляция между уровнем экспрессируемого HIF-1 α и формированием срочной и долгосрочной адаптации к гипоксии.

Роль ПОЛ и окислительно-восстановительных процессов при формировании адаптации к гипоксии. В настоящее время широко распространена точка зрения, что постгипоксическая реоксигенация способствует усилению свободнорадикальных процессов в тканях и развитию окислительного стресса, который считается триггерным механизмом, запускающим весь последующий каскад сигнальных процессов, необходимых для формирования срочной резистентности к гипоксии. Постулируется, например, что генерируемые во время гипоксического воздействия или в постгипоксический период свободные радикалы могут вызывать инактивацию пролил-гидроксилазных реакций, ответственных за протеасомную деградацию HIF-1 α , что и способствует его аккумуляции. Наряду с этим, имеются работы, доказывающие, что гипоксическое воздействие в режиме прекодиционирования способствует подавлению свободнорадикальных процессов и может защищать клетку от окислительного стресса. При этом сохраняется способность к формированию срочной резистентности. Полученные нами результаты показали, что в первые несколько часов после гипоксических воздействий в разных режимах можно наблюдать как активацию, так и подавление свободнорадикальных процессов. Направленность

реакций тканеспецифична и противоположна у разных фенотипов животных, характеризующихся генетически детерминированными различиями в толерантности к гипоксии. У неустойчивых крыс применение гипоксических воздействий в режиме прекодиционирования, наиболее благоприятного для формирования срочной резистентности организма к гипоксии, протекало в неокортексе и крови на фоне снижения в первые сутки постгипоксического периода уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ, уменьшения активности каталазы и супероксиддисмутазы (как митохондриальной, так и общей) и отсутствия достоверных изменений в системе глутатиона, т.е. при отсутствии признаков окислительного стресса. Наоборот, в тканях высокоустойчивых животных, обладающих более низкой способностью к формированию резистентности либо ее отсутствием, гипоксическое прекодиционирование стимулировало появление признаков активации свободнорадикальных процессов. Делается вывод, что активация свободнорадикальных процессов в ранний период формирования адаптивных признаков (первые часы после гипоксического воздействия в режиме прекодиционирования) не участвует в инициации срочных механизмов адаптации к гипоксии.

Роль цитокинов в формировании адаптации к гипоксии. Цитокины – регуляторные низкомолекулярные полипептиды или гликопротеины, секретируемые лейкоцитами, макрофагами, тромбоцитами, эндотелиальными и некоторыми другими клетками, играют центральную роль в иммунном ответе и участвуют в ответной реакции организма на острые и хронические стрессорные воздействия, в том числе и на гипоксию, причем в этих случаях их уровень многократно увеличивается. Считается, что гипоксия может быть промотором хронического воспаления через активацию цитокинов. В связи с этим

активно развивается представление о том, что цитокины могут активировать кислороднезависимые сигнальные пути синтеза HIF-1 α (MAPK, ERK и PI3K), т.е. что они задействованы в формировании срочных механизмов адаптации к гипоксии, способствуя активации транскрипционных процессов, необходимых для формирования долгосрочной адаптации. Тем не менее, в литературе отсутствуют данные об их роли в формировании постгипоксического ответа и сопутствующих адаптивных реакций как в случае однократных, так и многократных гипоксических воздействий.

Проведенные нами исследования показали, что в первые сутки после однократного применения ИНГ, которое сопровождалось увеличением уровня HIF-1 α и формированием срочной резистентности, изменений в содержании цитокинов в крови не наблюдалось. При увеличении тяжести гипоксического воздействия (ГБГ-5000) содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов многократно увеличивалось с первой минуты постгипоксического периода, однако это не влияло ни на уровень HIF-1 α , ни на степень выраженности срочной резистентности. Следовательно, данная группа цитокинов не участвует в индукции HIF-1 α на стадии срочной адаптации.

Однако при курсовом применении любых гипоксических воздействий уровень цитокинов повышался (в период 3-8 тренировок), что предполагает возможность участия этих факторов в формировании долгосрочной адаптации.

Роль NO в формировании адаптации к гипоксии. NO является главным медиатором в поддержании сосудистого гомеостаза. Снижение его продукции приводит к нарушению вазодилататорных свойств сосудов, способствует образованию тромбосана A₂, эндотелина-1, проапоптотических факторов, инициирующих процессы тромбообразования, вазоконстрикции, апоп-

тоза, окислительного стресса и деструкции мембран. Наряду с этим он участвует в образовании O-Fe²⁺-комплекса и, благодаря этому, подавляет индуцированные свободными радикалами нарушения электрон-транспортной функции дыхательной цепи, ингибирует HIF-1 α -зависимую ДНК-связывающую активность и экспрессию индуцибельных в условиях гипоксии генов, т.е. участвует в формировании адаптивных реакций.

Согласно полученным нами данным, в первые сутки после первого применения гипоксии любой тяжести наблюдалось снижение содержания метаболитов NO в сыворотке крови, сменяющееся после 3-8-го гипоксического воздействия его сравнительно небольшим повышением и вторичным снижением после 15-й тренировки. Следовательно, в ранний постгипоксический период (период индукции адаптации) отсутствует корреляция между уровнями HIF-1 α и NO, что ставит под сомнение триггерную роль последнего в аккумуляции гипоксического фактора.

Таким образом, индукция срочной адаптации к гипоксии и формирование долгосрочной адаптации генетически детерминированы и наблюдаются только у неустойчивых к гипоксии животных. Этот процесс коррелирует с увеличением содержания HIF-1 α , которое обеспечивается двумя механизмами: ингибированием пролилгидроксилазных реакций и последующей активацией кислороднезависимого его синтеза. Формирование срочной резистентности организма в ответ на гипоксическое воздействие более выражено у неустойчивых к гипоксии животных, в тканях которых в ранний постгипоксический период наблюдается аккумуляция HIF-1 α и отсутствуют признаки окислительного стресса. Наоборот, в тканях высокоустойчивых животных, обладающих более низкой способностью к формированию резистентности, гипоксическое воздействие не

индуцирует аккумуляцию HIF-1 α , но стимулирует активацию свободнорадикальных процессов. Из этого следует, что свободнорадикальные процессы не участвуют в формировании ранних адаптивных признаков, однако могут вовлекаться в формирование долгосрочной адаптации к гипоксии. Цитокины и NO так же могут влиять на формирование долгосрочной адаптации, но не участвуют в индукции срочной адаптации и первичной аккумуляции HIF-1 β . Наиболее вероятным механизмом, ответственным за этот процесс, является сукцинатзависимая сигнальная регуляторная система, контролируемая рецептором GPR-91 и ответственная за репрограммирование в условиях гипоксии работы дыхательной цепи (активация митохондриального комплекса II) и увеличение образования эндогенного сукцината – ингибитора пролилгидроксилазных реакций и активатора кислороднезависимого синтеза HIF-1 α .

Следует отметить, что на завершающем этапе курсовых гипоксических воздействий на фоне общего увеличения резистентности к дефициту кислорода

наблюдается резкое увеличение уровня эндотелина-1 и провоспалительных цитокинов, снижаются уровень ИЛ-10 и продукция NO, происходит усиление окислительной модификации холестеринсодержащих ЛПНП. Все эти факторы свидетельствуют о формировании в процессе адаптации напряженности атерогенных, иммунопротивовоспалительных и защитных систем, а также системы кислородного гомеостаза организма. При длительном применении гипоксических воздействий они могут привести к неконтролируемой гипертензии, нарушениям эндотелиальной функции, снижению резистентности мембран и белковых структур к окислению, что одновременно с нарушениям в тромбоцитарном звене гемостаза, может запустить механизмы атеросклеротического поражения тканей, привести к дисрегуляторным сдвигам во взаимодействии сигнальных механизмов срочной и долгосрочной адаптации. Динамика описанных явлений делает необходимым разработку индивидуального алгоритма кратности и длительности гипоксических тренировок.

Роль ионов кальция в патологических состояниях нервной системы

Е.А. Лукьянец

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев; elena@biph.kiev.ua

Функциональная роль входа ионов кальция через ионные каналы, как основного компонента одной из систем внутриклеточной сигнализации, чрезвычайно многогранна. В возбудимых клетках такой вход, вызванный деполяризацией мембраны и открытием ее потенциалуправляемых кальциевых каналов, инициирует ряд основных клеточных функций. В то же время, в случае патологических изменений в организме, можно ожидать существенные нарушения в механизмах кальциевой сигнализации, приводящие к соответствующим изменениям в функции нервных клеток. К таким патологическим состояниям нервной системы относятся ишемия/гипоксия, эпилепсия и ряд других патологических состояний, которые могут вызывать самые драматические изменения – чрезмерное повышение содержания ионов кальция в клетке, которое приводит к ее гибели.

Одним из наиболее распространенных повреждающих факторов, который приводит к патологическому состоянию мозга является гипоксия – понижение содержания кислорода в тканях мозга. В зависимости от уровня гипоксии и ее продолжительности наблюдается клеточная смерть, которая может быть результатом быстрого некроза или более медленных апоптотических процессов. Начальным источником такого повышения содержания кальция в клетке является чрезмерный вход ионов в связи с массивной активацией мембранных кальцийпроницаемых NMDA-каналов глутаматом; возникающая деполяризация мембраны дополнительно активировать также потенциалуправляемые кальциевые кана-

лы. Важным последующим звеном является существенное повышение захвата ионов кальция митохондриями, которое может приводить к открытию в их мембране пор переходной проницаемости, через которые в цитозоль освобождается ряд факторов, стимулирующих процесс апоптоза. Дисфункция других структур, участвующих в аккумуляции и транспорте кальция, может потенцировать повреждающие воздействия. Подробный анализ указанных процессов стал возможным благодаря измерениям содержания ионов кальция в цитозоле и внутриклеточных структурах, а также взаимодействия этих изменений. Исследования в данной области имеют первостепенное значение для понимания базисных механизмов развития патологических состояний и для поиска эффективных путей их компенсации.

Таким образом, потенциалуправляемые кальциевые каналы могут играть существенную роль в развитии отдельных патологий мозга, включая те, которые наблюдаются в условиях ишемии/гипоксии. Действительно, достаточно давно известно, выраженное протективное действие распространенных блокаторов кальциевых каналов при ишемических/гипоксических влияниях на нервные ткани. Так, были показаны протективные свойства нимодипина и флунаризина, селективных блокаторов кальциевых каналов L-типа [3]. Эти блокаторы оказались на 50-100% эффективнее, когда они присутствовали до и сразу же после начала ишемии, а также после длительного влияния гипоксии, и этим их эффект отличался от кратковре-

менного действия блокаторов NMDA-рецепторов. Рядом опытов было также подтверждено, что блокаторы N-типа кальциевых каналов (ω -конотоксин MVIIA) с меньшей эффективностью (50%) предотвращали разрушение нервной ткани ишемией/гипоксией [2]. В этом случае токсин мог скорее влиять на пресинаптическое высвобождает глутамата.

В наших исследованиях мы сравнивали гипоксические влияния на сенсорные и гиппокампальные нейроны крысы до и после добавления специфических блокаторов кальциевых каналов. Поскольку в сенсорных нейронах доминирующим типом кальциевых каналов являются каналы L-типа, в качестве такого блокатора был использован нифедипин. Мы установили, что добавление нифедипина почти полностью предотвращало индуцируемое гипоксией повышение $[Ca^{2+}]_i$, которое снижалось до 13% в присутствии этого соединения. Полученные результаты подтверждают предыдущий вывод о том, что вход Ca^{2+} из внеклеточной среды является определяющим в генерации описанного эффекта гипоксии, причем кальциевые каналы плазматической мембраны могут служить основным путем такого входа.

Как было показано в многочисленных экспериментах, разные типы клеток экспрессируют неодинаковые комбинации L-, N-, P-, Q-, R- и T-типов кальциевых каналов и в разных пропорциях [5, 10, 13]. Последнее и определяет конкретные особенности и характеристики потенциалзависимости и кинетики интегральных кальциевых токов через мембрану. Так, преобладание кальциевых каналов L- и N-типа было показано в CA1-нейронах гиппокампа крыс [14, 17]). Поэтому очень важным является определение того, отличается ли чувствительность отдельных типов кальциевых каналов к гипоксическим влияниям.

Мы установили, что кальциевые каналы нейронов гиппокампа “чувствительны” к

гипоксии уже при $pO_2 = 90-100$ мм рт.ст. Однако, когда этот показатель становится ниже чем 40 мм рт.ст., эффект критически увеличивается [16]. Поэтому можно допустить, что физиологический нормоксический диапазон pO_2 для CA1-нейронов гиппокампа находится выше 40 мм рт.ст. Снижение pO_2 до 15–30 мм рт.ст. вызывало увеличение амплитуды интегрального кальциевого тока на 94% в нейронах гиппокампа [13, 15]. По сравнению с другими типами кальциевых каналов, L-тип имеет особенно высокую чувствительность к гипоксии. С использованием селективных ингибиторов этих каналов установлено, что блокирование антагонистами кальциевых каналов L-типа уменьшало гипоксический эффект на 54%, а N-типа лишь на 30%. Принимая к сведению процентное соотношение этих каналов в нейронах гиппокампа, мы установили, что оба типа каналов подвержены влиянию гипоксии, однако каналы L-типа в 3,5 раза более восприимчивы к ней [13]. Такая исключительная чувствительность кальциевых каналов L-типа к гипоксии не удивляет, поскольку существует целый ряд исследований, в которых использовались антагонисты этих каналов, и была показана протективная роль этих блокаторов по отношению к гипоксии [1, 4, 13].

Высокую чувствительность кальциевых каналов L-типа к гипоксии можно объяснить некоторыми молекулярными особенностями их α_1 - и β -субъединиц, которые определяют их высокую метаболическую зависимость по сравнению с другими подтипами кальциевых каналов. Такие их свойства как высокая чувствительность к внутриклеточному Ca^{2+} [6], восприимчивость к фосфорилированию протеинкиназами A, C, G и CaMII [7, 8, 11], регуляция фосфатазами [6, 9, 12], чувствительность к pH, были описаны, прежде всего, для каналов L-типа. Вероятно, что такая функциональная их лабильность, которая позво-

ляет им принимать участие в тонкой регуляции внутриклеточного метаболизма Ca^{2+} , может делать эти каналы чрезвычайно «опасными» в условиях дефицита кислорода. Однако, по-видимому, не следует рассматривать эти каналы как природные кислородные сенсоры нейронов; скорее всего их гипоксическая чувствительность является нежелательным побочным эффектом.

Учитывая возможную патофизиологическую роль высокочувствительных кальциевых каналов L-типа к гипоксии, необходимо иметь в виду чрезвычайную вариабельность экспрессии кальциевых каналов разных типов в различных типах нейронов. Поэтому повреждающий эффект гипоксии может существенно варьировать в зависимости от региона нервной системы. Такие отличия между нейронами могут усиливаться не одинаковыми взаимодействиями гипоксического влияния на кальциевые каналы L-типа с иными факторами, в первую очередь с увеличенным выделением глутамата и результирующей эксцитотоксичностью, вызванной вторичным входом Ca^{2+} в клетку. Благодаря чувствительности кальциевых каналов L-типа к гипоксии, присутствие этих каналов в синаптических структурах может в свою очередь значительно усиливать повреждающее влияние глутамата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brown A.M., Westenbroek R.E., Catterall W.A., Ransom B.R. Axonal L-type Ca^{2+} channels and anoxic injury in rat CNS white matter // *J.Neurophysiol.* – 2001. – **85**. – P. 900-911.
2. Buchan A.M., Gertler S.Z., Li H., Xue D., Huang Z.G., Chaundy K.E., Barnes K., Lesiuk H.J. A selective N-type $\text{Ca}(2+)$ -channel blocker prevents CA1 injury 24 h following severe forebrain ischemia and reduces infarction following focal ischemia // *J.Cereb. Blood Flow Metab.* – 1994. – **14**. – P. 903-910.
3. Deshpande J.K., Wieloch T. Flunarizine, a calcium entry blocker, ameliorates ischemic brain damage in the rat // *Anesthesiology.* – 1986. – **64**. – P. 215-224.
4. Guo Z., Shi F., Zhang L., Zhang H., Yang J., Li B., Jia J., Wang X., Wang X. Critical role of L-type voltage-dependent Ca^{2+} channels in neural progenitor cell proliferation induced by hypoxia // *Neurosci.Lett.* – 2010. – **478**. – P. 156-160.
5. Kostyuk P.G. Low-voltage activated calcium channels: achievements and problems // *Neuroscience.* – 1999. – **92**. – P. 1157-1163.
6. Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A. Mechanisms of antagonistic action of internal Ca^{2+} on serotonin-induced potentiation of Ca^{2+} currents in *Helix* neurones // *Pflug. Arch.* – 1993. – **424**. – P. 73-83.
7. Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A., Doroshenko P.A. Effects of serotonin and cAMP on calcium currents in different neurones of *Helix pomatia* // *Pflug. Archiv Europ. J. Physiol.* – 1992. – **420**. – P. 9-15.
8. Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A., Ter-Markosyan A.S. Parathyroid hormone enhances calcium current in snail neurones - Simulation of the effect by phorbol esters // *Ibid.* – P. 146-152.
9. Lukyanetz E.A. Calcium channel activity in NG108-15 cells overexpressing protein phosphatase-2B // *Neurophysiology.* – 1997. – **29**. – P. 261-263.
10. Lukyanetz E.A. Diversity and properties of calcium channel types in NG108-15 hybrid cells // *Neuroscience.* – 1998. – **87**. – P. 265-274.
11. Lukyanetz E.A., Kostyuk P.G. Two distinct receptors operate the cAMP cascade to up-regulate L-type Ca channels // *Pflug. Archiv Europ. J. Physiol.* – 1996. – **432**. – P. 174-181.
12. Lukyanetz E.A., Piper T.P., Sihra T.S. Calcineurin involvement in the regulation of high-threshold Ca^{2+} channels in NG108-15 (rodent neuroblastoma x glioma hybrid) cells // *J.Physiol.* – 1998. – **510**. – P. 371-385.
13. Lukyanetz E.A., Shkryl V.M., Kostyuk P.G. Action of hypoxia on different types of calcium channels in hippocampal neurones // *BBA.* – 2003. – **1618**. – P. 33-38.
14. Lukyanetz E.A., Shkryl V.M., Pochynyuk O.M., Zaika O.L., Kostyuk P.G. Molecular mechanisms of levetiracetam action on calcium channels in CA1 hippocampal neurons // *Eur.J.Neurol.* – 2002. – 9/S2. – P. 178.
15. Lukyanetz E.A., Shkryl V.M., Kravchuk O.V., Kostyuk P.G. Effect of hypoxia on calcium channels depends on extracellular calcium in CA1 hippocampal neurons // *Brain Res.* – 2003. – **980**. – P. 128-134.
16. Shkryl V.M., Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A. Dual action of cytosolic calcium on calcium channel activity during hypoxia in hippocampal neurones // *Neuroreport.* – 2001. – **12**. – P. 4035-4039.
17. Shkryl V.M., Nikolaenko L.M., Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A. High-threshold calcium channel activity in rat hippocampal neurones during hypoxia // *Brain Res.* – 1999. – **833**. – P. 319-328.

Системные и молекулярно-генетические механизмы кардиопротекции

А.А. Мойбенко

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев

Огромное число людей в Украине погибает от сердечно-сосудистых заболеваний и составляет более 60 % от общей структуры смертности. Это обуславливает насущную необходимость интенсификации исследований в этом направлении с акцентом на разработку патогенетически обоснованных и высокоэффективных методов профилактики и терапии сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых основное внимание исследователей привлекают атеросклероз, острый инфаркт миокарда, патологическая гипертрофия и недостаточность сердца. Тот факт, что, как правило, наблюдается сочетание этих патологических процессов, даёт возможность рассчитывать на существование определённой общности патогенетических механизмов этих заболеваний и, соответственно, на возможность разработки однотипных или, по крайней мере близких по характеру методических подходов к терапии этих состояний.

Исследования патофизиологов Института физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ в последние 30 лет направлены на решение этих сложных задач.

Одним из наиболее важных достижений последних лет в области теоретической медицины является выяснение ряда закономерностей развития патологических процессов, обусловленных определённой последовательностью включения эндогенных механизмов на основе генетической программы. Это стало возможным благодаря интенсивному развитию молекулярно-генетических, а в последние годы – нанотехнологий и накоплению большого

фактического материала об эндогенных генетических, молекулярных аспектах регуляции функций организма и её нарушений. Не удивительно, что этот огромный фактический материал требует определённой упорядоченности, что предпринимается в последние годы (Г.Н. Крыжановский, J.F. Kerr et al. 1972, С.Е. Murry et al. 1986, Z.A. Zao et al. 2003, N. Festiens et al. 2006 и др.). Важное значение в этом отношении имеет проект «физиом», который считается одним из наиболее перспективных направлений в физиологии 21-го столетия (D. Noble et al. 2009). Не претендуя на позицию первооткрывателя и понимая свои ограниченные возможности, тем не менее, нам хотелось бы изложить свои соображения по проблеме эндогенеза в физиологических и патологических процессах. Условно можно разделить эндогенные механизмы на эндогенные факторы патогенеза (эндопатогенез) и эндогенные факторы защиты (эндопротекция).

Первое, что хотелось бы подчеркнуть, это то, что патологические влияния являются лишь пусковым фактором, который активизирует эндогенные, присущие самому организму регуляторные механизмы, резко усиливает и пролонгирует их действие, что в конечном итоге приводит к патологии, или, по Г.Н. Крыжановскому (2002): «Повреждение играет роль причины и триггерного механизма развития патологического процесса, который осуществляется собственными, вторично возникающими, присущим самим изменённым структурам эндогенным механизмам». Другими словами, в организме существуют собственные

эндогенные механизмы, которые приводят к заболеванию и смерти.

Второе – это представления о «функциональной структурированности» в программировании эндогенного патологического процесса и эндогенной протекции. В качестве наиболее ярких примеров – механизмы апоптотической и аутофагической гибели клетки, механизмы защиты сердца при ишемии путём открытия АТФ-зависимых калиевых каналов (Noma, 1983, Струтинский, 2005, 2010 и др.).

Третья особенность вытекает из второй. Обусловленность развития, запрограммированность предполагает генетическую составляющую. Рядом исследователей, в том числе и в нашем отделе, показано, что полиморфизм гена, который кодирует функцию эндотелиальной NO-синтазы, в украинской популяции встречается значительно чаще у больных с острым коронарным синдромом, чем у других людей региона (В.Е. Досенко, 2006), что совпадает с данными про распространённость этой патологии в мире. Более того, показана зависимость между наличием такого рода полиморфизмов гена eNOS и активностью фермента eNOS – образованием NO и течением заболевания. Это одно из немногих прямых доказательств патогенетической связи между генетическими и функциональными нарушениями.

Четвертое, с нашей точки зрения, основная роль в реализации этих эндогенных молекулярно-генетических факторов принадлежит белкам-ферментам. Изменения экспрессии генов, которые кодируют эти белки-ферменты, изменения их активности и являются эфферентными звеньями процессов эндопатогенеза и эндопротекции.

Анализ эндогенных факторов патогенеза и протекции свидетельствует, с нашей точки зрения, что развитие патологических процессов в большей части случаев обусловлено активацией ферментов и вообще активационными процессами в организме,

тогда как эндопротекция, напротив, обусловлена тормозными по своей направленности факторами, или можно сформулировать иначе: развитие патологического процесса связано в большей мере с утратой тормозного контроля над активностью белков-ферментов, что требует восстановления этого контроля.

Хотелось бы подчеркнуть, что этот путь уже довольно давно используется в клинической практике (блокада адренергических рецепторов, блокада кальциевых каналов, ингибирование АПФ, фармакологическое открытие АТФ-зависимых калиевых каналов, применение статинов и т.д.). Естественно, что эта концепция о роли тормозных кардиопротекторных механизмов не может быть распространена на патологические процессы, характеризующиеся крайней степенью нарушения функций (шок, коллапс, остановка дыхания и т.д.).

В настоящей лекции будут рассмотрены основные, с нашей точки зрения, доказательства выдвинутых положений, полученные на моделях острого инфаркта миокарда, моделируемого в условиях опытов, максимально приближённым к физиологическим, на собаках и крысах, экспериментального холестерина атеросклероза (кролики) и патологической гипертрофии адренергического происхождения (крысы).

Полученные нами данные функциональных, биохимических и генетических исследований свидетельствуют о важнейшей роли в развитии упомянутых патологических состояний таких ферментных систем, как фосфолипаза А₂ – липоксигеназы и система протеасомального протеолиза.

Нами показано, что острый инфаркт миокарда сопровождается активацией системы фосфолипазы А₂: арахидоновая кислота, активация липоксигеназ, усиление образования лейкотриенов, в частности пептид лейкотриенов (LTC₄), что приводит

к коронаростенозу, нарушению ритма, мощному хемоаттрактантному эффекту для нейтрофилов и активацией свободнорадикальных процессов. Это весьма мощный эндогенный механизм нарушения деятельности сердца. В наших исследованиях (А.О. Лисовой, 2009) показано, что специфическое заглушение гена 5-липоксигеназы (ALOX-5) с помощью микроРНК резко изменяет течение патологического процесса, приводя к значительному уменьшению образования лейкотриена С₄ и четырёхкратному уменьшению зоны некротического повреждения миокарда при окклюзии коронарного сосуда у крыс. Аналогичные результаты получены в экспериментах на культуре изолированных неонатальных кардиомицитов, когда с помощью соответствующих микроРНК удалось уменьшить количество некротических клеток при аноксии–реоксигенации вдвое. Таким образом, нами впервые доказано, что эндогенный, запрограммированный путь активации определённого фермента (5-липоксигеназы) является одним из важнейших в патогенезе поражений сердца при остром инфаркте миокарда, и, напротив, торможение активности определённого фермента является весьма эффективным путём кардиопротекции.

Следует полагать, что образование тормозных по своей природе микро-РНК этого эндогенного тормозного механизма будет обуславливать в определённой степени характер развития ишемической патологии у того или иного организма. Вероятно, что этот механизм может иметь существенное значение и при атеросклеротическом процессе. Во всяком случае, по данным M. Mehraian et al (2002) нокаут гена 5-липоксигеназы эффективно блокирует развитие экспериментального атеросклероза.

Следует подчеркнуть, что и такие реакции при ишемии–реперфузии и инфаркте миокарда, как кардиогенные депрессорные рефлексы, индукция синтеза и

высвобождения из сердца натрийуретических гормонов (ANP, BNP, CNP) приводят к вазодилатации, уменьшению объёма циркулирующей крови, продукции эндотелина-1, ренина, торможению функции кальциевых каналов L-типа и открытию АТФ-зависимых калиевых каналов и являются комплексом кардиопротекторных механизмов тормозного характера.

В этой связи следует отметить, что нами был разработан метод терапии острого инфаркта миокарда путём использования препаратов ингибиторов ферментов. По данным E. jr Middleton et al. (2000), биофлавоноид кверцетин является в той или иной степени ингибитором практически всех ферментов и, что особенно важно с точки зрения разрабатываемой нами концепции, весьма эффективным ингибитором фосфолипазы А₂ и липоксигеназы, а также антиоксидантом. Нами разработан и запущен в производство на Борщаговском химико-фармацевтическом заводе (г. Киев) первый в мировой практике водорастворимый ингибитор липоксигеназы корвитин, действующим началом которого является биофлавоноид кверцетин. Препарат оказался весьма эффективным кардиопротектором как в эксперименте, так и в клинике острого инфаркта миокарда. Корвитин внедрён в целый ряд клиник в Украине (А.Н. Пархоменко, 2008). Недавние наши исследования (В.Л. Гурьянова, 2010) показали, что корвитин оказывает интенсивный эффект на экспрессию мРНК мозгового натрий-уретического пептида – эффективного кардиопротектора тормозного действия, уровень мРНК ВРРВ увеличивается более, чем в 10 раз в миокарде крыс.

Весьма интересными оказались данные и о роли протеасомного протеолиза. При экспериментальном холестериневом атеросклерозе наблюдается значительное увеличение всех трёх активностей протеасомы как в клетках крови, так и тканях аорты и сердца (Д.А. Пашевин, 2009). Ингиби-

рование протеасомной активности с помощью корвитина значительно уменьшало активность протеасомного протеолиза и в то же время степень атеросклеротического поражения аорты. Эти данные свидетельствуют о возможности терапии атеросклероза в клинической практике с помощью ингибирования протеасомы.

Протеасомный протеолиз играет существенную роль и при развитии гипертрофии миокарда и ремоделировании сердца. Наряду с такими активационными процессами, как увеличение экспрессии генов эмбрионального развития α -актина, β -миозина, активация роста фибробластов, орнитиндекарбоксилазы, РНК-полимеразы, 20S-протеасомы приводит к деградации IKB – ингибитора транскрипторного фактора NF- κ B, транслокации последнего в ядро клетки и инициации транскрипторной программы, вызывающей развитие гипертрофии миокарда (W.E. Stanfield et al., 2008). Кроме того, при торможении активности протеасомы повышается уровень кардиоспецифических микроРНК, особенно miP-1, способствующей торможению процессов гипертрофии, а также увеличивается суммарная активность системы натрийуретических пептидов и, следовательно, кардиопротекторного потенциала. Таким образом, активация фермента протеасомы способствует, а её торможение препятствует развитию гипертрофии миокарда.

Как показали наши исследования, корвитин, ингибируя протеасому, препятствует

развитию фибротических изменений миокарда и ремоделированию сердца различного генеза (М.А. Кузьменко, 2010).

Таким образом, молекулярно-генетические механизмы играют решающую роль как в патогенезе заболеваний сердца (эндопатогенез), так и в компенсации его нарушенных функций (эндопротекция). В развитии патологических процессов в сердечно-сосудистой системе важнейшее значение имеет активация катаболических ферментов (фосфолипаз, липоксигеназ, протеасомы), нарушающих структуру и функцию клеточных мембран и ведущих к накоплению патогенных цитокинов и эйкозаноидов, проапоптотическим реакциям.

Эти патогенные механизмы могут быть существенным образом нейтрализованы эндогенными механизмами кардио- и васкулопротекции, в основном за счёт торможения эффекторных механизмов на генетическом, белковом, клеточном и системном уровнях.

Эффективность кардиопротекторных препаратов, по-видимому, определяется степенью соответствия их эффектов таковым эндогенных механизмов защиты сердца.

Разработанные нами новые кардиопротекторы корвитин и флокалин (новый открыватель АТФ-зависимых калиевых каналов) удовлетворяют этим требованиям, что подтверждается высокой эффективностью некоторых из них в клинике острого инфаркта миокарда.

Потенциалзависимые кальциевые каналы разных типов в нервно-мышечных синапсах позвоночных и их вклад в модуляцию процесса нейросекреции

Е.Е. Никольский

*Казанский институт биохимии и биофизики РАН;
Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Потенциалзависимые кальциевые каналы играют важную роль в синаптической передаче возбуждения, обеспечивая вход ионов кальция в пресинаптическое нервное окончание, инициирующего экзоцитоз нейромедиатора. Помимо количества высвобождаемых квантов медиатора (квантовый состав потенциалов постсинаптического ответа) важной характеристикой экзоцитоза является степень синхронности выделения отдельных квантов, формирующих многоквантовый ответ (кинетика секреции). Ранее нами была показана зависимость временных параметров секреции квантов медиатора от внеклеточной концентрации ионов кальция, однако оставалось невыясненным, при участии кальциевых каналов какого типа осуществляется модуляция квантового состава и кинетики секреции. Было принято считать, что в отличие от синапсов центральной нервной системы, где в реализации процесса нейросекреции участвуют потенциалзависимые кальциевые каналы разных типов, в синапсах периферической нервной системы зрелых животных экзоцитоз опосредован преимущественно одним типом кальциевых каналов. Для нервно-мышечного соединения теплокровных – это каналы $Ca_v2.1$, блокируемые токсином FTX и ω -агатоксином IVA, а для синапсов лягушки – каналы $Ca_v2.2$, блокатором которых является ω -контотоксин GVIA. Вместе с тем способность специфического блокатора $Ca_v2.1$ -каналов FTX снижать количество высвобождаемых квантов нейромедиатора в синапсах лягуш-

ки и эффекты дигидропиридинов, блокирующих $Ca_v1.2$ -каналы в развивающихся синапсах Хепорус, указывают на возможность участия кальциевых каналов других типов в регуляции экзоцитоза в периферическом синапсе холоднокровных. В свою очередь, в нервно-мышечном синапсе крысы иммуногистохимическими методами показано представительство потенциалзависимых кальциевых каналов $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$, $Ca_v2.3$ типов (Day et al., 1997), а в синапсах мышцы и рака выявлена модуляция экзоцитоза посредством изменения активности не только $Ca_v2.1$, но и $Ca_v2.2$ и $Ca_v1.2$ кальциевых каналов.

В настоящем исследовании для выявления типов потенциалзависимых кальциевых каналов, представленных в синапсах лягушки, крысы и мышцы был проведен иммуногистохимический анализ с использованием поликлональных антител против основных каналообразующих субъединиц $\alpha1A$ ($Ca_v2.1$), $\alpha1B$ ($Ca_v2.2$), $\alpha1C$ ($Ca_v1.2$), $\alpha1D$ ($Ca_v1.3$), $\alpha1E$ ($Ca_v2.3$). Оценку иммунофлуоресцентного окрашивания нервно-мышечных препаратов осуществляли с помощью лазерных сканирующих конфокальных микроскопов: Zeiss LSM 510 Meta (Carl Zeiss, Germany) и Leika SP-5 (Leika, Germany).

В синапсах кожно-грудинной мышцы лягушки выявлено специфическое окрашивание антителами к кальциевым каналам следующих типов: $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$, $Ca_v1.3$ и $Ca_v2.3$. Оно имело точечный характер и равномерно распределялось на всем

протяжении нервно-мышечного синапса. Таким образом, в нервно-мышечном синапсе лягушки кроме основного типа кальциевых каналов $Ca_v2.2$, выявлены каналы других типов ($Ca_v2.1$, $Ca_v1.3$ и $Ca_v2.3$). То факт, что под действием блокаторов обнаруженных типов кальциевых каналов уменьшался вход кальция в нервное окончание, оцененный с помощью флуоресцентных кальцийзависимых красителей, свидетельствует о пресинаптической локализации этих каналов. Для выявления вклада каналов разных типов в обеспечение процесса экзоцитоза квантов нейромедиатора с помощью электрофизиологических методов исследовали количество и степень синхронности высвобождения квантов ацетилхолина из двигательных нервных окончаний при блокировании обнаруженных иммуногистохимическими методами кальциевых каналов. Установлено, что в нервно-мышечном соединении лягушки блокирование $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$ и $Ca_v1.2$ -каналов специфическими блокаторами приводило как к снижению количества освобождаемых квантов, так и к уменьшению флуктуаций синаптических задержек, что указывает на синхронизацию процесса экзоцитоза синаптических везикул. Полученные данные свидетельствуют о том, что количество высвобождаемых квантов и временные параметры их секреции в синапсах лягушки регулируются как $Ca_v2.2$,

так и $Ca_v2.1$ и $Ca_v1.2$ кальциевыми каналами.

В синапсах диафрагмального препарата крысы иммуногистохимическое окрашивание специфическими антителами против $\alpha 1C$ и $\alpha 1D$ субъединиц $Ca_v1.2$ и $Ca_v1.3$ типов кальциевых каналов показало присутствие только каналов $Ca_v1.2$ типа. Таким образом, в нервно-мышечном синапсе диафрагмы крысы помимо основного типа $Ca_v2.1$ дополнительно обнаруживаются кальциевые каналы $Ca_v1.2$ типа.

Анализ интенсивности окрашивания в синапсах диафрагмального препарата мышцы показал, что в этих синапсах присутствуют каналы $Ca_v2.1$ и $Ca_v2.2$ типов. При этом электрофизиологическими методами было установлено, что при редкой частоте стимуляции в условиях сниженного внеклеточного содержания ионов кальция, когда несинхронность секреции была существенно выражена, блокада $Ca_v2.1$ -каналов вызывала уменьшение количества выделяющихся квантов медиатора, не влияя на кинетику их выделения, тогда как блокада $Ca_v1.2$ -каналов снижала степень флуктуаций синаптических задержек, не изменяя количества выделившихся квантов.

Обсуждается возможная роль кальциевых каналов разных типов в регуляции количества выделяемых квантов и временного хода процесса нейросекреции.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и «Ведущая научная школа».

Физиологическая лаборатория императорской академии наук в истории своего возникновения и развития: Ф.В. Овсянников, И.П. Павлов

А.Д. Ноздрачёв

*Санкт-Петербургский государственный университет;
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; adn@infran.ru*

22 января 1724 г. Петр I рассмотрел проект организации Академии наук. Спустя 6 дней, 28 января, был издан указ Сената об учреждении Академии, «в которой бы учились языкам, также прочим наукам и знатным художествам и переводили б книги» В состав членов академии входили только приглашенные из-за границы ученые, назначенные академиками по отдельным кафедрам. В их числе была и кафедра анатомии и физиологии. Первым академиком по кафедре был Даниил Бернулли (1700-1782), позже ставший выдающимся математиком. Кафедре он занимал 2 года. После академиком стал Леонард Эйлер (1707-1783), также ставший крупнейшим математиком своего времени. Наконец, кафедру занял академик Иосия Вейтбрехт (1702-1747). С 1735 г. он публикует физиологические работы по мышечной и сосудистой системам и о причинах движения крови в капиллярах, а с 1 июня 1738 г. начинает читать лекции по физиологии в Академическом (ныне С.-Петербургском государственном) университете. После И. Вейтбрехта академиками по кафедре избирались Авраам Каау-Бургав (1715-1758), Александр Протасьевич Протасов (1724-1796), Каспар-Фридрих Вольф (1733-1794), Петр Андреевич Загорский (1764-1845).

В 1846 г. академиком стал известнейший русский натуралист, основатель эмбриологии, открывший важную стадию развития организма – бластулу, а также яйцеклетку у млекопитающих, устано-

вивший главные законы развития индивида – Карл Максимович Бэр (1792-1876). Он же возглавлял секцию биологии в физико-математическом отделении (ФМО) Академии.

Анализ деятельности ученых, занимавших кафедру за первое столетие ее существования, свидетельствует об их преимущественном внимании к анатомии, тогда как физиология оказалась за пределами их поля зрения. На Западе же успехи экспериментальной физиологии оказались столь значительными, что привлекли к себе всеобщее внимание.

Широко известно стремление К.М. Бэра открыть в Академии наук самостоятельное физиологическое направление и создать ему равные условия развития с другими дисциплинами. Необходимым стало и открытие соответствующей кафедры в университете. Находясь уже в преклонном возрасте, К.М. Бэр рассчитывал и на приход помощника. Вопрос о физиологии ФМО впервые рассматривало в 1855 г., но в тот момент у К.М. Бэра не оказалось подходящей кандидатуры.

В 1857 г. К.М. Бэр предложил ФМО двух кандидатов – физиолога Ф.В. Овсянникова и гистолога Н.М. Якубовича. Члены ФМО отдали предпочтение кандидатуре Ф.В. Овсянникова. Вопрос об избрании в силу неизвестных причин решен не был. В 1863 г. К.М. Бэр подал ещё одно представление, в котором рекомендовал избрать Ф.В. Овсянникова, что и произошло 9 сентября 1863 г. В 1863 г. было еще одно событие.

Физико-математический факультет С.-Петербургского университета избрал Ф.В. Овсянникова ординарным профессором вновь созданной кафедры физиологии животных.

К рассматриваемому периоду во французских, немецких и других университетах стали возникать не только самостоятельные физиологические кафедры и лаборатории. В 1839 г. в Бреславском (ныне Вроцлавском) университете Яном Пуркинью был создан первый в мире Институт физиологии. Второй аналогичный институт был открыт тем же Я. Пуркинью в 1851 г., но уже в Праге. Подобный институт был вскоре создан Карлом Людвигом в Лейпцигском университете. Таковы исторические корни.

К.М. Бэр встретился с Ф.В. Овсянниковым в экспедиции на Каспии. За время совместной работы Филипп Васильевич зарекомендовал себя как добросовестный, тонкий и точный, осторожный в своих выводах исследователь, что послужило основанием к решению привлечь его себе в помощь в Академию наук.

Вскоре после избрания Ф.В. Овсянников был назначен директором анатомического музея. Последний представлял собой собрание скелетов, различных органов, трупов человеческих уродов, чучел зверей и птиц. Он располагался в зале с 7 большими окнами и из маленькой комнаты об одном окне. Это помещение находится в нижнем этаже восточного флигеля академического здания. Сразу после назначения Филипп Васильевич поднял вопрос о создании при музее специальной Физиологической лаборатории. Эксперименты, проводимые в маленькой комнате, послужили началом лаборатории, которой на протяжении 42 лет руководил Ф.В. Овсянников, а также прообразом всемирно известного Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Выделение столь необходимых лабораторий помещений произошло лишь в 1866

г. В связи с переездом химической лаборатории половина освободившихся площадей была передана физиологам. Эти площади находятся на первом этаже западного надворного флигеля Менделеевской линии сбоку от памятника М.В. Ломоносову. Ныне здесь частично обитает магазин «Академ-книга». В начале 80-х годов лаборатория располагалась уже в пяти комнатах. Существенным достоинством помещения явилось то, что оно было оборудовано газопроводной сетью для химических опытов и освещения.

Большую помощь лаборатории в начале ее организации и позже оказывали сотрудники руководимой Ф.В. Овсянниковым университетской кафедры физиологии – Н.И. Бакст и позже Н.Е. Введенский и его помощники. Был приобретен универсальный гальванометр Сименса, ртутный манометр, лягушачий кардиограф, микроскоп с микрографическим аппаратом, капилляр-электрометр, двойной альфактометр, вискозиметр, струнный гальванометр Эйнтховена и мн. др. Помещение для лабораторных животных было отведено в академических конюшнях, но конюшенные площади пришлось освободить. Новым местом содержания животных явился подвальный этаж здания Академии, что оказалось неудобным для всех. Наконец, помещение для вивария было найдено в центральном флигеле двора главного здания Академии наук.

1 декабря 1889 г. министр сообщил президенту Академии наук, что «высочайше» утверждено «отпускать ежегодно на содержание Физиологической лаборатории по 2000 руб.», что оказалось весьма кстати. Именно в эти годы началось внедрение в области науки и быт электроэнергии. Это потребовало переоборудования приборов, аппаратов, аккумуляторов, приобретения динамомашин, разных приспособлений

Постоянной заботой директора явилось увеличение штата Лаборатории. И только

в 1901 г. удалось добиться учреждения должности физиолога с содержанием 2000 руб. (1200 руб. + 500 кварт. + 300 стол.). По новому штатному расписанию 1908 г. лаборатория получила, наконец, две должности: старшего физиолога и младшего физиолога с окладами 2500 и 2000 руб. в год соответственно.

Уход в 1872 г. из Петербургского университета профессора И.Ф. Циона и позже приват-доцента Н.И. Бакста, послужил причиной приглашения новых сотрудников. Филипп Васильевич остановил свой выбор на кандидатуре И.М. Сеченова. Его 12-летнее пребывание в университете ознаменовалось серией блестящих работ и реальной помощью в организации работы Академической лаборатории. Здесь уместным будет сказать и о том, что И.Ф. Цион, Н.И. Бакст и И.М. Сеченов в разное время были приглашены на кафедру именно Ф.В. Овсянниковым и решающим моментом, помимо квалификации, были добрые человеческие отношения Филиппа Васильевича с каждым из них.

Ф.В. Овсянников много времени уделял экспериментальной работе. Его постоянные поездки за границу (1865, 1870, 1876, 1879, 1880), частые командировки сотрудников, выписывание большого числа периодических изданий позволяли быть постоянно в курсе последних достижений. В его научном наследии просматривается три направления – физиологическое, гистологическое и общебиологическое.

Проведя сложные и трудоемкие опыты на кураризированных кроликах, им был точно определен участок продолговатого мозга, являющийся центром рефлекторного раздражения сосудодвигательных нервов. Результаты нашли отражение в статье «Тонические и рефлекторные центры сосудистых нервов». Работа выполнена в 1871 г. в лаборатории Людвиг в Лейпциге. Продолжая дальше развивать учение о центре, Ф.В. Овсянников совместно с С.И. Чирье-

вым, теперь уже в своей лаборатории в Петербурге, провел еще одно исследование, назвав его «О влиянии рефлекторной деятельности центров сосудодвигательных нервов на расширение периферических артерий и на секрецию подчелюстной железы». К этой проблеме большой интерес проявил И.П. Павлов. (1877) Он дает высокую оценку открытию Ф.В. Овсянникова, указывая, что благодаря последним работам теория об одном сосудодвигательном центре, и именно в продолговатом мозгу, окончательно победила и вошла во все новейшие учебники как несомненная истина.

В исследовании «О симпатической нервной системе речной миноги» (1883) нашли отражение не только физиологические наблюдения, но прослежена еще связь симпатической нервной системы с блуждающим нервом, тщательным образом описаны клетки интрамуральных ганглиев сердца. Следовательно, вслед за Ауэрбахом и Мейсснером была представлена картина нервного аппарата стенки еще одного важнейшего полого органа – сердца. Еще несколько работ совместно с ближайшим учеником В.Н. Великим направлено на выяснение нервных механизмов секреции слюнных желез, в результате чего было дано объяснение выделения слюны у животных без какой-либо нервной стимуляции

Гистологическое направление исследований Ф.В. Овсянникова, особенно ярко иллюстрируется его работой «О тончайшем строении *lobi olfactorii* у млекопитающих». Здесь впервые приводится подробное микроскопическое описание обонятельной сенсорной системы. В исследовании «О микроскопическом строении малого мозга рыб» установлено, что отдельные нервные волокна находятся в непосредственном контакте с ядрами, а эти ядра в свою очередь имеют отростки, играющие роль в функции нервной системы. Важность

открытия состоит в том, что в то время у многих существовало сомнение относительно нервного происхождения этих структур. Ф.В. Овсянников одним из первых установил в коре высших животных и человека пять слоев. В этой же работе он дал и послойное описание строения мозжечка, различив в нем четыре слоя. Материалы о конструкции головного и спинного мозга, а также суждения о том, что головной мозг представляет собой материальную основу высших психических функций, нашли блестящее подтверждение и развитие в классической работе В.М. Бехтерева «Проводящие пути спинного и головного мозга».

Филипп Васильевич внес исключительный вклад в эволюционную физиологию и эмбриологию. Он выяснил строение и свойства рыбных сперматозоидов, описал строение яйца, деление желтка, образование зародышевых листков и формирование из них различных органов и систем. В 1869 г. ему удалось искусственно оплодотворить икру стерляди. Несомненное значение для развития биологии имела и работа «О центральной нервной системе ланцетника». В ней он подтвердил утверждение А.О. Ковалевского, что ланцетник - переходная ступень между беспозвоночными и позвоночными животными.

С января 1875 г. приступил к работе штатным лаборантом лаборатории Владимир Николаевич Великий (1851–1904). Студентом вместе с И.П. Павловым они выполнили и опубликовали две первые экспериментальные работы [«О влиянии гортанных нервов на кровообращение» и «О центростремительных ускорителях сердцебиения»]. Академия тотчас предоставила ему полугодовую заграничную командировку. Вернувшись, он вместе с Ф.В. Овсянниковым, П. Истоминым и В. Лебедевым выполнил несколько работ по кровообращению, активно продолжил исследование роли мозжечка, иннервации

слюнных желез, ускоряющих и депрессорных нервов сердца, скорости передачи возбуждения в спинном мозге. С 1880 г. его интересы переместились в область телефонических исследований. В 1888 г. в Томске открылся первый сибирский университет, куда заведующим кафедрой физиологии был избран В.Н. Великий. В 1890 он был назначен ректором Томского университета.

После отъезда В.Н. Великого в 1889 г. его место занял Александр Евгеньевич Феоктистов, известный работами о механизмах действия змеиного яда и кураре. 5 лет его пребывания в Физиологической лаборатории не ознаменовались достижениями.

На освободившуюся должность был приглашен Алексей Александрович Кулябко (1866–1930) – ученик Ф.В. Овсянникова и И.М. Сеченова. После окончания Петербургского университета учился в Военно-медицинской академии (1889–1890), а с 3-го курса перешел на должность прозектора кафедры физиологии Томского университета (1890–1893). Здесь же и завершил свое врачебное образование. В 1897 году под руководством Ф.В. Овсянникова он выполнил и защитил докторскую диссертацию. В лаборатории А.А. Кулябко проработал 8 лет. Им было выполнено большое число исследований. Это работы и сугубо биологического профиля, работы о физиологическом действии нефти на организм животных, работы в области нервной мышечной физиологии, физиологии нервной системы, переживания органов, группа исследований, относящихся к влиянию фармакологических веществ на изолированные органы, сосудистое русло и др.

И тем не менее исследовательские интересы А.А. Кулябко были главным образом нацелены на проблему оживления изолированных органов, возвращение тканям присущих им естественных свойств. С этой целью была предпринята довольно

большая серия работ на птицах, рыбах, кроликах по оживлению сердца и организма в целом. Именно здесь, А.А. Кулябко произвел знаменитые опыты по оживлению сердца, принесшие ему всемирную известность. Используя искусственное питание, в 1902 году он оживил сердце трехмесячного ребенка через 20 часов после смерти. В 1907 году он провел серию опытов по оживлению головы рыбы, восстановив деятельность мозга через 20 минут после прекращения кровотока. Его опыт с оживлением изолированного сердца повторил в Германии Э. Геринг, в Англии Э. Старлинг. И.П. Павлов давал исключительно высокую оценку экспериментам А.А. Кулябко, относя их в золотой фонд физиологии. В 1903 г. по рекомендации Н.Е. Введенского А.А. Кулябко устроился ординарным профессором кафедры физиологии Казанского университета, а позже в Томском университете.

На освободившееся место был приглашен Федор Евдокимович Тур (1866-1942). Со степенью кандидата в 1899 г. он окончил Петербургский университет. В лаборатории Туром было выполнено несколько первоклассных электрофизиологических исследований, касавшихся влияния депрессорного нерва на кровяное давление, усовершенствования метода телефонических исследований, наблюдений за переживающим сердцем теплокровных, изучения влияния муравьиной кислоты на мышечную систему, изучения хода сосудорасширяющих волокон в тазовой конечности животных. Коллектив Ф.Е. Тур покинул в 1912 г., перейдя профессором в Женский педагогический институт.

Совместно с Ф.В. Овсянниковым и штатными сотрудниками лаборатории в ней проводили исследования и представители других учреждений: профессор С.И. Чирьев из Киевского университета, академик А.О. Ковалевский, профессора С.И. Метальников, В.А. Фаусек, студенты А. Истомина,

В. Лебедев и др. Большинство из них работало в лаборатории над собственными темами, что нашло отражение в отчётах Академии.

С кончиной Ф.В. Овсянникова 29 мая 1906 г. на посту директора Физиологической лаборатории его временно заменял ботаник, академик Иван Парфентьевич Бородин.

В сентябре 1907 г. академики А.С.Фаминцын, В.В. Заленский, И.П. Бородин, Н.В. Насонов подали в ФМО развернутое представление о работах И.П. Павлова к его баллотированию в ординарные академики. Иван Петрович принял это предложение после долгих раздумий и колебаний. Как позже писал Л.А. Орбели, он чувствовал, что «вступив в ряды академиков на общих основаниях, он заживо похоронит себя и свои научные перспективы». А дело в том, что в 1904 г. Иван Петрович начал новый цикл исследований – изучение возникновения и механизмов условных рефлексов, завершившийся созданием физиологии высшей нервной деятельности. Работы сотрудников и практикантов И.П. Павлова проводились за редким исключением строго по его идеям и плану, каждой темой он руководил лично и повседневно. И.П. Павлов опасался, что приход в Академию резко изменит стиль его экспериментальной работы. 1 декабря 1907 г. И.П. Павлов был избран действительным членом Академии. Опасения в отношении изменения с избранием стиля его работы не подтвердились. Лаборатория также превратилась в ещё одну базу по изучению физиологии больших полушарий мозга.

С И.П. Павловым пришло большое число специалистов, полностью обновивших научную направленность лаборатории. Приходу предшествовали переговоры с ФМО, предметом которых явилось условие Ивана Петровича – выплачивать его академическую ставку не ему, а помощнику Г.П. Зеленому.

Георгий Павлович Зеленый (1878–1951). После окончания Киевского университета (1901) работал в клиниках и лабораториях Парижа, Киева, Петербурга. В 1905 г. практикантом пришел в ИЭМ к И.П. Павлову и всю последующую жизнь посвятил изучению физиологии высшей нервной деятельности. Им проведено большое число работ, среди которых интерес представляют исследования поведения бесполушарных собак. Эти работы впервые выполнены с использованием кино съемочной аппаратуры, открыв тем самым и новое направление – научно-исследовательской кинематографии.

В разработку вопросов высшей нервной деятельности, механизмов внутреннего торможения, которые занимали тогда И.П. Павлова, значительный вклад внесли в основном работавшие в лаборатории многочисленные практиканты – Ф.С. Гроссман, Н.И. Лепорский, С.И. Потехин, Э.Л. Горн, А.А. Савич, Н.П. Понизовский, А.М. Павлова, С.С. Вирсаладзе, Е.Н. Колесникова и мн. др.

В 1912 г. старшим физиологом лаборатории был назначен Владимир Васильевич Савич (1874–1936). В 1893 г. он поступил в ВМА, с 1900 г. начал работу в ИЭМе, защитил докторскую диссертацию «Отделение кишечного сока». Он был одним из наиболее способных учеников И.П. Павлова. С самого начала В.В. Савич связывал свою творческую деятельность с идеями И.П. Павлова, из-за чего заслужил среди коллег прозвище «старшины павловской школы». В течение многих лет В.В. Савич был редактором «Русского физиологического журнала».

В 1913 г. на место Ф.Е. Тура И.П. Павлов пригласил специалиста необычной для физиологии той поры квалификации Сергея Степановича Чахотина – изобретателя микроманипулятора и метода ультрафиолетового микроукола для внутриклеточных манипуляций. Приглашение определялось

прежде всего тем, что в это время И.П. Павлова особенно интересовала возможность образования условных рефлексов у одноклеточных. Решить этот вопрос И.П. Павлов намеревался посредством цитологических методов, которыми как раз в совершенстве владел С.С. Чахотин. К сожалению, при жизни Ивана Петровича вопрос разрешения не получил.

В Лаборатории выполняли свои работы и многочисленные практиканты-соискатели, работавшие по павловской тематике в разных местах. Число их с каждым годом возрастало. Силы практикантов, как это было принято, сосредотачивались на решении одной проблемы. Например, в 1912 г. в лаборатории работали Э.Л. Горн, Н.И. Лепорский, А.М. Павлова, Н.П. Понизовский, С.И. Потехин, изучавшие механизмы внутреннего торможения, В.А. Демидов, А.А. Савич, А.И. Смирнов и др.

Во время первой мировой и гражданской войны работа лаборатории резко сократилась, в течение первых лет практикантов-исследователей не было вообще, в 1916-1917 гг. было лишь три. Штатный сотрудник Г.П. Зеленый был призван в армию как врач. С 1921 г. в Физиологической лаборатории на Менделеевской линии стали регулярно проходить знаменитые «павловские среды». Это была своеобразная форма научных собеседований – «коллективного думания», как их называл Иван Петрович.

Дальнейшую судьбу лаборатории изменило грандиозное наводнение, происшедшее в Ленинграде 23 сентября 1924 г. Об уровне воды в вышедшей из берегов Невы, свидетельствует мраморная табличка на фасаде здания С.-Петербургского научного центра РАН на Университетской наб. 5, у пешеходного перехода, напротив памятника М.В. Ломоносову. К середине дня физиологическая лаборатория была затоплена полностью.

От наводнения значительно пострадало

научное оборудование, под угрозой гибели оказались экспериментальные животные. Возникшие в результате наводнения бедствия на долгий срок остановили работу лаборатории. В связи с этим появилось еще одно решительное и эмоциональное обращение И.П. Павлова к руководству Академии наук с просьбой о переводе лаборатории в другое соответствующее помещение.

Обращение возымело действие. Лаборатории была предоставлена часть архитектурно превосходного в прекрасном состоянии дома на Тучковой набережной 2 (ныне наб. Макарова, 6). Это здание было построено в 1901 г. К.К. Тарасовым для

Главного управления неокладных сборов. Находившийся в здании музей Толстого перевели в Москву. Освободившиеся на первом этаже помещения были переданы физиологам. В следующем году им отдали и большой двухсветный зал на втором этаже.

5 декабря прошлого года исполнилось 85 лет со дня принятия Постановления Общего собрания АН СССР об организации в Ленинграде Физиологического института АН. Так воплотилась в жизнь идея И.П. Павлова о преобразовании основанной Ф.В. Овсянниковым в 1864 г. Физиологической лаборатории АН в полноценное научное учреждение.

Молекулярная физиология зрительного пигмента родопсина

М.А. Островский

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва; ostrovsky@sky.chph.ras.ru

Зрительный пигмент родопсин – типичный представитель семейства мембранных светочувствительных ретинальсодержащих белков. К этому семейству относятся также сенсорные родопсины, галородопсин и бактериородопсин галофильных архебактерий. Все эти белки имеют сходную структуру и топографию в мембране.

Эволюция. Ретиналь-содержащие белки – одни из самых древних белков биосферы. Бактериородопсин, относящийся к родопсинам 1-го типа и ответственный за бескислородный фотосинтез (фотоэнергетический процесс), возник в клетках-прокариотах около 3.5 млрд. лет назад. Зрительный пигмент родопсин, относящийся к родопсинам 2-го типа (G-белоксвязывающий рецептор) и ответственный за фоторецепцию (фотоинформационный процесс), появился в клетках-эукариотах многоклеточных организмов около 1 млрд. лет назад. Около 600 млн. лет назад, с которых начинается эволюционное древо животного царства, зрительный родопсин становится светочувствительным белком в самых примитивных фоторецепторных структурах, а с периода кэмбрийского взрыва (около 540 млн. лет назад) сохраняется как рецепторный белок в зрительных клетках разнообразнейших по структуре органах зрения беспозвоночных и позвоночных животных.

Структура. Родопсин стал первым мембранным белком животного происхождения, двумерная и трёхмерная структура которого были определены. Как и в родопсинах 1-го типа (бактериородопсин), в нём можно выделить гидрофобный внутримембранный (трансмембранный) домен, образованный семью α -спиральными «тя-

жами», собранными в пучок и пересекающими фоторецепторную мембрану, и два гидрофильных, расположенных по обе стороны мембраны – цитоплазматический и внутридисковый. Зрительный пигмент родопсин является классическим G-белоксвязывающим рецептором. Строение обширного класса G-белоксвязывающих рецепторов подобно структуре родопсина.

Наиболее консервативным доменом ретинальсодержащих белков является хромофорный центр белковой части молекулы (опсина), в котором находится ковалентно связанная с белком хромофорная группа – в случае бактериородопсина полностью – *транс*-ретиналь, в случае зрительного родопсина 11-*цис*-ретиналь. Используя методы молекулярной динамики, нами была продемонстрирована взаимная «подстройка» 11-*цис*-ретиналя как хромофора и как лиганда-антагониста (*inverse agonist*) и его ближайшего белкового окружения в хромофорсвязывающем центре опсина. Такая «подстройка» переводит молекулу родопсина (хромофорный центр) в состояние повышенной готовности для поглощения кванта света и стабилизирует родопсин как G-белоксвязывающий рецептор (цитоплазматический домен) в его темновом, физиологически неактивном состоянии. Ряд мутаций в хромофорном центре опсина приводят к неспособности родопсина поддерживать темновое, физиологически неактивное состояние или к нарушению его способности к регенерации. Следствием этого становятся определённые дегенеративные заболевания сетчатки.

Молекулярная физиология родопсина. В механизмах фоторецепции молекула родоп-

сина выполняет несколько физиологических функций. Они определяются в основном хромофорной группой и её специфическим взаимодействием с ближайшим белковым окружением. Во-первых, это функция спектральной настройки зрительных пигментов. Зрительные пигменты способны поглощать свет от ультрафиолетовой до красной области спектра – от 360 до 620 нм. Спектральная настройка обеспечивает возможность цветовосприятия. Во-вторых, это функция инициации зрительного акта – процесса фототрансдукции. В-третьих, это функция лиганда-антагониста (*inverse agonist*) хромофорной группы – 11-*цис*-ретиналя в родопсине как G-белоксвязывающем рецепторе. После поглощения света и фотоизомеризации 11-*цис*-ретиналя теперь уже полностью-*транс*-ретиналь на сравнительно долгоживущей стадии фотолиза метародопсина II становится мощным лигандом-агонистом, поддерживая родопсин в физиологически активном состоянии, когда он способен связывать и активировать G-белок трансдуцин. В результате, в условиях темновой адаптации обеспечивается подавление темнового «шума» (взаимодействие родопсина трансдуцином, практически, невозможно) и эффективный запуск процесса фототрансдукции. Наконец, в-четвёртых, – это патогенетическая роль зрительного пигмента. Нарушение зрительного цикла родопсина и, как следствие, накопление в фоторецепторной мембране свободного полностью-*транс*-ретиналя, высвободившегося из опсина на последней стадии фотолиза, приводит как к потенциальной опасности фотоповреждения сетчатки и ретинального пигментного эпителия, так и к опасности развития дегенеративных заболеваний сетчатки, в том числе болезни Штаргардта, возрастной макулярной дегенерации и ряда других абiotрофий сетчатки.

1. *Спектральная настройка зрительных пигментов.* Спектральная настройка воз-

можно в двух временных шкалах: длительной эволюционной и сравнительно краткосрочной адаптационной (физиологической). Эволюционная настройка обеспечивается специфическим белковым окружением – аминокислотными заменами вокруг хромофорной группы — 11-*цис*-ретиналя или 11-*цис*-дегидроретиналя в хромофорном центре опсина. Адаптационная настройка – сезонная или зависящая от световой среды обитания – осуществляется заменой хромофорной группы – 11-*цис*-ретиналя (ретиналь₁ – альдегид витамина А₁) на 11-*цис*-дегидроретиналь (ретиналь₂ – альдегид витамина А₂) и обратно. Примером такой, зависящей от световой среды обитания, настройки может служить зрительный пигмент двух популяций финских креветок *Mysis relicta* – морской и озёрной, разделившихся в конце ледникового периода (около 9000 лет назад), обитающих при совершенно разных условиях освещения и заметно отличающихся по световой и спектральной чувствительности. Как показано нами совместно с финскими коллегами, максимумы поглощения родопсина у этих креветок отличаются (530 нм у морской, живущей при относительно высоких освещённостях, и 560 нм у озёрной, обитающей на большой глубине). Это отличие связано не с аминокислотными заменами, а, скорее всего, с заменой ретиналя₁ на ретиналь₂.

Принципиально важной является эволюционная настройка. В ходе эволюции в фоторецепторных клетках сетчатки позвоночных сформировалось пять классов зрительных пигментов. Это класс палочковых пигментов, поглощающих в области 500 нм (родопсин), и четыре класса колбочковых: длинноволновые с максимумом поглощения 500–570 нм, средневолновые с максимумом поглощения 480–530 нм и два коротковолновых с максимумами поглощения 400–470 нм и 355–445 нм. Что касается спектральной настройки родоп-

сина в палочках, то, во всяком случае, у наземных позвоночных максимум поглощения расположен в области 500 нм. Единственным, до сих пор известным исключением является адаптация к коротковолновой (голубой) среде морского обитания у глубоко ныряющего бутылконового дельфина (афалины), у которого в результате замены двух аминокислотных остатков максимум спектра поглощения родопсина сдвинут в синюю область к 488 нм. Что касается спектральной настройки колбочковых пигментов, то она гораздо разнообразнее, что, в частности, обеспечивает цветовосприятие у приматов и человека. Одним из наиболее существенных изменений в эволюционной шкале времени является сдвиг спектра поглощения коротковолнового пигмента из ультрафиолетовой в фиолетово-синюю область видимого спектра, который обеспечивается всего одной аминокислотной заменой в хромофорном центре. Спектральная настройка длинноволновых колбочковых пигментов требует нескольких аминокислотных замен в хромофорном центре. Одними из таких замен является появление анионсвязывающих центров. Как нами и рядом других авторов было показано, речь идёт о хлорсвязывающих аминокислотных остатках в «красных» колбочках рептилий, птиц и млекопитающих. На изолированной сетчатке золотой рыбки нами было показано, что удаление ионов хлора не только смещает максимум спектра поглощения длинноволнового пигмента примерно на 30 нм в коротковолновую (зелёную) область, но и приводит к уменьшению или даже исчезновению позднего рецепторного потенциала красночувствительных колбочек в ответ на красную световую вспышку.

Таким образом, одной из важнейшей физиологической функцией хромофорного центра зрительного пигмента является «настройка» его спектральной чувствительности, что обеспечивает адаптацию

фоторецепторных клеток к световой среде обитания и формирование механизма цветовосприятия.

2. *Фотохимическая реакция, иницирующая процесс фототрансдукции.* Фототрансдукция запускается реакцией фотоизомеризации хромофорной группы родопсина 11-*цис*-ретиная. Следует подчеркнуть, что хромофорный центр белковой части молекулы (опсина) является наиболее консервативным доменом ретинальсодержащих белков. Хромофор – полностью-*транс*-ретинаяль в случае бактериородопсина и 11-*цис*-ретинаяль в случае зрительного родопсина – связан с белком как ковалентно, так и взаимодействует нековалентно с окружающими его аминокислотными остатками. Фотоизомеризация ретинаяля в ретинальсодержащих белках совершается в фемтосекундной шкале времени ($1 \text{ фс} = 10^{-15} \text{ с}$) и с высоким квантовым выходом (0,7–0,8 для бактериородопсина и 0,65 для зрительного родопсина). Функциональный смысл столь высокой скорости и эффективности этой реакции состоит в том, чтобы энергия поглощённого кванта света была использована для необходимой реакции изомеризации, а не рассеялась в виде тепла или высветилась в виде флуоресценции. Скорость и эффективность реакции фотоизомеризации обеспечиваются поистине уникальным строением хромофорного центра и взаимодействием в нём хромофорной группы с её белковым окружением. Благодаря этому взаимодействию скорость фотоизомеризации хромофорной группы ретинальсодержащих белков соизмерима с теоретически рассчитанной скоростью фотоизомеризации ретинаяля в газовой фазе. Иными словами, скоростью фотоизомеризации ретинаяля в свободном объёме соизмерима со скоростью в тесном белковом окружении, что представляется удивительным и свидетельствует об идеальном взаимодействии хромофора с его белковым

окружением, сформировавшемся на самых ранних стадиях биологической эволюции.

Как совсем недавно нами и группой американских авторов было показано, переход молекулы зрительного пигмента родопсина в электронно-возбуждённое состояние совершается в пределах 75–110 фс, во время которого, собственно говоря, и совершается поворот вокруг С11-С12-связи в полиеновой цепи 11-*цис*-ретиная; а затем, примерно к 200 фс в основном состоянии образуется первый промежуточный продукт фотопревращения родопсина – фотородопсин, ретиналь в котором находится в искажённой, но уже полностью-*транс*оидной форме. Фотородопсин переходит затем в пределах 1 пс в следующий промежуточный продукт – батородопсин, в котором запасённая энергия поглощённого кванта света (35 ккал/моль) используется для конформационных перестроек белковой части молекулы (опсина) на последующих стадиях фотолиза.

С помощью лазерной абсорбционной спектроскопии высокого разрешения мы, совместно с лабораторией фемтосекундной спектроскопии Института химической физики им Н.Н. Семёнова РАН, подробно исследовали, используя двухимпульсную систему, когерентную динамику фотоизомеризации 11-*цис*-ретиная хромфора в бычьем родопсине. С помощью же специально разработанной трёхимпульсной фемтосекундной лазерной системы нам впервые удалось зарегистрировать со стадии фотородопсина сверхбыструю фотообратимую (фотохромную) реакцию родопсина. Этот результат позволяет рассматривать зрительный пигмент родопсин как возможный прообраз сверхбыстрого молекулярного фотопереклювателя.

3. *Физиологически активное состояние родопсина. Фотоиндуцированное изменение конформации опсина и взаимодействие с G-белком трансдуцином.* Молекула родопсина состоит из цитоплазматического, транс-

мембранного и внутридискowego (экстраклеточного) доменов. Фотоизомеризация хромфора 11-*цис*-ретиная в трансмембранном домене инициирует последовательность конформационных перестроек во всей белковой части молекулы. В ходе этих перестроек в трансмембранном домене родопсина происходит депротонирование Шиффова основания— ковалентной связи полностью-*транс*-ретиная с белком, затем взаимное смещение VI, V и III трансмембранных «тяжей». В результате этого в цитоплазматическом домене формируется «щель», в которую «входит» С-полипептидный конец α -субъединицы G-белка трансдуцина. Большим достижением последнего времени стало описание кристаллической структуры метародопсина II. В этой работе с разрешением 3.0Å и 2.85Å представлены трёхмерные структуры самого метародопсина II и в комплексе с С-концевым фрагментом α -субъединицы трансдуцина.

Таким образом, ключевая стадия в механизме фототрансдукции — картина связывания с физиологически активированным родопсином (на стадии метародопсина II) трансдуцина и его последующая активация становится всё более ясной. Ясность эта достигается применением всего разнообразия методов исследования структуры и функции мембранных белков, в том числе метода ЭПР-спектроскопии в сочетании со спиновыми метками, ковалентно связанные с SH-группами цистеиновых аминокислотных остатков родопсина. Используя этот метод, нами в середине 80-х годов впервые было зарегистрировано индуцированное видимым светом увеличение конформационной подвижности цитоплазматических петель при переходе родопсина в метародопсин II и уменьшении этой подвижности при фотопереходе метародопсина II в смесь продуктов, включая родопсин и метародопсин III. Темновая регенерация родопсина – возвращение 11-*цис*-ретиная

в хромофорный центр опсина – приводит к восстановлению темнового конформационного состояния опсина и возвращению способности регенерированного родопсина к фотоиндуцированному конформационному ответу.

Понимание молекулярного механизма связывания и активации G-белка G-белоксвязывающим рецептором на примере родопсина имеет принципиальное значение для понимания механизмов работы обширного класса G-белоксвязывающих рецепторов и поиска на этой основе новых лекарственных средств.

4. *Последняя стадия фотолиза родопсина: разрыв ковалентной связи полностью-транс ретиналя с белком (опсином). Свободный опсин, десенситизация фоторецепторной клетки и световая адаптация.* На последней стадии фотолиза родопсина происходит гидролиз ковалентной связи Шиффова основания и высвобождение свободного полностью-транс-ретиналя.

а) При обесцвечивании значительного количества родопсина в наружном сегменте фоторецепторной клетки накапливается свободный (не содержащего хромофора) апо-белок – опсин. Как выяснилось, свободный опсин также обладает способностью связывать и активировать трансдукцин, однако эффективность его как G-белоксвязывающего рецептора крайне низка – около 10^{-6} по отношению к метародопсину II.

Иными словами, свободный опсин способен с чрезвычайно низкой эффективностью возбуждать каскад фототрансдукции, что и создает в клетке т. н. «эквивалентный фоновый свет», существование которого было предположено ещё в начале 30-х годов Стайлсом и Крауфордом. Такая сверхслабая инициация процесса фототрансдукции десенситизирует палочку («эквивалентный фоновый свет») и служит важным звеном в молекулярном механизме световой адаптации. Последующая же ре-

генерация зрительного пигмента (в темновом родопсине хромофор 11-*цис*-ретиналь, как говорилось, является мощным лигандом-антагонистом) приводит к исчезновению «эквивалентного фонового света» и служит не менее важным звеном в молекулярном механизме темновой адаптации.

б) Свободный полностью-транс-ретиналь и опасность светового повреждения и дегенеративных заболеваний сетчатки глаза. Свет, действуя на родопсин, не только запускает процесс фототрансдукции, но и способен, благодаря образованию фототоксичных ретинальсодержащих продуктов, вызвать повреждение клетки и её гибель. Это, так называемый, фотобиологический парадокс зрения. При физиологических условиях накопления свободного ретиналя в наружном сегменте зрительной клетки или не происходит, или является кратковременным. Это обеспечивают два фермента – ретинолдегидрогеназа (RDH8) и АТФ-зависимый мембранный переносчик (ABCR4). Однако при экстремальных световых засветках или при дефектах этих ферментов *транс*-ретиналь, а также продукты его превращения могут накапливаться. Такое накопление приводит к потенциальной опасности фотоповреждения сетчатки и ретинального пигментного эпителия и к опасности усугубления дегенеративных заболеваний сетчатки.

Согласно нашим данным, *транс*-ретиналь и продукты его превращения, выступая в качестве фотосенсибилизаторов, способны повредить как искусственные мембраны, так и сам родопсин в фоторецепторной мембране. Продукты превращения *транс*-ретиналя содержатся в липофусциновых гранулах, интенсивно накапливающихся с возрастом и, особенно, при дегенеративных заболеваниях сетчатки в клетках ретинального пигментного эпителия. Как мы впервые показали, липофусциновые гранулы способны при действии видимого света генерировать свободные

радикалы (активные формы кислорода), т.е. обладают фототоксичностью. Источником этих радикалов являются ретиноиды – продукты превращения *транс*-ретинала. При действии света, при старении и при патологиях ретиноидные продукты, как мы недавно показали, претерпевают изменения (окисление), что, вероятно, усиливает их токсичность. Эти продукты в составе липофусциновых гранул обладают довольно сильной флуоресценцией, что лежит в основе нового неинвазивного диагностического метода – метода аутофлуоресценции глазного дна. Поскольку накопление липофусциновых гранул рассматривается как важный фактор старения и патологии сетчатки, этот

новый метод представляет большую важность.

Таким образом, зрительный пигмент родопсин выполняет в механизме зрительной рецепции несколько принципиально важных физиологических функций, обеспечивающих спектральную чувствительность фоторецепторных клеток – палочек и колбочек, процессы фототрансдукции, световой и темновой адаптации. В случаях генетически обусловленных дефектов в молекуле зрительного пигмента или накопления в фоторецепторной мембране его хромофорной группы в виде свободного полностью-*транс*-ретинала возникает опасность развития или усугубления патологических процессов (дегенеративных заболеваний сетчатки).

Роль системных последствий обструктивного апноэ сна в формировании кардиоваскулярной патологии

А.И. Романов, Д.Ю. Каллистов

ФГБУ «Центр реабилитации» Управления делами Президента РФ, Московская область

Нарушения дыхания во время сна, наиболее значимой формой которых является синдром обструктивного апноэ сна (СОАС), широко распространены среди населения и оказывают существенное негативное влияние на состояние здоровья, продолжительность и качество жизни людей.

Результаты эпидемиологических и экспериментальных исследований, проведенных за последние 2 десятилетия, свидетельствуют о наличии взаимосвязи целого ряда кардиоваскулярных и метаболических расстройств с нарушениями дыхания, обусловленными циклическими эпизодами обструкции верхних дыхательных путей во время сна. Имеющиеся данные дают основание полагать, что оксидативный стресс, обусловленный повторяющимися изменениями уровня насыщения крови кислородом, нарушения структуры сна, характеризующиеся снижением содержания медленноволновых стадий и выраженной его фрагментацией, колебания внутриторакального давления и другие пусковые факторы, обусловленные нарушениями дыхания, могут приводить к стойкому повышению симпатической активности, формированию инсулинрезистентности и лептинрезистентности, нарушениям эндотелийзависимых и эндотелий-независимых механизмов регуляции сосудистого тонуса.

К настоящему времени изучен ряд механизмов, опосредующих влияние нарушений дыхания во время сна на состояние вегетативной нервной системы, гормональный статус пациента (Saaresranta T., 2003). Так, активация ЦНС во время сна

сопровождается повышением уровня гормонов стресса, гипоксия и гиперкапния также приводят к активации гипоталамо-надпочечниковой оси, повышению содержания ренина, АКТГ, кортикостероидов, альдостерона и вазопрессина (Raff H., 1988). С другой стороны, изменения в гормональном фоне сами способны оказывать влияние на дыхание человека во время сна. Высокая распространенность синдрома обструктивного апноэ сна среди пациентов с сахарным диабетом дает основание предположить наличие связи между этими состояниями. В настоящее время накоплено достаточное количество информации о том, что нарушения дыхания во сне связаны с метаболическим синдромом и инсулинрезистентностью независимо от других общих факторов риска. Так, по данным M. Tiihonen и соавт., индекс десатурации (число эпизодов снижения уровня SaO_2 более чем на 4% за час сна) является более надежным, чем индекс массы тела, предиктором развития инсулинрезистентности. Повышенный уровень лептина плазмы, выявляемый у пациентов с СОАС, может свидетельствовать как об определенном адаптационном значении этих изменений, так и о развитии у пациентов с нарушениями дыхания явлений лептинрезистентности. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что лица, страдающие от обструктивного апноэ сна, имеют повышенное содержание циркулирующих катехоламинов плазмы, при этом большая часть исследователей указывают на наличие положительной статистической взаимосвязи выраженности нарушений

дыхания во сне и содержание норадреналина плазмы. В ряде наблюдений была установлена высокая распространенность нарушений дыхания во сне у людей со сниженной функцией щитовидной железы. У пациентов, страдающих от апноэ сна, часто выявляется дефицит гормона роста без каких либо других причин для снижения его уровня. Возможными причинами снижения секреции СТГ у больных с СОАС наряду с ожирением являются фрагментация сна и эпизодическая гипоксия. У мужчин, страдающих от выраженных форм апноэ сна, также выявляется снижение утреннего и ночного содержания тестостерона. За последние годы были проведены исследования, посвященные роли адипонектина – гормона, синтезируемого адипоцитами, и, по мнению ряда авторов, играющего проективную роль для сердечно-сосудистой системы. В исследовании R.Wolk и соавт. (2005) у пациентов с СОАС были выявлены повышенные по сравнению с сопоставимыми пациентами контрольной группы содержания адипонектина, что позволило авторам подвергнуть сомнению гипотезу о том, что низкий уровень адипонектина объясняет взаимосвязь СОАС и сердечно-сосудистой патологии. Результаты исследований, посвященных оценке влияния апноэ сна на показатели иммунитета (L.Dyugovskaya, 2005) свидетельствуют о том, что CD4- и CD8T-клетки пациентов, страдавших от СОАС, претерпевали фенотипические и функциональные изменения и приобретали цитотоксические свойства. Тяжесть СОАС, определяемая по индексу апноэ–гипопноэ, имела отрицательную корреляционную связь с экспрессией интерлейкина-10 в Т-клетках. Процентное содержание клеток CD4⁺CD28^{null} и цитотоксичность CD4T-лимфоцитов также были существенно выше в подгруппе пациентов с СОАС. Снижение продолжительности сна (депривация сна), по данным ряда авторов, приводит к изменениям в

активности антиоксидантной системы организма и развитию оксидативного стресса.

Результаты проведенных коллективом авторов (Романов А.И., Каллистов Д.Ю., Романова Е.А., 2004, 2009) исследований позволили расширить представление о механизмах влияния нарушений сна на течение ряда сердечно-сосудистых заболеваний, заключающееся в более тяжелом клиническом течении рассматриваемой патологии у больных с нарушениями сна. Положительная статистическая связь показателей АД и данных, характеризующих нарушения структуры сна и дыхания во сне (множественный коэффициент корреляции – 0,64) подтверждают роль фрагментации сна и гипоксии в патофизиологии гемодинамических осложнений сна. Выявлено, что у лиц с тяжелыми формами СОАС по сравнению с лицами без нарушений сна выявляются большие значения толщины комплекса интима-медиа общих сонных артерий ($1,41 \pm 0,13$ и $1,29 \text{ мм} \pm 0,12 \text{ мм}$). У лиц с гипертонической болезнью и СОАС чаще, чем у пациентов без нарушений сна, выявлялись повышенные значения и изменения суточного профиля АД, гипертонический тип реакции на физическую нагрузку и снижение физической работоспособности, гипертрофия левого желудочка и признаки дилатации правых отделов сердца и левого предсердия. У лиц с СОАС и хронической бессонницей выявлено снижение общей мощности вариабельности сердечного ритма и отмечены признаки гиперadrenergического типа ВСР. Установлено, что хронические нарушения сна сопровождаются нарушением механизмов регуляции церебрального кровотока с признаками «артериального застоя»; нарушениями вегетативной регуляции сердечного ритма с преобладанием симпатических влияний (увеличение отношения мощности низких/высоких частот), изменениями суточного профиля артериального давления, увеличением частоты выявления

гипертрофии стенки левого желудочка. Показана роль глубокого медленноволнового сна в регуляции иммунного статуса по показателям положительной корреляционной связи ($r=0,28$) между общим количеством Т-лимфоцитов, процентным содержанием CD3⁺ и CD4⁺-клеток и процентным содержанием 3 и 4 стадий сна.

Таким образом, накопленные к настоящему времени данные позволяют более детально оценивать удельный вклад каждого из известных компонентов совокупности патофизиологических процессов, вызванных преходящей обструкцией верхних дыхательных путей во время сна и

включающих в себя широкий спектр нейрорхимических, гормональных и иммунных изменений. В целом, изменения в иммунном и гормональном статусе у больных с нарушениями сна являются важным компонентом системного влияния этих расстройств на состояние здоровья людей, что обуславливает актуальность продолжения исследований по этой тематике. Планируемые к проведению исследования будут осуществлены в контексте современного научного поиска по данной проблеме, уточнят и дополнят имеющиеся научные данные, создадут задел для дальнейших исследований.

Новые подходы к избирательной доставке противоопухолевых препаратов: клеточная физиология и нанотехнологии

Е.С. Северин¹, Г.А. Посыпанова²

¹ *Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения; Россия, Москва;*

² *ГУЗ Московский НИИ медицинской экологии; Россия, Москва*

Развитие фундаментальных исследований в области молекулярной и клеточной физиологии – основа для создания новых методов терапии. Развитие представлений о процессе эндоцитоза легло в основу идеи направленного транспорта лекарственных соединений, т.е. избирательной доставки лекарств в клетки-мишени, метаболизм которых нуждается в коррекции.

Основными причинами недостаточной эффективности химиотерапевтического лечения онкозаболеваний является низкая биодоступность противоопухолевых агентов для опухоли, необходимость использовать высокие дозы цитостатиков и неселективный характер этих препаратов. Кроме того, длительное применение химиотерапевтических агентов чревато развитием множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток, что делает используемые препараты неэффективными. В основе феномена лекарственной устойчивости лежат такие различные по природе внутриклеточные механизмы, как снижение транспорта препаратов через плазматическую мембрану, нарушение уровня экспрессии онкогенов, повреждение систем сигнальной трансдукции и др. Для повышения эффективности терапии опухолей необходимо увеличение избирательности действия лекарственных препаратов. Достичь этого можно благодаря использованию современных технологий для создания систем регулируемого транспорта хорошо известных противоопухолевых соединений. Концепция создания высоко-

специфичных систем направленной доставки основывается на представлении о том, что клетки-мишени, в том числе опухолевые клетки, должны иметь на поверхности своей плазматической мембраны уникальные молекулярные структуры (рецепторы), представленные исключительно или преимущественно на этих клетках. С такими детерминантам могут комплементарно связываться их природные лиганды. Связывание лиганда с рецептором стимулирует процесс рецептор-опосредованного эндоцитоза, что ведет к интернализации рецептора и транслокации молекул лиганда внутрь клетки. Молекулы, обладающие высоким сродством к белку-рецептору, избирательно представленному на клетке-мишени, могут быть использованы в системах направленного транспорта в качестве векторных молекул, обеспечивающих избирательный перенос внутрь клетки биологически активных соединений. Для достижения этой цели к такому вектору необходимо с помощью ряда химических модификаций присоединить желаемый агент – цитостатик или наноконтейнер с цитостатиком.

Мы обнаружили, что на поверхности клеток опухолевых линий человека, а также на гистологических срезах злокачественных опухолей экспрессируется специфический рецептор онкофетального белка α -фетопротейна (АФП). Причем этот рецептор не обнаруживался ни на поверхности нормальных лимфоцитов периферической крови, ни на срезах нормальных тканей и

доброкачественных опухолей. Сравнительное изучение фармакокинетики АФП человека в организме мышей и крыс с привитыми опухолями при введении радиоактивно меченого АФП показало преимущественное накопление ^{125}I -АФП в ткани опухоли. Мы обнаружили, что содержание меченого АФП в нормальных тканях было значительно ниже и через сутки падало до нуля, в то время как в опухоли значимые количества ^{125}I -АФП регистрировались и через 2 сут.

Таким образом, рецептор α -фетопро-теина может служить уникальной мишенью на поверхности опухолевых клеток, а системы доставки на основе его природного лиганда – АФП – обеспечивать избирательную доставку цитостатиков в эти клетки. Анализ связывания и эндоцитоза АФП позволяет говорить о высокой эффективности и специфичности накопления АФП в активно пролиферирующих опухолевых клетках и отсутствии накопления этого белка в непролиферирующих лимфоцитах.

Использование АФП в качестве вектора для адресной доставки ковалентно присоединенных цитостатиков в опухолевые клетки продемонстрировало высокую эффективность и избирательность данной системы доставки. Лечение животных с экспериментальными опухолями конъюгатами АФП с доксорубицином, винбла-стином и эсперамицином приводило к значительному увеличению продолжительности жизни животных. АФП избирательно доставлял лекарственные препараты в опухолевые клетки и, таким образом, значительно повышал терапевтическую эффективность противоопухолевых препаратов. Обнаружено, что конъюгаты цитостатиков с АФП способны преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток.

Исследование АФП и анализ структуры белка позволило нам сделать заключение о локализации мотива связывания с рецептором в С-концевом фрагменте молекулы. Мы получили рекомбинантный С-концевой фрагмент АФП (RCFA) и доказали, что данный белок специфически связывается с рецептором АФП и избирательно интернализуется опухолевыми клетками. Синтезированные нами конъюгаты RCFA с доксорубицином и паклитакселом проявляли высокую противоопухолевую активность.

Существенного повышения противоопухолевой активности препаратов избирательного действия можно достичь, присоединя ковалентно к векторной молекуле не 1-2 молекулы цитостатика, а наноконтейнеры, содержащие значительно большее количество лекарственного препарата. В качестве таких наноконтейнеров мы использовали биodeградируемые наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA). В наночастицах активный ингредиент абсорбирован в матрице; выделение его из частицы может происходить в результате десорбции с поверхности, диффузии из матрицы и/или биodeградации носителя. Подобные адресные наночастицы представляют собой новое поколение наночастиц-переносчиков лекарств.

Обнаружено, что адресные наночастицы с присоединенным RCFA эффективно интернализируются опухолевыми клетками и вызывают мощный цитотоксический эффект в отношении этих клеток. Крайне важным свойством адресных наночастиц является их способность преодолевать резистентность опухолевых клеток, обусловленную функционированием ABC-транспортеров цитоплазматической мембраны.

Changes in response properties of nociceptors and dorsal horn neurons in a murine model of cancer pain

Donald A. Simone*, Sergey G. Khasabov, David M. Cain, Darryl T. Hamamoto, and Iryna A. Khasabova

*Department of Diagnostic and Biological Sciences, School of Dentistry, University of Minnesota
simon003@umn.edu*

Pain is a common symptom in patients with cancer. It is estimated that over half of patients with cancer experience pain, up to 90% of patients in advanced disease stages experience pain, and metastasis to bone often causes severe pain. Although the prevalence and severity of cancer pain differs among the various types of cancer, 60% of individuals with primary or metastatic bone cancer suffer from severe pain. Severe cancer pain is most often treated with opioids, however, they do not always provide adequate analgesia and their use is limited by a variety of side effects.

Pain from cancer is unique and complex because it may be mediated by inflammation, neuropathy, and mediators released from the cancer cells, and is therefore difficult to manage. It is therefore important to gain a greater understanding of the mechanisms that contribute to cancer pain so that new targets for pain control can be identified. Animal models of cancer pain have been developed fairly recently and are providing information on the mechanisms that contribute to cancer-related pain. Implantation of various types of tumor cells into or near bone in rodents produces ongoing nocifensive behaviors and hyperalgesia to mechanical, heat, and cold stimuli.

We were interested in identifying interactions between tumor and peripheral nerve, and neural encoding in the peripheral nervous system and in the spinal cord that contribute to cancer pain. We used a model in which fibrosarcoma cells are implanted into and around the calcaneus bone in the mouse. As the tumor grows, the tumor-bearing paw develops hyperalgesia to mechanical, heat and cold stimuli that is maximal 10-14

days after implantation. Here we summarize electrophysiological and morphological changes that occur in primary afferent nerve fibers with tumor growth as well as changes in the encoding properties of nociceptive dorsal horn neurons that are likely to contribute to cancer pain. We also demonstrate that peripheral application of cannabinoids at the tumor site reduced hyperalgesia

Changes in the physiology and morphology of primary afferent nerve fibers during tumor growth
Electrophysiological recordings were made from single A δ and C primary afferent fibers in the tibial nerve of mice with sarcoma cells implanted into and around the calcaneus bone. All receptive fields (RFs) were located on the plantar surface of the tumor-bearing hind paw. Approximately 30% of C-fiber nociceptors exhibited spontaneous activity in (Cain et al., 2001). No changes were observed in their mechanical sensitivity using calibrated von Frey monofilaments, but mean heat response thresholds of C-fibers was lower in tumor-bearing mice ($37.8 \pm 0.9^\circ\text{C}$) as compared to control mice ($40.3 \pm 0.4^\circ\text{C}$). Also, responses of C nociceptors to noxious cold were enhanced for stimulus temperatures lower than 10°C . Interestingly, responses of A-fiber nociceptors evoked by mechanical and thermal stimuli were not altered during tumor growth. Thus, ongoing spontaneous activity and increased responses to heat and mechanical stimuli of C-fiber nociceptors are likely to contribute to spontaneous pain and to heat and cold hyperalgesia associated with this model of cancer pain.

In addition to electrophysiological changes in C-fiber nociceptors, tumor development also produced morphological changes in nerve fibers. We obtained punch biopsies (3mm) from plantar skin overlying the tumor. Epidermal nerve fibers (ENFs), which are unmyelinated nociceptive nerve fibers, were labeled using protein gene product 9.5 and epidermal innervation was quantified. It was found that early during tumor growth (approximately 10 days after implantation), there was a proliferation of ENFs as indicated by increased and complex branching of these fibers (Figure 1). However, as the tumor developed further, it produced neuropathy as indicated by a decrease in the number of labeled ENFs. This demonstrates

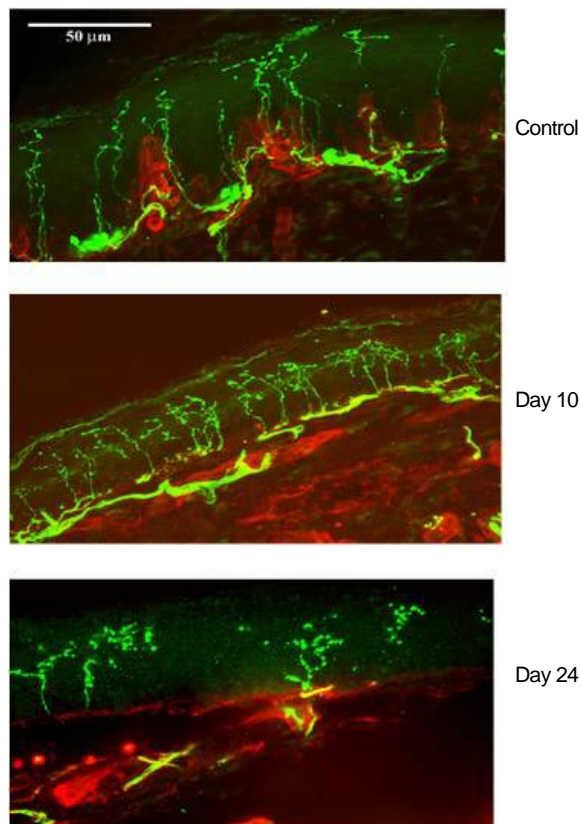


Figure 1. Confocal images showing changes in epidermal innervation associated with tumor growth. Biopsies were obtained from the plantar surface of the tumor-bearing hind paw. Top: ENFs in a control mouse. Middle: Proliferation of ENFs at 10 days after tumor cell implantation. Bottom: Reduced number of ENFs at 24 days after tumor cell implantation. ENFs appear green

that as the tumor grows, nerve fibers are injured and the associated pain and hyperalgesia is due in part to neuropathic mechanisms.

Response properties of dorsal horn neurons during tumor growth

Extracellular recordings were made from nociceptive dorsal horn neurons located in control and in tumor-bearing mice. All RFs were located on the plantar surface of the hind paw. Nociceptive neurons were classified functionally as wide dynamic range (WDR) or high threshold (HT) according to their responses evoked by mechanical stimuli of varying intensities.

Several differences in response properties were observed in tumor-bearing mice. First, a greater proportion (76%) of WDR neurons exhibited ongoing activity in tumor-bearing mice as compared to controls (54%) and their discharge frequency was approximately 3 times greater than that of control mice. Second, responses of WDR neurons to mechanical stimuli (brush, von Frey monofilaments, and pinching with serrated forceps) applied to the RF were greater as compared to those in control mice. Third, responses of WDR and HT neurons evoked by thermal stimuli were increased in tumor bearing mice (Figure 2).

Effect of cannabinoids on tumor-evoked hyperalgesia

Because of the limitations of prolonged opioid use for cancer pain, we investigated whether cannabinoids would reduce the hyperalgesia in our mouse model. Since peripheral antinociceptive effects of cannabinoids have been documented, we administered the non-selective cannabinoid receptor agonist, WIN 55,212-2, into the tumor-bearing paw. The frequency of withdrawal responses to mechanical stimuli (3.4 mN von Frey monofilament) applied to the plantar surface of the tumor-bearing paw was determined before and at various times after injection. As shown in Figure 3, WIN 55,212-2 reduced the frequency of withdrawal responses dose-de-

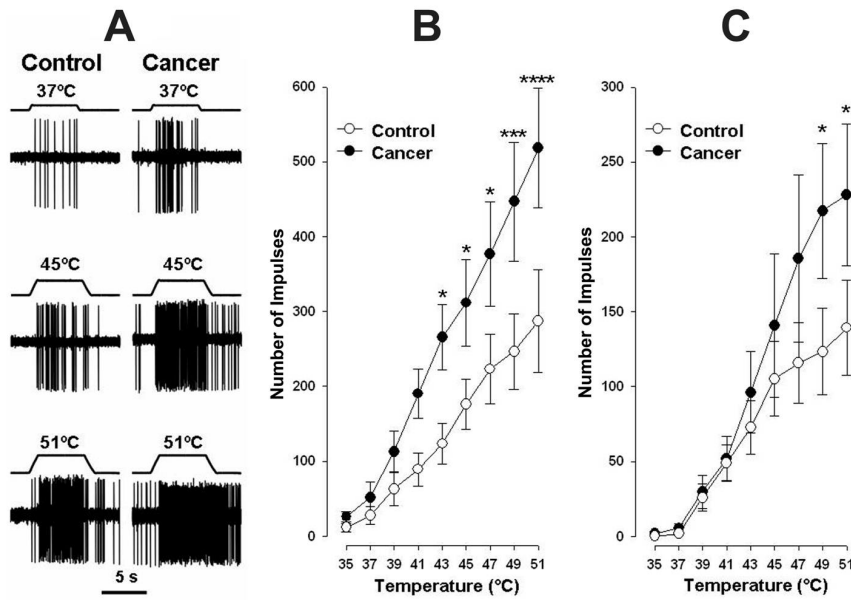


Figure 2. Effect of tumor growth on responses of nociceptive dorsal horn neurons to heat stimuli. A: Examples of the responses of individual WDR neurons evoked by 37°, 45° and 51°C from a control mouse and a tumor-bearing mouse. B: Heat stimuli evoked greater responses (mean number of impulses) from WDR neurons in tumor-bearing mice as compared to control mice. C: There were no differences in the mean (\pm sem) number of impulses from HT neurons evoked by the heat stimuli below 49°C between tumor-bearing and control mice. * $P < 0.05$, *** $P < 0.005$, **** $P < 0.001$ for number of impulses between tumor-bearing and control mice at each temperature. From Khasabov et al., 2007

pendently. Additional studies using selective cannabinoid receptor antagonists indicated that this occurred through both CB1 and CB2 receptors. These studies suggest that cannabinoids, acting through peripheral mechanisms, may be beneficial in the management of cancer pain.

Implantation of sarcoma cells into and around the calcaneus bone produces robust hyperalgesia to mechanical, heat, and cold stimuli that is mediated by sensitization of C-

fiber nociceptors as well as central sensitization, particularly sensitization of WDR neurons. Some of these changes are unique to the cancer pain model and differ from those observed following inflammation alone, supporting the notion that separate mechanisms underlie cancer pain. Understanding the changes in the physiology and neurochemistry of the dorsal horn produced by tumor growth may provide new opportunities for management of cancer pain.

As we have shown, cannabinoids may be effective in treating cancer pain. Importantly, if cannabinoids are effective through peripheral mechanisms alone, this would avoid unwanted side effects associated with activation of cannabinoid receptors in the central nervous system. It has been shown that cannabinoids can decrease excitability or nociceptors. Thus, cannabinoids may decrease the ongoing activity and sensitization of nociceptors produced by tumor growth, thereby preventing the development of central sensitization and persistent pain.

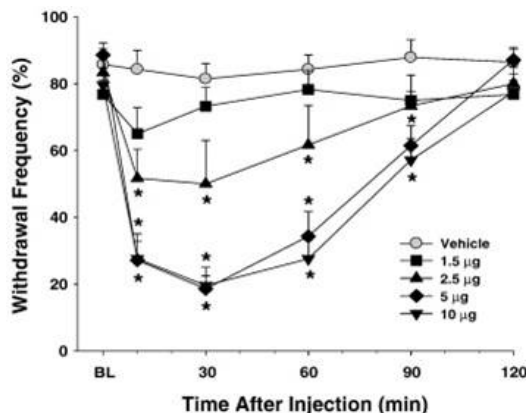


Figure 3. WIN 55,212-2 dose-dependently attenuates mechanical hyperalgesia. Local injection of 2.5, 5, or 10 mg of WIN 55,212-2 into the tumor-bearing hindpaw reduced the mean paw withdrawal frequency evoked by a von Frey monofilament (3.4 mN). indicates a significant difference from vehicle ($p \leq 0.05$). From Potenziari et al., 2008

These studies were supported by grants from the National Institutes of Health; DA011471 and CA091007.

Математическое моделирование в физиологии

О.Э. Соловьева^{1,2}, В.С. Мархасин^{1,2}

¹Институт иммунологии и физиологии УрО РАН;

²Уральский федеральный университет им. Первого президента РФ Б.Н. Ельцина, Екатеринбург; O.Solovyova@iip.uran.ru, V.Markhasin@iip.uran.ru

В настоящее время среди физиологов растет понимание того, что математическое моделирование – это уникальный и мощный инструмент исследования физиологических процессов, позволяющий существенно углублять наши знания об изучаемых явлениях, формировать принципиально новые количественные представления об этих явлениях, выявлять широкий спектр откликов системы, изменяя параметры модели, формулировать конкретные количественные гипотезы, которые могут быть проверены в эксперименте и, наконец, предсказывать и выявлять принципиально новые классы явлений. Уже имеются учебники по математической физиологии (см. [1]), а статьи по математическому моделированию охотно принимают известные физиологические журналы, в том числе и “Российский физиологический журнал”. Более того, использование математических моделей для интерпретации результатов физиологических экспериментов постепенно становится одним из необходимых требований физиологических и биофизических журналов. Таким образом, в настоящее время можно утверждать, что наряду с экспериментальной физиологией бурно развивается самостоятельная ее ветвь – математическая физиология, являющаяся специфическим источником новых знаний о природе физиологических процессов. Правда, последняя находится в стадии становления, особенно в России.

Отметим несколько положений, свидетельствующих, что математическое моделирование имеет ряд важных преимуществ перед вербальным моделированием, традиционно используемым в теоретической

физиологии.

В математических моделях для описания физиологических явлений употребляют строгий язык математики и компьютерного эксперимента, благодаря чему возможно количественно предсказывать различные явления, вытекающие из модельных представлений. Словесное, образное описание физиологических явлений и следствий, вытекающих из них, не обладает такими возможностями. Многие вербальные высказывания о механизмах физиологических явлений на первый взгляд могут казаться непротиворечивыми, но не выдерживают критики при математическом описании. Моделирование – эффективный инструмент верификации умозрительных схем и выявления неочевидных следствий. Возможность манипуляции параметрами модели в широких диапазонах позволяет найти различные режимы функционирования системы, которые в силу сложности и высокой степени нелинейности биологических систем зачастую невозможно предсказать, оперируя словесными схемами. В этом смысле модель, если она достаточно сложна, чтобы быть реалистичной, может быть источником новых, иногда контринтуитивных знаний. Возможности параметрического анализа модели крайне важны для выявления пределов для значений параметров, отделяющих нормальное функционирование физиологической системы и патологические нарушения ее функций.

Особую роль математическое моделирование играет в тех случаях, когда модель ставится в принципиально новые, но физиологически значимые условия. Более того, в некоторых случаях математическая

модель физиологического явления может стать стимулом для пересмотра или даже радикального изменения его парадигмы.

Одна из кардинальных особенностей математических моделей, способных генерировать гипотезы, – их тесная и постоянная связь с экспериментом. Математические модели являются источником конкретных количественных, как правило, экспериментально верифицируемых гипотез. Численные эксперименты на моделях помогают понять, что следует искать в эксперименте, делая его целенаправленным и более эффективным. В некоторых случаях (возможно, они преобладают) для экспериментальной проверки гипотез достаточно имеющегося ассортимента методов их регистрации. В других случаях, однако, может потребоваться принципиально новая, неизвестная ранее, методика. Возможно даже, что для этого потребуется много времени. Тем не менее, принципиально важно, что анализ модели способен приводить не только к предсказаниям новых явлений, но и к формулировке новых методов их регистрации.

Опираясь на собственный многолетний опыт математического моделирования механических и электрических явлений в миокарде, мы на конкретных примерах дадим подтверждение всем перечисленным выше уникальным возможностям математического моделирования в физиологии. Будут приведены примеры, иллюстрирующие применение математических моделей для описания и понимания слож-

ных процессов, а также предсказания новых явлений, протекающих на различных уровнях организации сердечной мышцы – от молекулярного до тканевого и органного. Будет показано, что реалистичные математические компьютерные модели являются средством для интегративного описания миокардиальной системы в целом с учетом взаимосвязей процессов на разных уровнях и временных шкалах. Например, используя математическую модель, воспроизводящую механические и электрические явления в однородном миокарде, для исследования эффектов, возникающих при взаимодействии неоднородных виртуальных кардиомиоцитов в миокардиальной ткани, нами был открыт новый, неизвестный ранее класс явлений, подтвержденных в дальнейшем экспериментально. Эти результаты позволяют расширить парадигму сократительной функции миокарда, включив в нее неоднородность миокарда как самостоятельную переменную, регулирующую электрическую и механическую функцию сердечной мышцы.

Хотя возможности математического моделирования будут проанализированы в докладе применительно к миокарду, они, по мнению авторов, имеют универсальный характер и относятся к моделированию любых физиологических процессов.

Работа поддержана грантами Президиума УрО РАН 09-М-14-2001, РФФИ 11-04-00785-а.

1. Keener J., Sneyd J. *Mathematical physiology*. Springer-Verlag New York, 1998.

Навигационные рецепторы клеток: физиологическая роль и механизмы функционирования

**В.А. Ткачук, Е.В. Семина, К.А. Рубина, В.Ю. Сысоева,
Н.И. Калинина, В.Д. Стамбольский, Е.В. Парфенова**

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

Адгезия, миграция и инвазия клеток играют важную роль в формировании тканей и органов в эмбриогенезе, поддержании архитектуры тканей во взрослом организме в норме и при патологии. Клетки мигрируют по градиенту хемоаттрактанта по траекториям, которые определяют навигационные рецепторы. Урокиназа (uPA), её рецептор (uPAR/CD87) и ингибиторы урокиназы (PAI) вовлечены в регуляцию клеточной адгезии и миграции, прежде всего как система, регулирующая протеолиз внеклеточного матрикса на поверхности клеток: связывание урокиназы с рецептором uPAR/CD87 обеспечивает локальную деградацию белков внеклеточного матрикса на лидирующем крае, что опосредует направленное движение клеток. Урокиназа синтезируется эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, эпителиальными клетками, фибробластами, моноцитами/макрофагами, а также клетками злокачественных опухолей различного происхождения. Экспрессия uPA регулируется различными факторами: воспалительными, цитокинами, факторами роста и опухолевыми промоторами. В структуре урокиназы выделяют три домена – N-концевой домен, подобный эпидермальному фактору роста (GFD), крингл-домен и C-концевой каталитический домен. Домен GFD ответственен за связывание урокиназы с её рецептором uPAR/CD87, крингл-домен урокиназы облегчает связывание GFD-домена с рецептором uPAR/CD87, а каталитический домен урокиназы

участвует в расщеплении плазминогена с образованием плазмина, который в свою очередь обеспечивает протеолиз внеклеточного матрикса. Плазмин, благодаря мультисубстратной специфичности, способен активировать ряд металлопротеиназ, которые в свою очередь расщепляют матриксные белки. Таким образом, урокиназа, модифицируя матриксное окружение клетки, оказывает влияние на её функциональное состояние.

Существует также множество данных, свидетельствующих о том, что помимо обеспечения внеклеточного протеолиза урокиназа при связывании с мембранными рецепторами вызывает активацию процессов внутриклеточной сигнализации, приводящих к перестройке цитоскелета и перераспределению адгезивных контактов, и тем самым оказывает влияние на адгезию и миграцию клеток независимо от своей протеолитической активности. Предполагается, что сигнальные эффекты урокиназы могут опосредовать рецептор урокиназы uPAR/CD87, являющийся гликозил-фосфатидилинозитол (ГФИ)-заякоренным белком, имеющий трёхдоменную структуру во внеклеточной части. Благодаря заякорению через ГФИ, рецептор урокиназы обладает высокой степенью подвижности в плазматической мембране, причём его локализация зависит от функционального состояния клетки. В покоящейся клетке рецептор uPAR/CD87 равномерно распределён по поверхности цитоплазматической мембраны, однако при миграции клетки

происходит кластеризация рецептора α PAR/CD87 на лидирующем крае, обеспечивая векторное ее перемещение по градиенту хемоаттрактанта. Рецептор урокиназы, как и многие ГФИ-заякоренные белки, локализован в “липидных плотках” – определенных участках плазматической мембраны, обогащенных гликофинголипидами и холестерином. Здесь же сконцентрированы многие сигнальные молекулы: Ca^{2+} -АТФаза, Ca^{2+} -каналы, белки семейства Src-киназ, протеинкиназа С, G-белки, кавеолин и др. ГФИ-рецепторы лишены трансмембранного и цитоплазматического доменов, а механизмы передачи сигнала от этих рецепторов на внутриклеточные сигнальные мишени остаются до конца не известными. Поскольку эти рецепторы не способны непосредственно контактировать с внутриклеточными сигнальными посредниками, очевидно, что должны существовать трансмембранные белки-адапторы, обеспечивающие сопряжение систем “принятия” и передачи сигнала. Существуют данные, свидетельствующие о том, что интегрины, кавеолин, витронектин, L-селектин могут являться белками-адапторами для рецептора урокиназы. Так, взаимодействие урокиназного рецептора с белком внеклеточного матрикса витронектином способствует внеклеточной адгезии, а взаимодействие рецептора с лейкоцитарным интегрином Mac-1 наоборот, активирует клеточную миграцию.

Крингл-домен урокиназы также вовлечён в индукцию внутриклеточной сигнализации, миграции и адгезии клеток. Было обнаружено, что крингл-домен взаимодействует с ростовым доменом урокиназы. Предполагается, что ростовой домен урокиназы закрывает эпитопы связывания на крингл-домене, но благодаря взаимодействию ростового домена с α PAR/CD87 происходит экспозиция крингл-домена, его связывание с интегринными, в результате происходит запуск внутриклеточной сигна-

лизации и миграции клеток. Помимо описанных сигнальных путей нами было обнаружено, что одноцепочечная урокиназа, взаимодействуя с нуклеолином, способна транслоцироваться в ядро. Под воздействием урокиназы в ядре происходит активация транскрипции гена гладкомышечного актина в фибробластах и запускаются процессы трансдифференцировки клеток из фибробластов в миофибробласты. Таким образом, урокиназа является важнейшим регулятором клеточной адгезии, миграции, пролиферации и дифференцировки клеток. Свои эффекты урокиназа опосредует как через протеолитическую активность, так и за счёт активации внутриклеточной сигнализации и транскрипции генов.

В последнее время накапливаются данные о другом представителе ГФИ-заякоренных белков, который также способен активировать процессы внутриклеточной сигнализации, направленные на клеточную миграцию и пролиферацию. Это атипичный представитель кадгеринового суперсемейства T-кадгерин. “Классические” кадгерины представляют собой семейство трансмембранных рецепторов, опосредующих кальцийзависимую гомофильную адгезию во всех тканях и органах. “Классические” кадгерины содержат внеклеточную часть, состоящую из пяти кальцийсвязывающих доменов и ответственную за гомофильное узнавание, трансмембранные и цитоплазматические домены. “Классические” кадгерины обеспечивают формирование стабильных межклеточных адгезивных контактов за счет взаимодействия с компонентами актинового цитоскелета посредством белков катенинов и плакоглобинов. Внеклеточная часть T-кадгерина гомологична “классическим” кадгеринам и также состоит из пяти кадгериновых повторов, однако T-кадгерин лишён трансмембранного и цитоплазматического доменов, а заякорен на мембране через

ГФИ, где, как было сказано выше, сосредоточено большое количество белков сигнального каскада, что позволяет предположить участие Т-кадгерина в активации внутриклеточной сигнализации. Механизм внутриклеточной сигнализации через “классические” кадгерины в целом установлен, тогда как вопрос о проведении сигнала от Т-кадгерина внутрь клетки остается открытым. Очевидно, что для ГФИ-заякоренного Т-кадгерина, как и для ГФИ-заякоренного рецептора урокиназы, должны существовать трансмембранные адаптеры, но пока о них мало что известно.

При изучении экспрессии Т-кадгерина в норме в различных органах и тканях было показано, что максимальная экспрессия Т-кадгерина наблюдается в сердечно-сосудистой системе (в кардиомиоцитах, эндотелии, гладкомышечных клетках и перicyтах) и в нервной системе. Т-кадгерин, по всей видимости, является навигационной молекулой, осуществляющей отрицательную навигацию роста аксонов к своим мишеням в процессе эмбриогенеза: растущие аксоны избегают на своем пути участков, где экспрессирован Т-кадгерин. Кроме того, в нашей лаборатории было показано, что в процессах неангиогенеза Т-кадгерин подавляет миграцию эндотелиальных клеток в результате гомофильного взаимодействия молекул Т-кадгерина на поверхности эндотелиальных клеток и клеток стромы, также экспрессирующей Т-кадгерин. Нами были получены данные о том, что экспрессия Т-кадгерина возрастает при атеросклеротических поражениях сосудов. Известно, что атеросклероз сопровождается накоплением липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и холестерина в сосудистой стенке, нарушением проницаемости эндотелия и стенозированием просвета сосуда. Было высказано предположение, что гиперэкспрессия Т-кадгерина в сосудах при атеросклерозе не случайна, и возможно, это связано с негативным воз-

действием ЛНП на сосудистую стенку. Накопление ЛНП в клетках сосудов происходит через классический апоВ/Е-рецептор ЛНП, но тем не менее, ЛНП способны вызывать ряд “гормоноподобных” эффектов, в основе которых лежит активация систем внутриклеточной сигнализации. В отличие от хорошо изученного “метаболического” действия ЛНП, опосредуемого апоВ/Е-рецептором, механизмы “гормоноподобных” эффектов неизвестны, также неизвестен рецептор, сопряженный с системами вторичных посредников. Ранее в нашей лаборатории удалось обнаружить атипичный участок специфического связывания ЛНП на культивируемых гладкомышечных клетках сосудов, которым оказался Т-кадгерин. Связывание Т-кадгерина с ЛНП низкоаффинное, K_d связывания ЛНП с Т-кадгерином намного выше, чем с K_d связывания ЛНП с классическим рецептором: K_d апоВ/Е составляет 1-2 мкг/мл, а K_d Т-кадгерина находится в пределах 60 мкг/мл. При взаимодействии ЛНП с Т-кадгерином активируется фосфоинозитидный обмен, накапливается диацилглицерол в мембране, увеличивается концентрация внутриклеточного Ca^{2+} за счёт выхода кальция из ЭПР, а также активируется миграция клеток по градиенту ЛНП.

В настоящее время в нашей лаборатории исследуется роль Т-кадгерина в регуляции проницаемости эндотелия. В норме эндотелиальные клетки экспрессируют Т-кадгерин, однако при состояниях, связанных с нарушением проницаемости эндотелия, экспрессия Т-кадгерина возрастает. Мы предположили, что Т-кадгерин также участвует в регуляции проницаемости сосудов. Действительно, эктопическая гиперэкспрессия Т-кадгерина в эндотелиальных клетках сопровождается увеличением проницаемости монослоя этих клеток, а подавление нативной экспрессии Т-кадгерина наоборот, усиливает барьерную функцию эндотелия, снижая проницаемость их монослоя. В основе механизма регуляции

проницаемости лежит активация систем внутриклеточной сигнализации с участием RhoA/Rac1/Cdc42 ГТФаз: при гиперэкспрессии Т-кадгерина в эндотелии увеличивается содержание не только активированных форм ГТФаз, но также и их прямых нисходящих посредников: ROCK, PAK, LIMK. При этом активация этого сигнального пути приводит к перестройкам актинового и тубулинового цитоскелета: в клетках, гиперэкспрессирующих Т-кадгерин, возрастает полимеризация стресс-фирилл-актина и деполимеризация микротрубочек, а при подавлении нативной экспрессии Т-кадгерина наоборот, актин деполимеризуется, а микротрубочки полимеризуются. Кроме того, гиперэкспрессия Т-кадгерина также разрушает VE-кадгериновые адгезивные контакты: наблюдается формирование межклеточных щелей в зоне межклеточной адгезии в монослое эндотелиальных клеток, увеличивается тирозинное фосфорилирование внутриклеточного домена VE-кадгерина по участку связывания с бета-катенином. Фосфорилирование VE-кадгерина приводит к блокированию связывания VE-кадгерина с адаптерными белками (катенинами), разрушает связь катенинов с цитоскелетом клетки, и дестабилизирует адгезивные контакты. В результате происходит клат-

рин-зависимый эндоцитоз VE-кадгерина и его деградация в лизосомах.

Есть данные, свидетельствующие о том, что Т-кадгерин ассоциирован с молекулами $\beta 1$ -интегринов на мембранах клеток, так как показано прямое влияние экспрессии Т-кадгерина на количество и эндоцитоз $\beta 1$ -интегрина в клетках карциномы. Такое прямое влияние экспрессии Т-кадгерина на уровень $\beta 1$ -интегрина, возможно, регулирует инвазивность и метастазирование опухолевых клеток, так как потеря интегринов опухолевыми клетками коррелирует со степенью малигнизации и инвазии в трансформированных клетках. Существуют также отдельные данные о возможном участии интегринассоциированной киназы IL3 в проведении сигнала с Т-кадгерина внутрь клетки. Ключевыми сигнальными белками, участвующими в данном каскаде, являются киназы GSK3 β и Akt, при активации которых происходит стабилизация в-катенина, транслокация его в ядро, и активация генов Lef/Tcf и Cyclin D1, ответственных за пролиферацию в эндотелиальных клетках.

Таким образом, существуют белки, выполняющие навигационную функцию, сигнализация с участием которых регулирует процессы направленной миграции, а также пролиферации и дифференцировки.

Нейроэндокринные регуляции у взрослых млекопитающих и в онтогенезе

М.В. Угрюмов

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, mugrumov@mail.ru;
Институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва*

Основным условием жизнеспособности организма является поддержание постоянства внутренней среды, несмотря на изменения внешней среды, что обеспечивается нейроэндокринной системой регуляции. Ключевое звено этой системы – гипоталамус, оказывающий прямое эндокринное влияние на аденогипофиз и некоторые периферические органы, а также на периферические эндокринные железы, опосредованное через аденогипофиз. Физиологически активные вещества (ФАВ) нейронального происхождения поступают в кровеносные сосуды в «нейрогемальных» отделах гипоталамуса, лишенных гематоэнцефалического барьера. В остальных областях мозга у взрослых животных поступлению ФАВ в кровоток препятствует гематоэнцефалический барьер. Наряду с центральной высоко иерархичной системой нейроэндокринной регуляции существует филогенетически более древняя периферическая диффузная нейроэндокринная система, представленная секреторными так называемыми APUD (от англ. amine precursor uptake and decarboxylation) клетками, рассеянными в большинстве периферических органов. Эти клетки, синтезирующие физиологически активные пептиды и моноамины, участвуют в паракринной регуляции «рабочих» клеток-мишеней.

Согласно общепринятой концепции, формирование центральной нейроэндокринной регуляции в онтогенезе начинается с «созревания» периферических эндокринных желез, которые сначала функционируют автономно, а затем попадают под

контроль аденогипофиза. В это время гормоны периферических эндокринных желез участвуют в регуляции развития мозга в целом и эндокринного гипоталамуса в частности. В свою очередь, мозг включается в регуляцию аденогипофиза и опосредовано через него периферических эндокринных желез только после окончательного созревания, т.е. после формирования специфических межнейрональных и нейроваскулярных связей. При этом образуется замкнутая система регуляций, характерная для взрослых млекопитающих.

Поскольку нейроны начинают секретировать ФАВ – пептиды, моноамины, ростовые факторы и др. – вскоре после их образования и задолго до формирования межнейрональных и нейроваскулярных связей, считается, что они в это время влияют на формирование мозга в качестве индукторов развития. Большая часть этих веществ участвует в аутокринной и паракринной регуляции дифференцировки нейронов-мишеней, выступая в качестве морфогенетических или транскрипционных факторов. При этом они, действуя в строго определенные периоды онтогенеза, оказывают долгосрочное (импринтинговое) влияние на дифференцировку нейронов-мишеней и экспрессию специфического фенотипа. Так, физиологически активные вещества нейронального происхождения участвуют в паракринной регуляции: (а) пролиферации клеток-предшественниц нейронов, (б) миграции дифференцирующихся нейронов из места их образования в место окончательной локализации в мозгу, (в) экспрессии специфических генов и син-

тезов (нейропептиды, ферменты синтеза классических нейротрансмиттеров, мембранные транспортеры, везикулярные транспортеры, рецепторы), (в) направленного роста аксонов и дендритов, (г) формирования специализированных межнейронных контактов (синапсы и др.).

Учитывая то, что дифференцирующиеся нейроны начинают секретировать ФАВ задолго до начала синаптической нейротрансмиссии и формирования гематоэнцефалического барьера, нами была сформулирована гипотеза, согласно которой нейроны на ранней стадии развития функционируют как секреторные клетки, а мозг как полифункциональный эндокринный орган. Это означает, что десятки, если не сотни ФАВ поступают из мозга в общую систему циркуляции, оказывая эндокринное влияние на развитие целостного организма. Для проверки гипотезы в качестве маркерных ФАВ мозгового происхождения были выбраны моноамины (дофамин, серотонин) и нейропептиды (гонадотропин-рилизинг-гормон). У взрослых животных они играют роль нейротрансмиттеров или нейромодуляторов, передающих информацию от нейрона к нейрону, а также нейрогормонов, поступающих из гипоталамуса с портальным кровотоком в аденогипофиз. Оказалось, что у крыс в перинатальном периоде – до формирования гематоэнцефалического барьера – концентрация упомянутых маркеров в общей системе циркуляции так же высока, как и в портальной системе у взрослых. После формирования гематоэнцефалического барьера их концентрация в крови резко падает, что является косвенным показателем мозгового происхождения этих ФАВ. Прямым доказательством мозгового происхождения является

снижение концентрации дофамина, серотонина и гонадотропин-рилизинг-гормона в крови у крыс до формирования гематоэнцефалического барьера после микрохирургического разрушения синтезирующих их нейронов или ингибирования синтеза дофамина и серотонина в мозгу. Используемые маркеры, как и многие другие ФАВ мозгового происхождения, вероятно способны до формирования гематоэнцефалического барьера оказывать эндокринное влияние на потенциальные периферические мишени – аденогипофиз, гонады, почки, сердце, кровеносные сосуды и сам мозг. В последнее время нами получены первые прямые доказательства эндокринного влияния факторов мозга на периферические органы-мишени в этот период онтогенеза. Несмотря на то, что период функционирования мозга как эндокринного органа не продолжителен, он является ключевым в развитии организма, поскольку именно в это время ФАВ оказывают необратимое влияние на развивающиеся клетки и органы-мишени в качестве морфогенетических или транскрипционных факторов. Отсюда следует необходимость пересмотреть патогенез ряда врожденных заболеваний с позиции нарушения метаболизма морфогенетических факторов мозгового происхождения.

Таким образом, центральная и периферическая нейроэндокринные системы обеспечивают поддержание гомеостаза и регуляцию важнейших функций во взрослом организме, в то время как в развивающемся организме мозг в качестве эндокринного органа оказывает прямое эндокринное влияние на развитие периферических органов-мишеней и самого мозга (ауторегуляция).

Новый вид психофизиологического стресса на Земле и в Космосе: стресс смертельно опасных состояний (этиология и физиологические характеристики)

И.Б. Ушаков

Учреждение Российской академии наук Государственный научный центр Российской Федерации; Институт медико-биологических проблем, Москва; Ibushakov@gmail.com

Проблема адаптации лиц, переживших ситуации, связанные с риском для жизни и здоровья, была актуальной во все периоды истории человечества. В настоящее время это связано с ростом числа чрезвычайных ситуаций различного рода, террористических актов и вооруженных конфликтов. В этих случаях возникает совершенно особый вид стресса – стресс смертельно опасных состояний (ССОС), характеризующийся быстрой динамикой со значительной утратой функциональных резервов организма и длительным следом в отдаленном периоде, диагностируемым с помощью физиологических и психофизиологических тестов.

В работе описаны результаты исследования индивидуальных психофизиологических механизмов адаптации при жизнеугрожающих ситуациях. Использовалась методика нейросемантической психодиагностики, основанная на анализе вызванных потенциалов ЭЭГ при подпороговом времени предъявления вербальных стимулов. В нашей лаборатории (Бубеев Ю.А. и соавт.) проводилось выделение вызванного ответа на каждый стимул, обработка методами кросскорреляционного и wavelet-анализа, оценка с помощью нейросетевых алгоритмов и результирующая оценка всех стимулов для каждого отведения и времени предъявления. Изложены представления о связи анализируемых показателей с неосознаваемыми аспектами психической деятельности. Приведены результаты обследований с помощью описанной методики на

разных контингентах людей, деятельность которых сопряжена с опасностью для жизни. Указанные изменения в функционировании базовых механизмов бессознательного реагирования могут уточнить направления для совершенствования методов психологической поддержки и психокоррекции.

Для разработки эффективных мер профилактики и коррекции дизадаптационных нарушений важна не столько феноменология, как обязательная расшифровка конкретных механизмов осуществления приспособительных реакций от стимула до тех звеньев в процессах регуляции, которые обеспечивают изменение адаптивного поведения.

Тревога и страх лежат в основе многих психических нарушений – невротических, депрессивных, психосоматических расстройств. Переживание интенсивного страха при попадании в экстремальную ситуацию является важнейшим условием для возникновения посттравматического стрессового расстройства. Значимые различия реагирования на различные семантические стимулы, связанные со страхом и опасностью для жизни показаны, в частности, при обследовании лиц опасных профессий.

Ситуация моделирования этапа межпланетного полета в эксперименте «Марс 500» не являлась жизнеугрожающей в буквальном смысле, но воспринималась испытуемыми как потенциально представляющая серьезную опасность для здоровья. Осуществлялось сравнение показателей выз-

ванных потенциалов для различных стимулов до и после проведения эксперимента. Результаты приведены в таблице (представлены только показатели, имеющие достоверные различия с фоновыми значениями).

Таким образом, отрицательные значения показателей соответствуют более высокому порогу возникновения реакции на тестовый стимул и, следовательно, в них проявляются механизмы, связанные с психологической защитой. Наоборот, достоверные положительные значения свидетельствуют об отсутствии проявлений психологической защиты и, более того, о наличии выраженной акцентуации психологической проблематики, соответствующей тестовому стимулу.

Одним из наиболее жестких вариантов

ССОС является боевой стресс, действующий на участников вооруженных конфликтов и террористических актов. Более «мягкие» стрессоры характерны для лиц опасных профессий. Весь континуум стресс-реакций при действии факторов, несущих угрозу для жизни и здоровья можно классифицировать в виде стресса смертельно опасных состояний. Чаще всего он является комбинированным стрессом, это системная многоуровневая реакция организма человека на воздействие комплекса опасных факторов с реальным осознанием высокого риска гибели или серьезной утраты здоровья, которая проявляется на личностном, психофизиологическом, эмоционально-вегетативном и соматическом уровнях, при значительной,

а возможно и ведущей роли изменений в бессознательной сфере, заключающихся в грубой деформации базовых эго-структур. Следует признать, что в проблематике психофизиологии ССОС гораздо больше труднорешаемых задач, так как данные получаются гораздо чаще «от жизни», а не «от эксперимента». В будущем проблеме вследствие ряда объективных факторов следует рассматривать гораздо шире и глубже – не только как специфическую проблему лиц опасных профессий, а как фундаментальную медико-биологическую проблему – вызов времени, способный вовлечь под свое влияние любого человека в любой момент жизни.

Сравнение показателей вызванных потенциалов до и после участия в эксперименте.

M1 – медиана по группе до участия в эксперименте, M2 – медиана по группе после участия в эксперименте, Z – критерий Манна-Уитни, P – уровень достоверности.

Стимул	Показатель	M1	M2	Z	P
Болезнь	Общ.ампл.	-0.507	0.464	-2.744	0.020
Болезнь	F3_0	-0.575	1.135	-3.488	0.005
Жена	F3_1	0.052	0.958	-2.498	0.031
Жена	F4_1	0.426	-0.325	2.248	0.048
Жена	P4_1	0.753	-0.367	2.311	0.043
Космос	F4_2	-0.665	0.301	-2.765	0.019
Опасность	F3_0	-0.060	1.055	-2.333	0.041
Опасность	F4_1	1.204	-0.091	2.893	0.016
Работа	T4_0	-0.565	0.272	-3.752	0.003
Работа	P3_1	-0.282	0.989	-2.577	0.027
Работа	T4_2	-0.809	0.968	-2.363	0.039
Семья	Общ.ампл.	-0.887	0.438	-2.392	0.037
Семья	F3_0	-0.102	1.564	-3.711	0.004
Семья	T4_1	1.336	-0.087	2.729	0.021
Секс	T3_0	-0.479	0.901	-2.699	0.022
Секс	T4_1	0.203	-0.626	3.030	0.012
Смерть	P4_0	-0.464	0.744	-2.672	0.023
Алкоголь	P4_0	-0.102	1.140	-2.575	0.027

Наименования показателей образуются из названия отведения и цифры, обозначающей время предъявления: 1 – t1 (малое время), 2 – t2 (большое время), 0 – суммарные показатели для t1 и t2. Реакция на другие стимулы отмечалась на уровне тенденции и не была достоверной. Полученные результаты позволяют говорить о наличии ряда психологических изменений, возникающих вследствие участия в долговременном эксперименте.

Причины преждевременной общебиологической деградации человека, пути ее предупреждения и решение проблемы здоровья с позиции санокреатологии

Ф. И. Фурдуй, В. К. Чокинэ, В. Ф. Фурдуй, Г. А. Вуду

Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы, Кишинэу

1. Состояние здоровья современного общества

Имеется достаточно данных, свидетельствующих о фатальности судьбы современного общества, являющегося потребительским и поглощенным стремлением к созданию материального благополучия, передвинувшим на второй план проблему обеспечения здоровья, полагая, что оно само собой наладится, из-за чего, по существу, стало больным обществом.

По данным ВОЗ в мире глобально на 1000 человек приходится около 770 больных, ожидаемая продолжительность жизни при рождении составляет лишь 68 лет, а максимальное увеличение ее на 30 лет предполагается только к 2100 году. Наблюдается тенденция увеличения квоты сердечно-сосудистых, эндокринных, онкологических, иммунных и нервно-психических болезней в структуре заболеваемости населения. В развитых странах примерно 2/3 всех смертей обусловлены хроническими неинвазивными заболеваниями, а к 40 годам у каждого второго жителя планеты имеются дегенеративные изменения позвоночника, к 50 – у 70%, а к 70 – у 90%. К 43 годам фактически каждый человек болеет 3-4 болезнями. В 45-50 лет у женщин начинается менопауза, являющаяся признаком физиологической диминуации с последующей деградацией. По утверждению специалистов ВОЗ, в современном мире общий уровень распространения психических болезней составляет более

200 случаев на каждые 1000 человек. Более 80% детей школьного возраста имеют функциональные нарушения сердечно-сосудистой системы. Значительный процент лиц призывного возраста при обстоятельном медицинском осмотре оказываются непригодными к воинской службе. В последнее время имеет место резкое снижение показателей человеческой спермограммы. К тому же известно, что люди умирают не от старости, а от болезней, а старость является не чем иным, как ранней морфофизиологической деградацией, осложненной болезнями. Согласно прогнозам, и в будущем заболеваемость хроническими болезнями (онкологическими, сердечно-сосудистыми, эндокринными, иммунными и др.) проявит тенденцию к увеличению. Высокий уровень заболеваемости и преждевременная общебиологическая деградация угрожают существованию не только современного, но и будущего общества.

2. Пути решения проблемы здоровья

Их два. Первый – соотнести экологическую среду обитания, технические достижения, образ жизни, психоэмоциональные нагрузки с филогенетически сформировавшимися физиологическими способностями и потребностями, т.е. привести окружающую человека среду и стиль его жизни к таковым, к которым в процессе филогенеза сформировались соответствующие морфофизиологические признаки и жизненный потенциал человека, что не

представляется реальным. Второй путь нам кажется, единственно приемлемым и состоит в том, чтобы целенаправленно формировать и поддерживать морфологический, физиологический, биохимический и психический статус организма, его здоровье с тем, чтобы организм выдерживал прессинг сегодняшних и завтрашних условий жизнедеятельности человека. Сказанное, с учетом кризиса существующих методологий решения проблемы здоровья, и послужило основанием для создания санокреатологии (*sanus* – здоровье, *creator* – создавать, *logos* – наука). Она призвана разработать теорию и практику целенаправленного формирования и поддержания здоровья организма от закладки гамет, эмбрионального развития и до последних постнатальных этапов онтогенеза; фортификации соматического и психического здоровья не только на уровне индивидуума, но и популяций людей; предупредить преждевременную общебиологическую деградацию и обеспечить прогрессивную эволюцию *Homo Sapiens* как биологического вида – задачи, которые не ставились другими науками. Санокреатология базируется на специфических, только для нее основополагающих, принципах, методах исследования и понятиях, которые будут представлены в докладе.

3. Некоторые результаты развития санокреатологии

1. Разработаны новые концепции о феномене здоровья и о санокреатологическом питании, базирующиеся на генетических, морфологических, физиологических и психических основах саногенной деятельности организма.

2. Раскрыты причины, детерминирующие высокий уровень заболеваемости населения и преждевременную общебиологическую деградацию человека, каковыми являются:

а) стихийное формирование в процессе

раннего онтогенеза адаптивного, физиологического и психического потенциала здоровья, из-за чего жизненно важные органы и системы не в состоянии стойко саногенно функционировать в различных ситуациях;

б) приостановление действия в человеческом обществе движущей силы прогрессивной эволюции – естественного отбора, что привело к увеличению груза давления на человеческий организм со стороны накапливающихся вредных мутаций, обусловленных резкими изменениями факторов окружающей среды;

в) стрессогенный (симпатико-тонический) образ жизни и несоответствие темпов изменений условий жизни современного человека и скорости возможной эволюции филогенетических норм реакций, из-за чего организм фактически находится в состоянии хронического стресса;

г) гуманное стремление современного общества разрешить воспроизводить потомство всем, даже генетически и психически нездоровым индивидуумам;

д) современная медицина, будучи нозологической наукой, по-существу, полагает, что проблема здоровья сама по себе решится при раскрытии механизмов возникновения и развития патологий и при их эффективном лечении, чем и объясняется отсутствие в перечне основных предметов, преподающихся в медресах, специального курса лекций о механизмах формирования и поддержания здоровья.

Последствия влияния этих причин представляют особую опасность для здоровья и эволюции не только современного человека, но и будущих поколений людей, поэтому преждевременную общебиологическую деградацию человека надо отнести к уровню таких глобальных проблем, представляющих угрозу существования человечества, как энергетическая, продовольственная, экологическая и др. При этом необходимо пересмотреть концепцию развития

медицины, которая мутуально стала нозологической наукой, и как следствие, подготовку кадров врачей.

3. Идентифицированы факторы, влияющие на здоровье человека на различных этапах изменения условий его жизнедеятельности. На начальном этапе эволюции, когда среда обитания была относительно комфортной, здоровье зависело главным образом от генетических факторов; при относительном ухудшении условий существования на состоянии здоровья начали сказываться еще и экологическая, и социальная обстановки, в которых протекала его жизнь; при дальнейшем ужесточении среды обитания и охлаждении климата дополнительно на уровень здоровья стали влиять такие факторы, как естественный отбор, ставший движущей силой эволюции; технологии (создание орудий труда, одомашнивание и выращивание животных, культивирование растений); интеллектуальная деятельность; на современном этапе, когда среда обитания урбанизирована, производственные процессы автоматизированы и высоко технологичны, а образ жизни постоянно ускоряется и является симпатотоническим, поведение человека, вследствие разработанных им норм морали, лимитируется в строгих рамках, наряду с генетическими, детерминирующими факторами здоровья: образом жизни, интеллектуальной деятельностью, экологическими и социальными условиями, технологией и автоматизацией, а также

медицинскими услугами и нефункционированием в человеческом обществе естественного отбора.

Доля последствий влияния одних и тех же факторов на различных этапах эволюции человека была неодинакова.

4. В докладе будут освещены также и другие научные результаты, позволившие пересмотреть наличествующие трактовки сущности здоровья, определить критические этапы в становлении структурной матрицы здоровья организма при внутриутробном и постнатальном развитии отдельных органов и организма в целом, принципы определения уровня здоровья сердца и легких, роль различных нутриентов и биологически активных веществ в поддержании здоровья и др.

4. Практическая необходимость обособления санокреатологии в отдельную отрасль биомедицины

Опыт развития санокреатологии показывает, что решение судьбоносной для человечества проблемы здоровья возможно лишь при условии ее обособления в отдельную отрасль науки, в задачу которой входит исследование механизмов становления, гомеостатирования, фортификации и диминуции уровня здоровья жизненно важных органов и организма в целом, разработка теории и практики целенаправленного формирования, поддержания и фортификации здоровья и предупреждения преждевременной общебиологической деградации человека.

Тормозные механизмы в рефлекторных реакциях симпатической нервной системы

А.Г. Чумак, С.А. Руткевич, Т.В. Каравай, К.М. Люзина, И.Ю. Альфер

*Белорусский государственный университет;
Институт физиологии НАН Беларуси, Минск*

Представление о том, что все полисинаптические симпатические рефлексы спинного мозга являются одновременно полимедиаторными, утвердилось на страницах современных монографий и обзорных статей. Растет число публикаций, обсуждающих роль объемной передачи сигнала в мозгу, вовлекающей в сферу влияния распространяемого током межклеточной жидкости химического фактора многообразные рецепторы, локализованные как в области «классических» синапсов, так и экстрасинаптически. Все это заставляет рассматривать механизмы регуляции функций на сегментарном уровне более сложными, чем полагали ранее. По современным данным, нейроны дорсального рога спинного мозга располагают преимущественно экстрасинаптически расположенными рецепторами, аффинными к разнообразным нейромедиаторам (глицин, ГАМК, NO и др.). Они вовлекаются и в реализацию симпатических рефлекторных реакций, связанных с действием в организме чрезвычайных раздражителей. Поскольку ингибирование гиперактивных реакций симпатической нервной системы может способствовать ограничению последствий висцеральной боли, установление механизмов торможения импульсации в эфферентных волокнах внутренностных нервов должно быть сопряжено с целенаправленным поиском средств, применение которых перспективно для медицинской практики.

Материал получен в острых экспериментах на наркотизированных нембуталом

и уретаном (30 и 500 мг/кг) крысах с помощью компьютерного электрофизиологического анализа импульсации симпатических нервных волокон в нервных стволах при ноцицептивном воздействии (растяжение, ишемия тканей кишки) на рецепторы внутренних органов или электростимуляцию нервов. Препараты вводили интратекально на уровне Th 8-9 через тонкий силиконовый катетер, продвинутый под оболочки спинного мозга через отверстие в атланта-окципитальной мембране.

В результате исследования установлено, что афферентные волокна кожи и мышц вовлечены в реализацию симпатингибирующих рефлекторных реакций на уровне спинного мозга, ограничивающих развитие болевых висцеральных реакций. Получены доказательства того, что глутамат- и NO-ергические нейрхимические процессы вовлечены в формирование проноцицептивных реакций, в то время как ГАМК- и глицинергические предопределяют симпатингибирующие эффекты на спинальном уровне. Подтверждением указанных выводов могут служить следующие данные.

В опытах установлено, что реакции физических эфферентных симпатических волокон в ветвях брюшного аортального сплетения, вызываемые стимуляцией афферентных проводников группы С тонкой кишки, кожи и совместным Аβγ, В и С-афферентов мышц задней конечности, характеризуются длительным последствием, вариативным латентным периодом, отражая активацию фоново неак-

тивных эфферентных симпатических нейронов. Электростимуляция соматических А δ , В и С афферентных проводников на фоне раздражения висцеральных сопровождается угнетением фазической, но не тонической симпатической эфферентной импульсации, что свидетельствует об активации симпатингибирующих систем в данных методических условиях. Фармакологический анализ дал основания утверждать, что монооксид азота вовлечен в процессы формирования как тонической, так и рефлекторно вызванной импульсации эфферентных волокон брюшного аортального сплетения крысы. Ингибитор NO синтазы L-NAME, введенный интратекально (20-60 мкг в 0,1 мл), снижал частоту тонической (от 27,0 \pm 3,2 до 17,5 имп./с \pm 1,1 имп./с; P<0,001) и рефлекторно вызванной активности (от 48,6 \pm 3,2 до 32,8 имп./с \pm 5,8 имп./с при активации кожных и от 67,6 \pm 5,7 до 17,3 имп./с \pm 2,7 имп./с; P<0,001 – брыжеечных афферентных волокон). Субстрат NO синтазы L-аргинин (80 мкг/0,2 мл) провоцировал симпатоактивирующий эффект (по частоте импульсации тонической от 25,1 \pm 2,9 до 32,3 имп./с \pm 2,3 имп./с, P<0,01, и фазической от 67,6 \pm 5,7 до 82,8 имп./с \pm 3,2 имп./с, в ответ на стимуляцию чувствительных волокон брыжеечного нерва и от 48,6 \pm 3,2 до 59,8 имп./с \pm 3,1 имп./с, – подкожного нерва бедра). В свою очередь, тоническая активность эфферентных волокон брюшного аортального сплетения дозозависимо (10⁻⁶–10⁻³ моль/л) потенцировалась интратекальным введением L-глутамата натрия в дозе (от 23,9 \pm 1,8 до 34,1 имп./с \pm 2,8 имп./с при введении 10⁻⁴ моль/л) на фоне положительного хронотропного эффекта (от 352 \pm 11 до 404 систол./мин \pm 10 систол./мин). Действие тормозных аминокислот глицина и γ -аминомасляной кислоты (2 · 10⁻³ моль/л, объем 0,02 мл) в ликворе спинного мозга проявлялось в ингибировании тонической и вызванной активности эфферентных волокон в составе

нервов брюшного аортального сплетения.

Реализация моносинаптического Н-рефлекса при кондиционирующем раздражении афферентных волокон брыжеечного и большеберцового нерва характеризовалось снижением, а подкожного нерва бедра – его потенцированием. Интратекальное действие тормозных аминокислот уменьшало рефлекторные эффекты, а глутамата – их усиливало. При этом введение в спинномозговой ликвор ингибиторов синтазы NO (L-NAME, L-NNA) и L-аргинина снижало (на 30–50%) амплитуду Н-ответов, вызываемых отдельно и при обуславливающей стимуляции висцеральных и соматических афферентных волокон. Полученные данные свидетельствуют об участии монооксида азота в модуляции возбудимости мотонейронов, в том числе при осуществлении висцеросоматических рефлексов.

Как выявлено после анализа результатов следующих серий опытов, NO эффективно влиял на протекание рефлекторных реакций, реализуемых волокнами брыжеечных нервов. Действие предшественника NO L-аргинина в ликворе заключается в обратимом, дозозависимом (10⁻⁶–10⁻⁴ моль/л) ингибировании тонической импульсации симпатических эфферентных волокон в составе краниального брыжеечного нерва, адресующихся к регуляции электрической и моторной активности кишки. Интратекальное введение ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинина (L-NAME, 60 мкг, в 0,1 мл искусственного ликвора) угнетает тоническую эфферентную импульсацию в брыжеечных эфферентных волокнах (от 34,2 \pm 3,5 до 23,4 имп./с \pm 2,3 имп./с, P<0,05). Введение в ликвороносную систему спинного мозга донора NO нитропруссид натрия (10⁻⁶–10⁻³ моль/л) и L-глутамата натрия дозозависимо (10⁻⁶–10⁻⁴ моль/л) воспроизводит симпатоактивирующий эффект.

Напротив, инфузия в спинномозговой ликвор ингибитора синтазы NO L-NAME

(20 мкг/0,1 мл) отменяло угнетение сократительной активности кишки при растяжении петли тонкой кишки (симпатический тормозной кишечно-кишечный рефлекс). Введение в полость кишки донора NO нитропруссид натрия, его предшественника L-аргинина и органического нитрата нитроглицерина приводило к ингибированию спонтанной электрической активности гладких мышц тонкой кишки, но не препятствовало реализации тормозного кишечно-кишечного рефлекса. Электростимуляция кишечного нерва на фоне внутрипросветного введения L-NAME (20 мг/мл) не оказывала тормозного действия на потенциалы кишечника. Интратекальное введение γ -аминомасляной кислоты дозозависимо ингибировало тоническую и фазическую активность эфферентных волокон брыжеечного нерва. Действие глицина в ликворе спинного мозга проявлялось в дозозависимом снижении частоты тонической импульсации брыжеечного нерва. Эффект фенильного производного ГАМК – фенибута (РУП Белмедпрепараты, 0,15 и 15 мкг/0,1 мл), введенного под оболочки спинного мозга, заключался в отмене рефлекторно вызванной ноцицептивным стимулом реакции симпатических эфферентных волокон в брыжеечном нерве.

В экспериментах также получены результаты, подтверждающие зависимость активности сенсорных глюкорцепторов эфферентных окончаний блуждающего нерва от наличия глюкозы во внутренней среде организма (крови и ликворе) и существование специфического симптоактивирующего спинального рефлекторного механизма, снижающего уровень активности эфферентных волокон вагуса.

Установлено, что эмоциональный и тепловой стресс, сопровождаемый активацией эфферентного звена симпатической нервной системы, повышая афферентную сигнализацию в иннервирующих двенадцатиперстную кишку волокнах блуждающего нерва и усиление их реакции на действие глюкозы. Получены доказательства того, что уровень текущей афферентной сигнализации в блуждающем нерве, вызываемой активацией глюкорцепторов, обусловлен совместным всасыванием и действием глюкозы и натрия на чувствительные окончания. Ингибирование всасывания сахаров в кишке флоридином (2,5 мг/0,5 мл, внутрипросветно) оказывало тормозное влияние на активность сенсорных хемо- и механорецепторов кишки. Получены свидетельства того, что содержание продукции монооксида азота служит лимитирующим фактором для осуществления хемо- и механорецепции эфферентными окончаниями блуждающего нерва в кишке. Кроме того, выявлено, что тормозные аминокислоты глицин и ГАМК (10 мг/0,5 мл) при их совместном всасывании с глюкозой десенситизируют механо- и хеморецепторы кишки, в то время как глутамат натрия потенцирует действие глюкозы и хлорида натрия на уровне сенсорных рецепторов.

На основании полученных результатов предлагается концепция, согласно которой торможение вегетативного эффекта висцеральной боли может вызываться возбуждением соматических эфферентных проводников кожи, а также использованием препаратов, созданных на основе тормозных аминокислот, например глицина или фенибута.

**Всеукраїнська наукова конференція молодих учених
«Фізіологія: від молекул до організму»
20-21 жовтня 2011 року**

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

Секції:

- Молекулярна та клітинна фізіологія
- Нейрофізіологія
- Фізіологія вісцеральних систем

Голова програмного комітету:

Кришталь О. О. (*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*)

Голова організаційного комітету:

Федоренко Олена (*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*)

Сайт конференції:

<http://physiology.org.ua/conf/young2011>

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА ФІЗІОЛОГІЯ

BIOPHYSICAL MECHANISMS OF HIPPOCALCIN SIGNALING IN DENDRITES OF HIPPOCAMPAL NEURONS

Cherkas V. P.¹, Kononenko N.I.¹, Dovgan A. V.¹, Haynes L. P.², Burgoyne R. D.,² Belan P. V.¹
cherkas@biph.kiev.ua

¹ *O.O.Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv;* ² *University of Liverpool, United Kingdom*

We have shown previously that hippocalcin, a Ca^{2+} -binding protein which is a key mediator of many cellular functions, may decode neuronal activity into hippocalcin translocation in dendrites of hippocampal neurons. In order to better understand hippocalcin signalling properties we have further examined the biophysical mechanisms leading to hippocalcin translocation in dendrites. The neuronal plasma membrane can have suboptical invaginations, such as caveolae, that effectively increase plasma membrane area. Thus, even during uniform hippocalcin insertion in the plasma membrane, such sites would demonstrate an increased amount of translocated hippocalcin compared to plain membrane loci. Co-expressing hippocalcin-ECFP and EYFP-Mem, a fusion protein that nonspecifically targets EYFP to plasma membranes, we tested whether the translocation was spatially correlated with plasma membrane enriched sites. No significant correlation was observed implying higher hippocalcin affinity for translocation sites. We also checked whether translocation sites are associated with sites of higher $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Creating uniform $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients in a dendritic segment, we have shown that hippocalcin translocation was significantly different in neighbouring sites having analogous patterns of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ changes. Producing long-lasting elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by activation of different Ca^{2+} mobilizing mechanisms, we have also demonstrated that hippocalcin translocation was observed in the same set of sites independently of Ca^{2+} source. These results indicate that $[\text{Ca}^{2+}]_i$ is not the only determinant of hippocalcin translocation. Furthermore we have also developed original approaches to quantitatively, separately and simultaneously measure hippocalcin concentration in cytosolic and membrane cellular fractions of single living hippocampal neurons. Based on these approaches we have found that the membranous hippocalcin concentration in dendritic membranes can be increased more than 10 times during long-lasting elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$. We conclude that hippocalcin may serve as a site specific messenger with a high dynamic range allowing precise modulation of its targets.

MODEL MEMBRANE STUDY INTO TOXICITY OF PREFIBRILLAR LYSOZYME AGGREGATES

Kastorna A.P., Trusova V.M., Gorbenko G.P.
anna_kastornaya@ukr.net

V.N. Karazin Kharkiv National University

A number of recent studies confirmed the hypothesis that more than 20 age-related diseases, including Alzheimer's, Parkinson's, diseases and type II diabetes, are associated with the deposition of insoluble protein aggregates in various organs. These protein aggregates, known as amyloid fibrils, were found to be well-ordered fibrous, rich in β -sheets structures. It is widely accepted, that cell membrane disruption induced by amyloid-membrane interactions is an objective cause of cell death. A growing body of evidence has demonstrated that most highly toxic species are the pre-fibrillar aggregates whereas mature fibrils are substantially harmless. Elucidating the primary pathological events is of a great importance for more effective treatment of amyloid-related disorders. The present study has been undertaken to ascertain the effect of oligomeric lysozyme species on the structural properties of the model membranes composed of phosphatidylcholine. To achieve this purpose we used fluorescence spectroscopy technique. Unilamellar lipid vesicles were prepared by the extrusion method. Fluorescence measurements were carried out at 4th and 10th days of the reaction of fibrillization (protein incubation in 80% ethanol under continuous agitation). For evaluating the extent of lipid bilayer modifications the nonpolar fluorescent probe pyrene has been employed. Excited molecules of this probe can interact with non-excited ones thus forming excimers. Excimer-to-monomer fluorescence intensity ratio (E/M)

reflects the extent of pyrene excimerization, which is determined by the frequency of collisions between pyrene moieties in the lipid bilayer and correlates with the lipid packing density. Our data revealed the decrease of E/M value with the growth of aggregated protein concentration. The effect was more pronounced (about 15 %) at the 10th day. The reduction of pyrene excimerization can be explained by the increase of membrane viscosity under influence of pre-fibrillar aggregates of lysozyme. VT gratefully acknowledges a young scientist award by the President of Ukraine (project number GP/F32/109). This work was supported by the grants from the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534) and Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014).

SPINAL CORD PROTEIN KINASE C BLOCKING ATTENUATES NOCICEPTIVE HYPERSENSITIVITY AND INCREASED Ca^{2+} -PERMEABILITY OF AMPARS AT THE SYNAPSES IN DORSAL HORN NEURONS DURING PERSISTENT INFLAMMATION

Sotnyk A., Kopach O., Viatchenko-Karpinski V., Belan P., Voitenko N.

sotnik@biph.kiev.ua

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Previously we have shown that persistent peripheral inflammation changes trafficking of AMPA receptors (AMPArs) at the synapses in dorsal horn neurons. However, the molecular mechanisms underlying these changes are poorly understood. Here, we examined the *in vivo* and *in vitro* effects of protein kinase C (PKC) blocking on thermal hyperalgesia, and AMPAR-mediated synaptic currents in the substantia gelatinosa (SG) neurons of rat spinal dorsal horn. Peripheral inflammation was induced by the subcutaneous injection of 100 μ l of Freund's Complete Adjuvant (CFA) into the hind paw. Thermal sensitivity of rats was determined as paw withdrawal latency (PWL) in Hargreaves' plantar test. A selective blocker of PKC chelerythrine (chelerythrine chloride, 10 μ M) was applied locally to the spinal cord lumbar segments via intrathecal catheter 24 hours after CFA injection. CFA injection produced a development of hyperalgesia on the ipsilateral side of the rats that maintained at least for 4 days (PWL dropped from 11.1 ± 0.6 s to 4.7 ± 0.4 s after 24 hours post-CFA). After 3 hours of treatment with chelerythrine, PWL was significantly increased to 10.0 ± 0.8 s ($n = 9$; $p < 0.001$), that was similar to the control value. At the same time, chelerythrine did not produce any side effect on thermal sensitivity of rats (PWL was 11.9 ± 0.7 s at 3 h after Chy injection). Testing *in vitro* effect of PKC inhibition, we found that AMPAR-mediated evoked post-synaptic currents (EPSCs) show the significant inward rectification after peripheral inflammation, which reflects increase in Ca^{2+} -permeability of AMPARs. To quantitatively measure rectification of EPSCs, we calculated a rectification index (RI) that was expressed as a ratio of EPSC amplitudes at +40 and -70 mV holding potentials. CFA-induced inflammation was accompanied by the noticeable decrease of RI from 0.26 ± 0.01 ($n=16$) to 0.19 ± 0.02 ($n=7$) in SG neurons 24 h after CFA injection. Treatment with chelerythrine led to increase in RI, bringing it back to the normal level of 0.26 ± 0.02 ($n=8$). Thus, inhibition of spinal cord PKC significantly attenuates the peripheral inflammatory pain as well as the changes in Ca^{2+} -permeability of AMPARs, proving the important role of PKC in the inflammatory pain.

NOVEL AMINO BENZANTHRONE FLUORESCENT DYES FOR MONITORING AMYLOID FIBRILS IN VITRO

Vus K. O., Trusova V. M., Gorbenko G. P., Kirilova E., Kirilov G., Kalnina I.

katenka.vus@mail.ru

V.N. Karazin Kharkiv National University, Daugavplis University

The past decade has seen significant upsurge of interest in amyloid fibrils structure and properties that is essential for understanding their cytotoxicity. Of great importance in this regard is the design of new fluorescent dyes which can selectively interact with fibrillar amyloidogenic proteins. In the present study we ascertained the ability of recently synthesized aminobenzanthrones IA_H, IB_H, IS_H to associate with the early precursors of fibrillar hen egg white lysozyme, which play crucial role in amyloid cytotoxicity. Fluorimetric titration of the probes with lysozyme oligomers (O) withdrawn at the 8th day of protein agitation in 80% EtOH was used to evaluate the binding affinities of the novel dyes for these pathological entities, which were found to be similar to those for native (N) and denatured protein (D, incubated in 80% EtOH without agitation). The quantum yields (Q) of the IB_H and IS_H bound to D were

2 and 3 times higher compared to O-bound probes, respectively, and IAH dye showed the same Q values in the presence of O and D. Likewise, quantum yield of the O- and D-bound probes were ~10 times higher than those for N-bound fluorophores, indicating that aminobenzanthrones poorly interact with the monomeric protein. Moreover, the relative intensity increases of the O- and D-bound dyes compared to their molar fluorescences in buffer turned out to be ~2-3 times higher than those for N-bound probes, and their fluorescence intensity increase in the presence of O and D was more pronounced compared to that in N. Together, the obtained data indicate that due to high affinity (~1-10 μM) and quantum yield increase of the aminobenzanthrones in presence of lysozyme oligomers, novel dyes, especially the IBH, displaying the highest values of the above parameters, have a potential to be used for in vitro monitoring of pre-fibrillar aggregates. Similar to promising amyloid marker IAH, IBH and ISH display weak binding to native lysozyme. VT gratefully acknowledges a young scientist award by the President of Ukraine (project number GP/F32/109). This work was supported by the grants from the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534) and Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014).

LYSOZYME-MEMBRANE INTERACTIONS STUDIED WITH A NEW FLUORESCENT DYE

Zhytniakivska ¹ I.A., Kutsenko ¹ O.E., Trusova ¹ V.I., Gorbenko¹ G.P., Kirilova ² E.M.
 olya_zhitniakiska@yahoo.com

¹ V.N. Karazin Kharkiv National University, ² Daugavpils University

Lysozyme is a hydrolytic enzyme, which plays an important role in various physiological processes. Lipid-binding properties of lysozyme are hypothesized to be essential for its biological functions including antimicrobial, antitumor, and immunomodulatory activities. The present study was focused on examining the lysozyme interaction with model membranes, composed of phosphatidylcholine (PC) and its mixtures with cardiolipin (CL) and cholesterol (Chol). For this purpose a newly synthesized dye, referred to here as IAH, was employed. First of all we evaluated the lipophilic properties of IAH and its sensitivity to the membrane environment. At the second step of the study we characterized IAH-lipid interaction by determining the dye partition coefficient for different lipid systems. It was shown that Chol and CL addition to PC membranes resulted in the increase of fluorescence quantum yield and partition coefficient relative to the neat PC membrane, which can be explained in terms of structural differences between liposomes. At the last step of the study we examined the lipid-binding properties of lysozyme. For this purpose we used fluorescence anisotropy measurements for different model membranes. Analysis of the recovered anisotropy values shows that incorporation of the lysozyme into CL-containing bilayers brings about the increase of IAH fluorescence anisotropy, relatively to neat PC membrane. This effect can be explained by the increase on packing density of lipid headgroups after lysozyme additions, the hydrophobic interactions of the protein with the acyl chains of lipid molecules and self-association of bilayer-embedded protein molecules. To summarize, the present study revealed that the IAH dye displays high lipid-associating ability and pronounced sensitivity to lysozyme-lipid interactions. Lysozyme ability to increase membrane rigidity upon binding to anionic lipids may be relevant to its biological activities. This work was supported by the grants from European Social Fund (project number 2009/0205/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/152), the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534), Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014) and young scientist award by the President of Ukraine to VT (project number GP/F32/109).

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НА СИСТЕМУ АКТИВНОГО ТРАНСПОРТУ ЗАРОДКОВИХ КЛІТИН

Бура М.В., Мандзинець М.В., Яремкевич О.С. ¹
 mcelevych@yahoo.com

Львівський національний університет імені Івана Франка, ¹Національний університет "Львівська Політехніка"

Процеси взаємодії електромагнітного поля (ЕМП) з живою клітиною або цілим організмом, зокрема із зародком, надзвичайно складні і нині недостатньо вивчені. Метою нашої роботи було дослідження впливу ЕМП на ферментативну активність системи первинно-активного транспорту Na^+ та

K^+ зародків *Misgurnus fossilis* L. упродовж раннього ембріогенезу в умовах *in vivo*. Проби відбирали на стадіях 2, 16 та 64 бластомерів, 8 та 10 поділів. Електромагнітну обробку зародків проводили за допомогою генератора ЕМП відразу після запліднення. Інкубовані в розчині Гольтфретера зародки поміщали в центрі соленоїда і 15 хв опромінювали ЕМП (частота 27,14 МГц). Оптимальні умови підбирали експериментально. Активність Na^+ , K^+ -АТФази зародків визначали модифікованим методом Фіске–Суббароу, вміст білка у пробі – методом Лоурі. У результаті проведених досліджень встановлено, що ЕМП достовірно знижувало активність Na^+ , K^+ -АТФази у порівнянні з контролем. Особливо в першу годину розвитку цей показник знизився на $19,3\% \pm 0,9\%$ ($P < 0,05$). Імовірно такі зміни пов'язані з дуже низькою чутливістю зародків до впливу екзогенних факторів на ранніх етапах бластуляції. На наступних етапах поділів встановлено виражене зниження активності АТФази за дії ЕМП у порівнянні з контролем у середньому на $53,6\%$ ($P < 0,001$). Найбільш чутливість зародків до дії ЕМП виявлено на стадії 8 поділу бластомерів – на пізніх етапах бластуляції. Девятков Н.Д. виявив зниження іонної проникності мембран еритроцитів, збільшеної в результаті електричного пробою, а також збільшення електричної міцності еритроцитів при дії ЕМП. Можливо, електромагнітне випромінювання нетеплових інтенсивностей здатне індукувати структурну перебудову в мембранах, чим можна пояснити і зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків. Крім цього, ЕМП впливає на окиснення SH-груп, з якими пов'язані більшість біологічних процесів: проникність клітинних мембран, функції рецепторів, активність ферментів, синтез біомакромолекул і ліпопротеїнових комплексів, а також клітинний поділ, порушення останнього відмічено в експериментах.

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ НОВОГО ПРОТОТИПУ АНТАГОНІСТА ASIC 1A З ЙОГО РЕЦЕПТОРОМ

Бута А.З.¹, Сукач В.А.², Максимюк О.П.¹, Ковальський Д.Б.³, Вовк М.В.², Кришталь О.О.¹
buta@deptcm.kiev.ua

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, ²Інститут органічної хімії НАН України, Київ, ³Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

pH-чутливі іонні канали (ASICs) – рецептори до протонів тканинного середовища. За останніми науковими даними, окремі їх типи, що експресуються у мозку, задіяні у розвитку багатьох важких захворювань нервової системи: ішемічний інсульт, розсіяний склероз, епілепсія тощо. Рецептор ASIC 1a, один з шести ідентифікованих типів, що експресується у різних відділах головного мозку людини. Він здатен у гомомерній формі пропускати іони кальцію у цитозоль нейронів. Надмірний вхід кальцію, що спостерігається під час розвитку ішемічного ацидозу, призводить до загибелі нейронів. Пошук селективних і високоефективних антагоністів до ASIC 1a-рецептора є нині однією з ключових проблем у лікуванні таких важких недуг. Із застосуванням методу фіксації patch-clamp потенціалу у конфігурації відведення струму від цілої клітини ми показуємо особливості взаємодії розробленого нами прототипу селективного та високоефективного антагоніста ASIC 1a каналу з його рецептором на мембрані лінії клітин НЕК-293, що ендогенно експресують гомотример цього каналу. Похідна речовина 3-карбоксамідинокумарину (#005) оборотно зв'язується з рецептором ASIC 1a, зменшуючи амплітуду струму опосередкованого цим каналом. Ефективність взаємодії антагоніста з рецептором залежить від pH. Ефективність інгібування значно зростає у напрямку менш кислих значень pH. Концентрація половинного пригнічення амплітуди струму (IC50) при pH 5,0 становить 7 мкмоль/л, тоді як при pH 6,7 – лише 27 нмоль/л. До того ж це інгібування не залежить від підтримуваного потенціалу мембрани, що є дуже важливим для тривалого інгібування активності цих каналів в умовах ішемічного ацидозу, особливо у перші години розвитку недуги. Відомий неселективний блокатор ASICs – амilorид подібного pH-залежного блокування не виявляє, проте його активність демонструє чітко виражену потенціалзалежність. Крім того, новий тип антагоніста #005 сповільнює кінетику активації ASIC 1a-опосередкованого струму, причому залежно від pH. Стала часу (τ) кінетики активації протоніндукованого струму за наявності речовини #005 сповільнюється у напрямку зростання значення pH і сягає максимуму при pH 6,4, τ кінетики активації ASIC 1a струму за наявності 100 нмоль #005 при pH 5,0 сповільнюється лише в 1,6 раза, тоді як при pH 6,4 – у 4 рази.

ВПЛИВ ІОНІВ ЦИНКУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СКОРОТЛИВИХ БІЛКІВ СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА**Гавриляк В. Б., Богуцька К. І.****biophys@univ.kiev.ua***Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Проблема регуляції функціональної активності м'язів і каталітичних механізмів забезпечення цього процесу завжди була і залишається актуальною для фізіології, біофізики, біохімії та фармакології м'язів. Важливим у цьому контексті є вивчення впливу фізико-хімічних чинників середовища на функціональні характеристики скоротливих білків міокарда. Крім того, отримання нових експериментальних результатів з біологічної дії іонів металів на організм з точки зору молекулярних механізмів такої дії на субклітинному рівні сприятиме розробці методів підвищення стійкості організму до дії шкідливих факторів та терапії інтоксикацій, викликаних сполуками металів. Є дані про порушення обміну цинку за різних патологічних станів, у тому числі при атеросклерозі, інфаркті міокарда тощо. Також при дослідженні вмісту мікроелементів у різних ділянках лівого шлуночка хворих на ішемічну хворобу серця методом рентгенофлуоресцентного аналізу був виявлений дисбаланс мікроелементів, зокрема різко підвищений вміст цинку. Отже, метою цієї роботи було дослідження впливу іонів цинку на процеси, які моделюють молекулярний механізм скорочення м'язів, а саме реакцію суперпреципітації (СПП) актоміозинового комплексу, а також АТФ-гідролазну реакцію, що каталізується міозином. У роботі використовували методи препаративної білкової хімії, хроматографії та оптичної спектроскопії. Показано, що у діапазоні концентрацій 0,1-5 ммоль/л іони цинку пригнічують залежну реакцію суперпреципітації актоміозину та Ca^{2+} -АТФазу активність міозину серцевого м'яза. Проведені дослідження ефектів впливу іонів цинку на перебіг реакції СПП актоміозину та АТФазу активність міозину серцевого м'яза засвідчили, що Zn^{2+} , вірогідно, здатен (1) заміщати іони кальцію або магнію, хоча таке заміщення менш ефективне для реалізації СПП та АТФ-гідролазного процесу, та (2) модулювати актинміозинову взаємодію, змінюючи функціональні характеристики актоміозинових макромолекул м'яза. У роботі проведено порівняння оригінальних результатів з відомими даними щодо впливу інших двовалентних іонів – стронцію та кадмію – на вищезгадані процеси. Отримані результати розширюють існуючі уявлення щодо впливу фізико-хімічних чинників середовища, а також вказують шляхи можливого використання іонів цинку у регуляції функціональної активності м'язів.

ОКИСНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ**Дворщенко К.О., Сенін С.А., Берник О.О., Остапченко Л.І.
k21037@gmail.com***Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Значне місце серед хвороб травної системи займають гіпоацидні стани, які виникають внаслідок порушення секреції соляної кислоти парієтальними клітинами шлунка. Тривала гіпохлоргідрія призводить до атрофії та метаплазії слизової оболонки шлунка. Неспецифічною ланкою пошкодження тканин є порушення окисно-антиоксидантного балансу, показники якого можуть бути використані як допоміжні маркери розвитку патологічного процесу. Тому метою нашої роботи було дослідити окисно-антиоксидантний баланс у слизовій оболонці шлунка щурів за умов тривалого пригнічення секреції соляної кислоти. Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпоацидний стан моделювали внутрішньоочеревним введенням 14 мг/кг омепразолу («Sigma», США) раз на добу протягом 28 діб. Як контроль використовували щурів, яким протягом цього часу вводили внутрішньоочеревинно 0,2 мл води для ін'єкцій. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ – флуориметричним методом, вміст ТБК-активних сполук – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Активність супероксиддисмутази оцінювали за використанням нітросинього тетразолію, каталази – за зменшенням кількості H_2O_2 у розчині після інкубації за оптимальних умов. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента. Встановлено, що за умов тривалого пригнічення шлункової секреції соляної кислоти омепразолом у слизовій оболонці шлунка щурів вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів збільшувався: дієнових кон'югатів – в 3,5 раза, ТБК-активних сполук – в 4,6 раза та шиффових

основ – 3,1 раза відносно контрольних значень. При оцінці антиоксидантної системи у слизовій оболонці шлунка щурів з тривалою гіпохлоргідрією зафіксовано зростання активності супероксидмутази та каталази в 5,5 та 1,3 раза відповідно порівняно з контролем. Отримані результати свідчать, що за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії у епітеліоцитах шлунка порушується окисно-антиоксидантна рівновага: посилюється продукція активних форм кисню, про що вказують зміни супероксиддисмутази та каталазної активностей та накопичення продуктів ліпідної пероксидації.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ІМУННИЙ ГЕСТОЗ У МИШЕЙ: РОЛЬ NO У СПОНТАННІЙ СКОРОТЛИВІЙ АКТИВНОСТІ МІОМЕТРІЯ

Калейнікова О.М.

syana_ds@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Протягом останнього десятиліття інтенсивно вивчають потенційні механізми, що лежать в основі патогенезу імунного гестозу. Зокрема виробництво плацентою різноманітних факторів, що змінюють вміст реактивних форм кисню: супероксидного та гідроксильного радикалів та оксиду азоту (NO). Тоді як роль останнього у регулюванні спонтанної скоротливої активності міометрія залишається суперечливою. Метою нашої роботи стало дослідження ролі NO у скоротливій активності міометрія миші при моделюванні імунного гестозу. Дослідження проведені на самицях мишей лінії СВА (8 тиж, 16-18 г, n=52). Моделювання імунного гестозу здійснювали імунізацією тварин тканиною алогенного яєчника. Одночасно *in vivo* вводили неспецифічний блокатор NO-синтази (L – NAME), специфічний блокатор індукцибельної NO-синтази (AG) та аргінази (L-Norvaline). Силу ізометричних скорочень вимірювали механо-електричним перетворювачем. Метод фазно-графічного аналізу використовували для оцінки фазних скорочень. Досліджувані показники: амплітуда скорочення, максимальна швидкість скорочення та розслаблення та індекс скоротливості (IC). Для статистичної обробки результатів використовували пакет програм Origin 8Pro та електронні таблиці «Microsoft®Excel2003». Достовірність різниці середніх значень визначали за критерієм t Стьюдента, достовірними вважали значення $P < 0,05$. Встановлено, що IC міометрія миші в групі тварин із імунним гестозом зростає на кінець імунізації відносно контрольних значень (інтактних тварин). У групі тварин із імунним гестозом та L – NAME IC міометрія зменшується на кінець імунізації та підвищується ($P < 0,001$) на 12-ту добу після імунізації. У групах тварин із імунним гестозом і L-Norvaline та імунним гестозом і AG цей показник зростає на кінець імунізації та зменшується на 12-ту добу після неї, при цьому в останній групі спостерігали вагітних тварин. Отримані результати свідчать про участь оксиду азоту в регуляторних механізмах процесів репродукції та формування скоротливої активності міоцитів матки, причому особливу роль у патогенезі імунного гестозу відіграє індукцибельна NO-синтаза.

ЗАЛЕЖНІСТЬ АТФАЗНИХ АКТИВНОСТЕЙ ІЗОЛЬОВАНИХ ПЕРМЕАБІЛІЗОВАНИХ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН ЗОВНІШНЬООРБІТАЛЬНОЇ СЛІЗНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ Ca^{2+} У СЕРЕДОВИЩІ

Котлярова А.Б., Малоїд М.П., Манько В.В.

annkotliarova@gmail.com

Львівський національний університет імені Івана Франка

Для експериментального обґрунтування методу дослідження функціонування іонтранспортувальних систем секреторних клітин *in situ* встановлено залежність АТФазних активностей від концентрації Ca^{2+} у середовищі. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях масою 200–300 г. Секреторні клітини зовнішньоорбітальної слізної залози ізолювали дворазовою почерговою інкубацією у позаклітинному середовищі, що містить суміш колагенази та лідази, і середовищі, до складу якого входить ЕГТА (2 ммоль/л). Пермеабілізацію клітин проводили їх інкубацією з дигітоніном (30 мкг/мл, 10 хв) у середовищі, наблизеному за складом до внутрішньоклітинного. Для блокування Na^+K^+ -помпи до середовища додавали строфантин К (100 мкмоль/л), а для блокування дихального ланцюга – азид натрію (10 ммоль/л). Як блокатор Ca^{2+} -помп плазматичної мембрани та ендоплазматичного ретикулула використовували еозин Y (20 мкмоль/л). АТФазну реакцію запускали додаванням до середовища інкубації клітин АТФ (3 ммоль/л). Концентрацію неорганічного

фосфору у середовищі визначали спектрофотометричним методом (УФ-детекція фосфомолібдатного комплексу). Підрахунок кількості клітин здійснювали за допомогою камери Горяєва. Встановлено, що сумарна строфантин-К-нечутлива АТФазна активність пермеабілізованих секреторних клітин помірно залежить від концентрації Ca^{2+} у середовищі із вираженим максимумом за 10^{-6} моль/л і деяким зниженням за 10^{-4} моль/л. Аналогічна закономірність притаманна також для сумарної строфантин-К- і еозин-У-нечутливої АТФазної активності, яка пов'язана, очевидно, із синтетичними та іншими секреторними процесами у клітинах. На відміну від цього, залежність еозин-У-чутливої Ca^{2+} -АТФазної активності від концентрації Ca^{2+} більш суттєво виражена, хоча максимум теж спостерігається за 10^{-6} моль/л Ca^{2+} у середовищі. Наведені результати дають змогу стверджувати про адекватність запропонованого методу дослідження Ca^{2+} -АТФазної активності секреторних клітин в умовах *in situ*.

АКТИВАЦІЯ АТФ-ЧУТЛИВОГО КАЛІЄВОГО КАНАЛУ МІТОХОНДРІЙ МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Мазур Ю. Ю.

yuliya.vorona@gmail.com

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, Київ

Відомо, що активні форми кисню (АФК) мають подвійну роль у клітині: з одного боку вони спричиняють ушкодження клітинних структур, з іншого є клітинними месенджерами, які захищають клітини в умовах оксидативного стресу. Протекторну роль також відіграють мітохондріальні АТФ-чутливі калієві канали (міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$), що показано на клітинах мозку та кардіоміоцитах. На основі цих даних зроблено припущення, що АФК регулюють роботу каналу в клітинах міометрія. Тому метою роботи стало дослідження впливу АФК на функціонування міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ у клітинах міометрія. Оксидативний стрес індукували ротеноном. Збільшення продукції АФК у відповідь на додавання ротенону спостерігали за допомогою АФК-чутливого флуоресцентного зонду дихлорфлуоресцеїн діацетату. Активацію каналу досліджували реєструючи зміну мембранного потенціалу мітохондрій за допомогою потенціалчутливого зонду $\text{DiOC}_6(3)$ у відповідь на додавання активатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксиду. При внесенні діазоксиду (50 мкмоль/л) спостерігалася часткова деполяризація мембрани мітохондрій міометрія, яка усувалася за наявності блокатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ глібенкламід. Таким чином, спричинені діазоксидом та чутливі до глібенкламід змни потенціалу мітохондріальної мембрани міометрія опосередковані активацією міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$. Дія діазоксиду на мембранний потенціал мітохондрій була концентраційнозалежною у діапазоні концентрацій 0,5-50 мкмоль/л. Уявна константа спорідненості діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ ($\langle K_{1/2} \rangle_p$) за наявності ротенону становила $(1,24 \pm 0,21) \cdot 10^{-6}$ моль/л. Діазоксид також деполяризував мітохондріальну мембрану в умовах нормоксії, але $\langle K_{1/2} \rangle$ у цьому разі була більшою і становила $(5,01 \pm 1,47) \cdot 10^{-6}$ моль/л. Тобто в умовах оксидативного стресу константа спорідненості діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ міометрія є у 4 рази меншою, ніж в умовах нормоксії. Окрім того, скавенджер АФК N-ацетилцистеїн (1 ммоль/л) попереджав деполяризацію діазоксидом мітохондріальної мембрани. Тобто усунення АФК при внесенні N-ацетилцистеїну зменшувало активацію міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксидом. Таким чином, зростання спорідненості активатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ міометрія щурів в умовах суперпродукції АФК, а також інактивація каналу за наявності N-ацетилцистеїну свідчать на користь нашої гіпотези про те, що АФК регулюють активність міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ у клітинах міометрія за умов оксидативного стресу.

АНАЛІЗ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ПРЕПАРАТУ ВІЛОЗЕНУ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА КАЛЬЦІЄВУ СИГНАЛЬНУ СИСТЕМУ КЛІТИН ЛІНІЇ JURKAT IN VITRO

Морєв Р. М., Якубовський Ю. О., Шуба Я. М.

moriev.r.m@gmail.com

Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ;

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

Інститут біохімії ім.О.В.Палладіна НАН України, Київ

Вілозен – низькомолекулярний препарат тимуса, який має імуномодулюючі, протиалергічні властивості. Нині не досліджені молекулярні механізми дії вілозену, точно не встановлений його склад та біологічно активні компоненти. Нами було досліджено зразки вілозену виробництва фармацевтич-

ної компанії «Біофарма». Препарат був фракціонований за допомогою високоефективної рідинної хроматографії на оберненій фазі. Отримані фракції були проаналізовані за допомогою методу тандемною рідинної мас-спектрометрії та тонкошарової хроматографії. Був визначений вміст амінокислот і пептидів препарату за допомогою високоефективної рідинної іонообмінної хроматографії та отриманий його інфрачервоний спектр. Для дослідження впливу вілозену на кальцієву сигнальну систему лімфоцитів було використано іморталізовані лейкозні Т-лімфоцити людини (лінії Jurkat). Аналіз хімічного складу вілозену підтвердив те, що він складається зі сполук із молекулярною масою близько 1 кДа. Показано, що вміст пептидів не перевищує 5%, а основні компоненти, ймовірно, містять у своїй структурі залишки пуринових і піримідинових основ і не мають амінокислотних залишків. Препарат вілозен викликав вивільнення іонів кальцію із внутрішньоклітинних кальцієвих депо та депозалежний вхід кальцію із зовнішньоклітинного середовища подібно до конконоваліну А в моделі культури клітин Jurkat in vitro. Препарат викликав кальцієві сигнали тільки після попередньої стимуляції конконоваліном.

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ КАНАЛІВ ВЕЛИКОЇ ПРОВІДНОСТІ В НЕЙРОНАХ ПУРКІНЬЄ МОЗОЧКА ЩУРА

Семенова О.В., Федоренко О.А., Марченко С.М.

lesj@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Зовнішня та внутрішня ядерні мембрани поділяють клітинний простір на нукле-, пери- та цитоплазматичний. Через складність отримання та очищення внутрішньої мембрани ядер відносно мало відомо про іонні трансмембранні канали, що пропускають катіони та аніони між люменом і внутрішньоядерним простором. Припускають, що канали ядерної оболонки беруть участь у регуляції транскрипції генів і проведенні кальцієвого сигналу з люменарного простору, який відіграє роль кальцієвого депо. З використанням методу patch-clamp нами було досліджено вірогідність впливу наповненого кальцієм ядерної мембрани на активність катіонних каналів великої провідності. Для цього ми дослідили активність каналів при відсутності кальцію з боку люменарного простору (EDTA, 1 ммоль/л) та за умов високої концентрації кальцію в депо (1 ммоль/л). Незрозуміло який потенціал може бути в мембрані ядра, але недавні дослідження показали, що він коливається в межах 40 мВ. За умов відсутності Ca^{2+} з боку люменарного простору вірогідність відкритого стану каналу на внутрішній ядерній мембрані, $P_o = 0,15 \pm 0,01$, при потенціалі -40 мВ. При високій концентрації іонів кальцію активність катіонних каналів великої провідності помітно не змінювалася, $P_o = 0,23 \pm 0,04$. Отримані результати свідчать про те, що ступінь наповнення кальцієвого депо істотно не впливає на активність катіонних каналів високої провідності внутрішньоядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щура.

ОДЕРЖАННЯ АНТИТІЛ ДО КРИНГЛУ 1-3 ПЛАЗМІНОГЕНУ (АНГІОСТАТИНУ) ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ БІОМЕДИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ

Тихомиров А.О., Юсова О.І., Корса В.В., Діордієва С.І.

artem_tykhomyrov@ukr.net

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ

Однією з важливих передумов прогресії солідних пухлин та їх метастазування є патологічний ангиогенез. Встановлено, що найбільш потужними фізіологічними інгібіторами ангиогенезу є ангиостатини (АС). АС – поліпептиди, що утворюються у первинних пухлинних осередках в результаті обмеженого протеолізу молекули плазміногену (ПГ) та складаються з різної кількості його кринглових доменів. Розробка методів кількісного аналізу АС як маркерів прогресії пухлин та ризику метастазування є важливим науково-практичним завданням. Метою нашої роботи було отримання і характеристика моноспецифічних антитіл до фрагменту ПГ кринглу 1-3 (К1-3) людини для виявлення АС як діагностичних маркерів неопластичних процесів. Крингл 1-3 одержували з еластазного гідролізату ПГ гель-фільтрацією на сефадексі G-75 і афінною хроматографією на Lys-сефарозі та імунізували ним кролів. Пул специфічних IgG виділяли з імуноглобулінової фракції сироватки імунізованих тварин на афінному сорбенті K1-3-сефарозі. Імуноферментним аналізом визначили титр антитіл ($\approx 1:650000$). Антитіла демонстрували перехресну реактивність до гомологічних антигенів у такому

порядку: $\text{Glu-ПГ} \geq \text{Lys-ПГ} \geq \text{K1-3} > \text{міні-ПГ} > \text{K4}$. Таким чином, отримані високоспецифічні анти-тіла можуть бути використані в імунохімічному аналізі, зокрема імуноблотингу, для виявлення АС у біологічному матеріалі, а також застосовані при дослідженні ролі компонентів плазміноген/плазмінової системи у сигнальних механізмах, що лежать в основі таких фізіологічних процесів, як запалення, ремоделювання тканин, загоєння ран, проростання аксонів.

ВПЛИВ ПРОТИПУХЛИННОГО, ПРОТИВІРУСНОГО ТА ІМУНОМОДУЛЮЮЧОГО ПРЕПАРАТУ АМІТОЗИНУ НА КАЛЬЦІЄВУ СИГНАЛЬНУ СИСТЕМУ ТИМОЦИТІВ ЩУРА

Трембицька К. Є., Морєв Р. М., Шуба Я. М.

morev.r.m@gmail.com

Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ

Амітозин – протипухлинний, імуномодулюючий і противірусний препарат у медицині і ветеринарії, розроблений в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, продукт алкілування тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого *Chelidonium majus L.* Він – ефективний протиревматичний та противірусний препарат із широким спектром протипухлинної дії. На відміну від традиційних хіміотерапевтичних препаратів амітозин стимулює імунну систему. Цим може бути пояснена його протиревматична, противірусна і частково протипухлинна активність. Не досліджено, яким чином амітозин впливає на кальцієву сигнальну систему лімфоцитів, яка відіграє критичну роль в їх активації. Для дослідження впливу амітозину на кальцієву сигнальну систему *in vitro* було обрано тимоцити щура. Щоб визначити концентрацію іонів кальцію в цитозолі застосовували раціометричну флуоресцентну мікроскопію з кальцієвим зондом Fura-2 АМ. Внесення 10 мкг/мл амітозину викликало достовірне підвищення концентрації цитозольного кальцію на 65–100 нмоль/л з виходом на стаціонарний рівень. Процес підвищення починався при його внесенні в середовище з 2 ммоль/л іонів кальцію, чого не спостерігалося в безкальцієвому середовищі. Попереднє спустошення депо іонів кальцію 10 мкмоль/л тапсигаргіну не блокувало це явище. Отримані нами експериментальні результати свідчать про те, що амітозин викликає помірне збільшення проникності плазматичної мембрани до іонів кальцію і цей процес зумовлений механізмами незалежними від кальцієвого депо і активації кальцієвим сенсором STIM. Нещодавні дослідження показали, що паралельно з депозалежними механізмами активації входу кальцію в цитозоль у лімфоцитах важливий внесок роблять також іонні канали, які не активуються через білок STIM і тому є депонезалежними. За літературними даними до цих каналів, імовірно, належать TRPC3, TRPV6, TRPM7, потенціалкеро-вані канали L-типу, які експресуються на плазматичній мембрані Т-лімфоцитів. Наші експериментальні результати можуть бути пояснені активацією цих каналів.

НЕЙРОНИ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ ГІПОКАМПА ВІДРІЗНЯЮТЬСЯ ЗА НАБОРАМИ ІОННИХ КАНАЛІВ У МЕМБРАНАХ ЯДЕРНОЇ ОБОЛОНКИ

Федоренко О.А., Марченко С.М.

olena.fedorenko@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Нейрони гіпокампа відіграють важливу роль у формуванні пам'яті та навчанні. Було показано, що активація факторів транскрипції та синтез певних протеїнів, які беруть участь у синаптичній пластичності, потребують підвищення вмісту Ca^{2+} в ядрі цих нейронів. Проте досі невідомо якими механізмами регулюється надходження Ca^{2+} всередину ядра. У своїй роботі ми з'ясували які типи іонних каналів знаходяться у мембранах ядерних оболонок нейронів різних відділів гіпокампа, зокрема CA1- та CA3-ділянках і зубчастої звивини. Струми через поодинокі іонні канали реєстрували з використанням методу patch-clamp у конфігурації “nucleus-attached” або “excised patches” у режимі фіксації потенціалу. Виявилось, що нейрони різних відділів гіпокампа містять неоднакові набори іонних каналів як у зовнішній, так і у внутрішній ядерних мембранах. Іонні канали, які ми знайшли, розрізнялися за своєю селективністю, провідністю та характером роботи. Ми виявили у великій кількості інозитолтрифосфатні рецептори (IP_3Rs) у внутрішній ядерній мембрані пірамідальних нейронів CA1-ділянки гіпокампа та у значно меншому числі у внутрішній ядерній мембрані нейронів зубчастої звивини, проте в нейронах CA3-ділянки поодинокі IP_3Rs знаходилися лише у

зовнішній ядерній мембрані. Нам не вдалося зареєструвати будь-які інші типи кальцієвих каналів у мембранах ядер цих клітин, тому можна припустити, що ріанодинові та NAADP-рецептори відсутні на ядерній оболонці нейронів гіпокампа, або ж їх щільність настільки мала, що вони не можуть бути зареєстровані електрофізіологічними методами. Отже, наші дослідження вказують на те, що ядерна оболонка пірамідальних нейронів CA1-ділянки та нейронів зубчастої звивини гіпокампа може виконувати функцію кальцієвого депо, з якого через IP_3Rs Ca^{2+} вивільнюється всередину ядра, і таким чином може активувати кальційзалежні фактори транскрипції в цих нейронах.

**АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ МРНК ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИНИ α
В ПОДИНОКИХ ООЦИТАХ МИШЕЙ В НОРМІ
ТА В УМОВАХ АУТОІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ**

Шепель О.А., Досенко В.Є., Янчій Р.І.

elena-shepel@ukr.net

Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України, Київ

Фактор некрозу пухлини α (ФНП- α) – поліфункціональний цитокін, роль якого в оваріальній функції активно вивчається. Встановлено, що ооцити є важливим його джерелом, крім того, виявлено рецептори для ФНП- α на ооцитах, гранулярних і інтерстиціальних клітинах, що забезпечує ауто- і паракринні ефекти цього цитокіну. Метою нашої роботи було визначення експресії ФНП- α та його рецепторів I і II типу на рівні мРНК в поодиноких ооцитах мишей лінії CBA на двох стадіях оогенезу (стадія зародкового пухирця (ЗП+) і стадія формування першого полярного тільця (ПТ+)) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Нами встановлено експресію мРНК ФНП- α в поодиноких ооцитах інтактних мишей, причому її рівень на стадії ЗП+ вірогідно вищий, ніж на стадії ПТ+. Водночас нами не виявлено експресію рецепторів I і II типу для ФНП- α . Встановлено, що при аутоімунному ураженні яєчників в ооцитах мишей збільшується експресія гена ФНП- α у 1,7 раза порівняно з такою в ооцитах, отриманих від неімунізованих тварин. В умовах імунізації виявлено також експресію гена рецептора ФНО- α I типу. Таким чином, нами встановлено, що пригнічення мейотичного дозрівання ооцитів, яке спостерігається в умовах аутоімунного ушкодження яєчників, може бути пов'язане зі зростанням експресії ФНП- α в ооцитах та активацією експресії мРНК рецепторів I типу для цього цитокіну. На наш погляд, отримані результати є важливою ланкою у розумінні молекулярних механізмів, що регулюють мейотичне дозрівання ооцитів ссавців у нормі та при аутоімунному ушкодженні яєчників.

НЕЙРОФІЗІОЛОГІЯ

T-TYPE CALCIUM CHANNELS IN BRAIN CORTEX – NOVEL FUNCTION?

Boldyriev O., Batiuk M., Shuba Y.

alexey@biph.kiev.ua

International Center for Molecular Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Low-voltage activated (T-type, Ca_{v3}) calcium channels are widely expressed throughout mammalian organism – from central neurons to spermatozoons. They act as calcium input into the cell and are involved in many physiological processes such as pacemaker neural and cardiac activity, vesicle secretion, muscle contraction, gene expression regulation etc. Despite a lot of information was gathered about T-type channels localization and function there are still cells and tissues where their high mRNA level was found without any electrophysiological evidence (for example, human cardiomyocytes and rat cortical neurons. While studying T-channels involvement in absence-epileptic phenotype of WAG/Rij rat strain we discover 2,5-fold upregulation of $Ca_{v3.1}$ $\alpha 1$ -subunit mRNA in somatosensory cortex of upper lip (possible “cortical focus”) of this strain compared to control Wistar rats. The level of mRNA was comparative to one in laterodorsal thalamic nucleus which shows robust T-type current, We examined neurons of this region with patch-clamp technique but showed no T-type calcium currents (n=15). Membrane protein was extracted from somatosensory “cortical focus” and Western blotting analysis showed detectable level of $Ca_{v3.1}$ protein with increasing of protein density for more than 50% in WAG/Rij rats. We hypothesize possible unknown T-type channel function in neuron cytoplasm. More accurate experiments of subcellular protein localization should be done to test this hypothesis.

DIVERSE EFFECT OF POLYSIALYLATION ON NEURONAL PLASTICITY IN RAT HIPPOCAMPUS

Savrasova A., Isaev D., Isaeva O.

savrasova10@gmail.com

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Polysialic acids (PSA) are widely distributed in neuronal tissue. Due to their external position on the outer cell membranes and anionic nature, PSA are involved in a multiple cell signaling events. The level of sialylation is regulated by endogenous neuraminidase (NEU). Using the specific blocker of NEU – NADNA we show that downregulation of NEU activity causes a significant increase in the level of hippocampal tissue sialylation. In our previous report we showed that polysialylation of membrane surface affect neuronal excitability by increasing the probability of inducing seizures and aggravating hippocampal seizures *in vivo*; enhancing neuronal synchronization and inducing population burst events of rat hippocampal CA3. In the present work we investigated effect of blockage of endogenous NEU on synaptic plasticity in different regions of hippocampus and on E-S (EPSP-spike) coupling. Temporal lobe slices were prepared from Wistar rats aged postnatal day 19-21. Evoked synaptic responses were elicited through a bipolar electrode placed in the Schaffer collateral-commissural pathway. Extracellular recordings were obtained simultaneously from pyramidal cell layer and stratum radiatum CA1 regions. We examined the effect of bath application of NADNA on synaptic plasticity in cellular and dendritic layers of hippocampus. Analyzing mean and peak values of fEPSP (field excitatory posttetanic potentiation) and pop-spikes (PS) in control and NADNA-treated slices, we observed significant increase of both values. Blockade of NEU leads to significant increase of different types of STP (short-term plasticity) in PS without changes in STP of fEPSP. In contrast probability to evoke LTP of EPSP or PS in NADNA treated slices significantly decrease comparatively to controls. To evaluate effect of NEU blockade on E-S coupling we estimate relative increase in PS and EPSP amplitude depending on stimulus intensity before and after induction of LTP. We show that NADNA-treatment lead to decrease in E-S coupling comparatively to control slices. Also in contrast to control slices where LTP lead to E-S potentiation, in NADNA-treated slices we observed E-S depression after LTP. Our findings demonstrate that NEU-blockage produce diverse effect of neuronal plasticity in rat hippocampus.

ОСОБЛИВОСТІ СУМАЦІЇ ЦЕНТРАЛЬНИХ МОТОРНИХ КОМАНД У “ДВОСУГЛОБОВИХ” ІЗОМЕТРИЧНИХ ЗУСИЛЛЯХ РУКИ ЛЮДИНИ

Верещака І. В.

inna.v@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Вивчали особливості суперпозиції центральних моторних команд (ЦМК), які надходять до м'язів плечового поясу та плеча при створенні передпліччям ізометричних зусиль у трьох напрямках, один з яких є векторною сумою двох інших. Амплітуди випрямлених, підданих низькочастотній фільтрації та усереднених записів ЕМГ розглядалися як кореляти інтенсивності ЦМК, які надходять до відповідних м'язів. Розвиток зусиль здійснювався у горизонтальній площині операційного простору при кутах 30° у плечовому суглобі, та 90° – у ліктьовому. Обстежуваний відтворював еталонне зусилля, відстежуючи положення маркера силового та командного сигналу на моніторі комп'ютера. Останній складався з трьох елементів: початкового стаціонарного стану, лінійного наростання зусилля та кінцевого стаціонарного рівня сили. Аналізувалися значення показників ЕМГ тільки останньої стадії. Для оцінки наявності суперпозиції ЦМК оцінювалась різниця між середніми рівнями ЕМГ при реалізації двох складових і результуючого зусиль. Амплітуди першого та третього тест-зусилля (складові зусилля) становили 30 Н, а друге (результуюче) тест-зусилля – 42,4 Н. Нормування всіх ЕМГ-сигналів проводилося відносно відповідної активності м'язів при їх максимальному напруженні людиною. Отримані результати свідчать про те, що програми як “збігаючих” (зусилля, спрямовані на одночасне розгинання або згинання обох суглобів) так і “незбігаючих” (зусилля, спрямовані на згинання ліктьового та розгинання плечового суглобів і навпаки) ізометричних скорочень у цілому можуть добре описуватися сумою відповідних ЕМГ досліджуваних м'язів. Виявлено особливості коактивації м'язів, згинаючих і розгинаючих ліктьовий і плечовий суглоби: під час розвитку зусилля, які спрямовані у напрямку розгинання обох суглобів, спостерігається значна коактивація флексорних м'язів ліктя та плеча у той час як активність екстензорів в умовах згинаючих зусиль була незначною.

ВПЛИВ ТРИВАЛОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ НА ВЛАСТИВОСТІ ГАНГЛІОЗНИХ КЛІТИН СІТКІВКИ ЩУРА

Думанська Г. В., Пурнинь О.Е., Рихальський О. В., Веселовський М.С.

Doomanya@mail.ru

Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України, Київ

У нервовому апараті зорової системи сітківка відіграє роль периферичного відділу. Гангліозні клітини сітківки (ГКС) передають зібрану інформацію у відповідні центри головного мозку і тому є принципово важливим об'єктом досліджень зорового аналізатора. Нами розроблена методика довготривалого культивування дисоційованих клітин сітківки. Щурів лінії Вістар віком 1-4 доби після народження декапітували, виділяли сітківку та проводили ферментативну обробку, після чого клітини обережно розділяли за допомогою багаторазового пропускання через Пастерівські піпетки різного діаметра. Культивували клітини в чашках Петрі на покривних скельцях, попередньо оброблених поліорнітином, в атмосфері інкубатора з контрольованим вмістом двоокису вуглецю. Електрофізіологічні характеристики культивованих ГКС щура (від 11 до 41 діб культивування) досліджено за допомогою методу patch-clamp у конфігурації “ціла клітина” в режимах фіксації струму та фіксації потенціалу. ГКС відбирали за такими показниками: діаметр соми нейрона та здатність підтримувати електричну активність у відповідь на зростаючі, деполяризуючі поштовхи струму. Досліджуючи залежність параметрів спонтанної активності від тривалості культивування були отримані такі результати: в режимі фіксації струму зі збільшенням віку культивованих клітин локальні відповіді переростали в потенціали дії з частотою, що зростала з часом культивування; в режимі фіксації потенціалу змінювався розподіл постсинаптичних струмів за амплітудою. Експерименти також показали, що відповіді культивованих гангліозних клітин на деполяризуючі поштовхи струму залежали від тривалості культивування та поділялися на три групи. Клітини однієї групи генерували поодинокі потенціали дії (ПД), другої – показали швидку адаптацію, а третьої – генерували ПД протягом усієї тривалості стимулу. Наявність такої залежності узгоджується з даними, отриманими іншими дослідниками в умовах гострого експерименту. Зважаючи на отримані результати можна сказати, що за цих умов культивування гангліозні клітини є життєздатними з адекватними фізіологічними показниками і можуть бути використані для фармакологічних та електрофізіологічних досліджень.

ОСОБЛИВОСТІ МІЖПІВКУЛЕВОЇ АСИМЕТРІЇ ВИКЛИКАНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ПРАВО- ТА ЛІВОРУКИХ ОСІБ ЖІНОЧОЇ СТАТІ ПІД ЧАС ДІЇ ЗОРОВИХ СТИМУЛІВ РІЗНОЇ ЗНАЧИМОСТІ

Качинська Т. В., Абрамчук О. М.

kachynska_t@ukr.net

Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк

Метою дослідження було вивчення особливостей міжпівкулевої асиметрії викликаних потенціалів (ВП) кори головного мозку в право- та ліворуких осіб під час диференційованої фотостимуляції. Обстежено 40 осіб жіночої статі віком 16-17 років, поділених на: ліво- та праворуких. Реєстрація ВП здійснювалася за загальноприйнятою методикою електроенцефалографії. Вивчення когнітивних ВП проводилося під час фотостимуляції; фотостимуляції та ведення підрахунку значимих стимулів (у співвідношенні значимі/незначимі – 50/50 та 25/75). Фотостимуляція здійснювалась у вигляді спалахів світла, очі обстежуваних були заплюснені. Подавалося 100 стимулів: значимі – спалахи тривалістю 117 мс, які обстежуваний повинен був рахувати і незначимі – тривалістю 47 мс. Аналіз показників ВП кори головного мозку показав, що незалежно від тестової ситуації і типу мануальної асиметрії дівчат, швидше сприйняття та обробка інформації здійснювалися лівою півкулею при вищій активації – правої. Під час фотостимуляції у праворуких дівчат на всіх етапах перцептивного акту коротші пікові латентності (ПЛ) зафіксовано в лівих скроневій і тім'яній ділянках. Пік P0 характеризувався достовірно вищими амплітудами у правій лобовій та центральній ділянках, а P2 та N4 – скроневій ділянці цієї самої півкулі порівняно з лівою. Під час підрахунку значимих стимулів різної ймовірності подачі на етапі сенсорного аналізу достовірно вищі ПЛ відмічено в лобовій ділянці лівої півкулі порівняно з правою. У процесі диференційованої фотостимуляції (50/50 та 25/75), у межах задньоасоціативних відведень, ліва скронева ділянка на відміну від правої характеризувалася швидшим сприйняттям та обробкою інформації різної значимості. У ліворуких дівчат незалежно від тестової ситуації під час всіх етапів перцептивного акту достовірно коротші ПЛ зафіксовано у лобовій і скроневій ділянках лівої півкулі порівняно з правою. Вищі активаційні процеси були відмічені у передньо- та задньоасоціативних відведеннях правої півкулі, про що свідчать більші значення амплітуд позитивних і негативних компонентів ВП у цих ділянках.

ВПЛИВ β 2-АГОНІСТА МЕТАПРОТЕРЕНОЛУ НА ГАМКЕРГІЧНУ ПЕРЕДАЧУ В ЗОНІ CA1 ГІПОКАМПА ЩУРІВ *IN VITRO*

Кравченко О.Д., Романько А.В., Розумна Н.М.

nata_nr@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

З використанням позаклітинного відведення ортодромних популяційних розрядів (ОПР) у зоні CA1 гіпокампа щурів *in vitro* досліджували вплив агоніста β 2-адренорецепторів метапротеренулу (МПТ) на ГАМК-ергічну передачу. Ізольована аплікація 10 ммоль/л ГАМК або 10 мкмоль/л баклофену, агоніста ГАМКВ-рецепторів, викликала пригнічення ОПР, відведених від пірамідального шару даної зони гіпокампа після електричної стимуляції колатералей Шаффера в радіальному шарі. Одночасна аплікація ГАМК і 150 мкмоль/л МПТ у більшості випадків (13 з 19 експериментів) перешкождала прояву повного гальмівного ефекту ГАМК (амплітуда викликаних відповідей знижувалася меншою мірою). Одночасна аплікація МПТ і баклофену в усіх випадках також помітно перешкождала прояву гальмівного впливу останнього на ОПР пірамідальних нейронів: відносна інтенсивність пригнічення в цих умовах протягом 2 хв аплікації була вірогідно менше, ніж при ізольованій дії баклофену. При аплікації 10 мкмоль/л бікукуліну, антагоніста ГАМКА-рецепторів, у викликаній відповіді з'являлися додаткові спайки (два, а іноді три). Амплітуда перших ОПР у комплексі викликаної відповіді на 2-й хвилині аплікації збільшувалася вірогідно на 30% і такий збуджуючий ефект зберігався декілька хвилин під час відмивання. Амплітуда другого ОПР достовірно збільшувалася в 2–3 рази. Відновлення наставало з 30-ї хвилини відмивання і пізніше. При комплексній аплікації МПТ і бікукуліну ефект останнього зберігався, а в деяких випадках навіть зростав. Амплітуда другого ОПР достовірно збільшувалася вдвічі. Відновлення перших ОПР викликаної відповіді відбувалося швидше порівняно з ізольованою дією бікукуліну, приблизно з 15-ї хвилини відмивання. Таким чином, β 2-агоністи можуть пригнічувати ГАМКВ-ергічну гальмівну передачу в зоні CA1 гіпокампа. Цей ефект дає змогу зробити припущення про характер дії норадреналіну, як і інших

ендогенних нейротрансмітерів, на гальмівні нейронні мережі в гіпокампі, які задіяні в процесах пам'яті, уваги, емоцій, а також в патогенезі хвороби Альцгеймера, шизофренії, епілепсії. Вплив β 2-агоністів на гальмівну передачу через ГАМКА-рецептори потребує подальших досліджень.

РОЛЬ ФАКТОРІВ, ІНДУКОВАНИХ ГІПОКСІЄЮ, У НЕЙРОПРОТЕКТОРНИХ МЕХАНІЗМАХ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ НА КУЛЬТИВОВАНИХ ЗРІЗАХ ГІПОКАМПА

Майстренко А.М., Лушнікова І.В., Орловський М. О., Досенко В.Є., Скібо Г.Г.
sayra@yandex.ru

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

Відомо, що нестача кисню та глюкози призводить до системних змін у клітинах та активації механізмів ендогенної нейропротекції, які пов'язані з численними внутрішньоклітинними сигнальними молекулами, в тому числі з тими, що активуються гіпоксією (HIF, hypoxia-inducible factor). Киснева аноксія чи епізодичне гіпоксичне прекодиціювання сприяє резистентності мозку до наступної тривалої ішемії. Досить мало відомо про події, що вкладаються в часові рамки між аноксичним прекодиціюванням (АПК) і наступним формуванням резистентності до ішемії. Праці з цієї теми в основному фокусують свою увагу на морфологічних змінах, спричинених АПК, зокрема інгібування апоптозу нейронів, нейрогенез чи здатність до виживання нейронів. Даних щодо ролі HIF в нейропротекторній дії АПК немає. В нашій роботі за допомогою ПЛР-аналізу було оцінено зміни експресії HIF-1 α та HIF-3 α мРНК при АПК, КГД та їх комбінації АПК і КГД у СА1- та СА3-зоні культивованих зрізів гіпокампа. Було виявлено, що за нормальних умов експресія HIF-1 α мРНК (субодиниця гіпоксіяіндукованого фактора) більш виражена у нейронах СА1-зони гіпокампальної органотипової культури. Відносно вищий рівень експресії HIF-1 α мРНК у цій зоні корелює з більшою чутливістю пірамідних нейронів до нестачі кисню та глюкози. Ми також перевірили вплив інгібування HIF проліл-гідроксилази попередньою 30-хвилинною обробкою діетиловим ефіром 2,4-піридиндикарбоксильної кислоти перед киснево-глюкозною депривацією. Було встановлено, що ушкодження нейронів, викликані останньою, супроводжуються значним зниженням HIF-1 α та HIF-3 α мРНК в СА1-, але не СА3-зоні нейронів. Лише АПК не впливає на життєздатність клітин і рівні мРНК HIF, але у разі застосування перед киснево-глюкозною депривацією запобігає пошкодженню нейронів і супресії експресії субодиниць HIF-1 α та HIF-3 α мРНК. Було також встановлено, що вплив інгібітора проліл-гідроксилази був схожим на АПК. Ці результати показують, що попередня гіпоксія збільшує протиішемічну стійкість нейронів, яка певною мірою корелює зі змінами експресії HIF-1 α та HIF-3 α .

МОДУЛЯЦІЯ ГАЛЬМІВНОЇ ПЕРЕДАЧІ У МОТОРНІЙ КОРИ ПРИ ВИКОНАННІ РЕФЛЕКСУ НА КОМПЛЕКС ПОДРАЗНИКІВ

Мамонтов С.М.

mamont@ua.fm

Інститут фізіології ім.О.О. Богомольця НАН України, Київ

На ненаркотизованих котах досліджували вплив ГАМК-ергічних речовин і норадренергічних модулаторів на імпульсну активність нейронів моторної кори мозку під час здійснення оперантного рухового рефлексу на комплекс подразників. Досліджували роль різних рецепторів у модулюванні нейронів імпульсної активності (ІА). Використовували неселективні та селективні блокатори та агоністи ГАМК- та норадренергічних рецепторів. Було з'ясовано, що мікроінофоретичні аплікації ГАМК та норадреналіну викликають зменшення ІА кортикальних нейронів. При застосуванні селективних адреноактивних речовин було з'ясовано, що аплікації α 1-агоніста, мезатону, викликають пригнічення імпульсної активності у фоні, у період між стимулами, а також під час здійснення руху. Вплив α 2-блокатора, іохімбіну, викликав протилежний ефект – ІА нейрона підвищувалась порівняно з фоном, а також у інші досліджувані часові інтервали. Цей факт свідчить про складні механізми утворення гальмування ІА кортикальних нейронів у період очікування імперативного стимулу. Є підстави припускати, що норадренергічна модуляція впливає на кортикальні нейрони як прямо, так і через ГАМК-ергічні інтернейрони кори.

ЗМІНИ В θ -ДІАПАЗОНІ ЕЕГ ПРИ СПРИЙНЯТТІ ТА ВІДТВОРЕННІ РИТМІЧНИХ ПАТЕРНІВ З РІЗНОЮ ВИСОТНІСТЮ У ЖІНОК

Павлович О. С.

pos-bio@mail.ru

Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк

Обстежили 50 осіб жіночої статі з правобічним профілем слухової та мануальної асиметрії. Усі жінки не мали спеціальної музичної підготовки та ніколи не навчалися грі на музичних інструментах. Показником інформаційних процесів вважали θ -активність ЕЕГ у стані функціонального спокою, під час слухового сприйняття й мануального відтворення ритмічних рівно- та звуковисотних патернів окремо правою та лівою руками. Рівновисотні патерни створювали за допомогою звукових стимулів барабанного бою, а звуковисотні методом накладання електронної версії фортепіано на відповідні звуки барабану (програмне забезпечення Finale-2006). Ритмічний рисунок патернів складався з одиночних та здвоєних стимулів у послідовності – / / / / / . Звуки подавали бінаурально на відстані 1,2 м від кожного вуха обстежуваної з середньою гучністю до 55 дБ. Під час однієї проби транслювали патерни тільки одного типу, завдання виконували (відбивали) пальцями кисті окремо правою та лівою руками. Значимість результатів визначали за критерієм t Стьюдента. Встановили, що при сприйнятті та відтворенні рівновисотних патернів як правою, так і лівою руками зростала потужність θ -ритму ЕЕГ у передніх лобних і правих бічних лобних відведеннях порівняно зі станом функціонального спокою. Сприйняття та відтворення звуковисотних патернів правою рукою супроводжувалося підвищенням потужності в передніх лобних ділянках і зниженням у правому скроневому, тім'яному та потиличних відділах. Означені зміни в θ -діапазоні ЕЕГ відмітили, також, при відтворенні звуковисотних патернів лівою рукою, проте зниження потужності набуло більш локального характеру в лівих тім'яних і потиличних ділянках. Зростання θ -активності ЕЕГ у лобному відділі є проявом підвищеної активації кори великих півкуль, що, очевидно, пов'язано з залученням селективної уваги та кодуванням у пам'яті нової інформації для її наступного відтворення. Зниження потужності θ -ритму ЕЕГ при виконанні звуковисотних завдань у жінок, можливо, вказує на різні механізми сприйняття та відтворення ритмічних патернів з різною висотністю звуку.

УТВОРЕННЯ СИНАПТИЧНИХ ЗВ'ЯЗКІВ НЕЙРОНАМИ ПЕРВИННОЇ КУЛЬТУРИ ВЕРХНІХ ШИЙНИХ ГАНГЛІВ

Телька М.В., Рихальський О.В., Пурнинь О.Е., Веселовський М.С.

mariyka.t@gmail.com

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця

Мета роботи – отримання первинної культури симпатичних нейронів і дослідження електрофізіологічними методами утворення синаптичних зв'язків. Експерименти проводили на дисоційованих нейронах верхнього шийного ганглія (ВШГ), які культивувалися протягом трьох тижнів. Культивування нейронів здійснювали за методикою, яка описана в роботах Хігінса. Ця методика дає змогу спостерігати розвиток нейронів за наявності всіх клітин ВШГ. При культивуванні симпатичних клітин для розвитку аксонів і підтримуванні синаптичних контактів потрібно додавати фактор росту нервової тканини, який у нативних клітинах виділяється з органів-мішеней. Електрофізіологічні дослідження проводили із застосуванням методу patch-clamp у конфігурації “ціла клітина”. Для виявлення синаптичних зв'язків застосовували метод зовнішньоклітинної фокальної електричної стимуляції. Були виміряні пасивні характеристики (мембранний потенціал, опір та ємність) клітин, які були електрозбудливими. В деяких нейронах зареєстровано фонову електричну активність та викликані постсинаптичні струми, що пригнічувалися дією бензогексонія.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ВАРИАбельНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ДЕТЕЙ ИЗ ПРОМЫШЛЕННЫХ РЕГИОНОВ УКРАИНЫ

Тымченко С.Л., Негериш А.В.

ribga@mail.ru

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь

В системе оценки изменения показателей здоровья под влиянием факторов окружающей среды при проведении биомониторинговых исследований особое место отводится анализу состояния систем регуляции и выявлению функциональных отклонений в состоянии здоровья детского населения. Однако особенности вегетативной регуляции в зависимости от элементного баланса в настоящее время изучены недостаточно. Одним из неинвазивных методов, позволяющих объективно оценить данные особенности является метод анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР). С этой целью было обследовано 60 детей от 10 до 16 лет (40 мальчиков и 20 девочек) из промышленных городов юго-восточной Украины, находившихся на санаторно-курортном лечении в детском неврологическом санатории «Искра», г. Евпатория. Методом рентгено-флуоресцентной спектрофотометрии в пробах волос обнаружен дефицит Zn и Cu ($79,31 \pm 3,56$ и $5,40$ мкг/г $\pm 0,25$ мкг/г) на фоне избытка Ca, Pb и Cd ($879,18 \pm 35,50$; $8,98 \pm 1,92$ и $2,57$ мкг/г $\pm 0,45$ мкг/г соответственно). Регистрацию спектральных параметров ВСР (TP, VLF, LF, HF, LF/HF, LFn и HFn) осуществляли в течение 5 мин в состоянии покоя с помощью компьютерного электрокардиографического комплекса (Cardio, Украина). Влияние элементов на ВСР анализировали методом множественной регрессии, который выявил наличие статистически значимой взаимосвязи для ряда элементов ($\pm 0,27 < \beta < \pm 0,77$; $P < 0,05$). Характер выявленных достоверных корреляционных связей позволяет заключить, что повышенное содержание токсичных свинца и кадмия на фоне дефицита эссенциальных цинка и меди может способствовать разнонаправленным изменениям активности вегетативной нервной системы (повышение активности симпатического отдела и снижение активности парасимпатического отдела ВНС) на фоне снижения общей мощности спектра и её отдельных составляющих.

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКА СЕРОТОНИНА L-ТРИПТОФАНА НА ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА

Фролова Г.А.

gljukkk@ukr.net

Донецкий национальный университет

Целью представленного фрагмента комплексной работы является установление влияния системного введения L-триптофана на временные характеристики поведения в тесте Порсолта. Исследования проводились на 40 беспородных белых крысах-самцах массой $190 \text{ г} \pm 10 \text{ г}$. Поведенческими показателями в тесте Порсолта (6 мин) служили: частота и длительность периодов полной неподвижности, сгруппированных по стандартным временным диапазонам; суммарное время пассивного и активного плавания. После контрольного тестирования исходная группа крыс была разделена на подгруппы с разным уровнем депрессивности. L-триптофан вводили в дозе 100 мг/кг на протяжении 14 сут (внутрибрюшинно). Для оценки достоверности отличий между опытными и контрольными значениями использовался U-критерий Манна-Уитни. Установлено, что во всех подгруппах крыс наблюдается увеличение суммарного времени активного плавания в среднем на 16-30% и снижение общего времени пассивного плавания ($P < 0,05$) в зависимости от исходного уровня депрессивности крыс: чем ниже депрессивность, тем в большей степени сократилось суммарное время пассивного плавания. Аналогично, выявлена зависимость между исходным значением маркерного показателя в тесте Порсолта – общего времени неподвижности – и степенью его снижения после введения L-триптофана: чем ниже значение этого показателя в контроле, тем в меньшей степени он снижался после инъекций: достоверных отличий у крыс с исходно низким уровнем депрессивности по данному показателю установлено не было; у животных с исходно средним и высоким уровнем депрессивности значения данного показателя снизились соответственно на 25,3 ($P < 0,01$) и 38,7%. Общее количество периодов неподвижности возросло ($P < 0,05$) у низко-

депрессивных крыс, а у высокодепрессивных – сократилось ($P < 0,05$). При рассмотрении динамики замираний по временным диапазонам установлено, что количество периодов неподвижности длительностью до 6 с возросло ($P < 0,05$) только у животных из подгруппы с исходно средним уровнем депрессивности; количество замираний длительностью от 6 до 18 с и от 18 до 36 с достоверно изменилось (сократилось, $P < 0,05$) в подгруппах со средним и высоким уровнем депрессивности; замирания длительностью более 36 с отсутствовали как в контрольных опытах, так и после инъекций предшественника синтеза серотонина L-триптофана.

ПЕРЕБУДОВИ ЕЕГ ЛЮДИНИ ПРИ ВИКОНАННІ ДІЯЛЬНОСТІ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ІНФОРМАЦІЙНОЇ НАСИЧЕНОСТІ

Чернінський А. О., Крижановський С. А., Зима І. Г., Макачук М. Ю.

psylab@psylab.kiev.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Досліджували взаємозв'язок вихідних (фонових) значень спектральної потужності ЕЕГ людини та змін цього показника при виконанні функціональних проб з різним рівнем інформаційної насиченості: усний арифметичний рахунок, запам'ятовування слів, сприйняття ольфактивного подразника, виконання простої аудіомоторної реакції, часткова сенсорна депривація. Було виявлено, що між параметрами фонові ЕЕГ спокою та реактивними змінами ЕЕГ існує певний зв'язок, ступінь і характер якого залежить від типу діяльності людини. Підвищення складності завдання супроводжується зменшенням кількості кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками, що розцінюється нами як зменшення впливу вихідного функціонального стану головного мозку на характер перебудов електричної активності при переході до діяльності. При цьому параметрами фонові ЕЕГ, з якими було зареєстровано найбільшу кількість значущих коефіцієнтів кореляції, є спектральна потужність низькочастотних компонентів (4-10 Гц). Саме ці частоти розглядаються нами як корелят функціонального стану головного мозку. У разі, коли експериментальна проба була пов'язана з переходом не на більш високий рівень активації (аудіомоторна реакція, арифметичний рахунок, запам'ятовування), а з його зниженням (сенсорна депривація), показниками, які визначають функціональний стан головного мозку, були високочастотні компоненти (11-25 Гц). Порівнюючи патерни кореляційних зв'язків досліджуваних параметрів у трьох пробах із подібними реактивними перебудовами ЕЕГ (сенсорна депривація, запам'ятовування, сприйняття ольфактивного подразника), але різною якісно та кількісно інформаційною насиченістю, виявили, що кількість і напрямок взаємозв'язків у них суттєво відрізняється. Отримані результати обговорюються з точки зору визначення електроенцефалографічного субстрату організації функціональних станів головного мозку людини. Сукупність отриманих нами результатів свідчить, що традиційне уявлення про функціональний стан як однокомпонентну систему, яка регулює рівень активації головного мозку у лінійному континуумі "сон-неспання" є не зовсім адекватним. Різні типи діяльності залежать від вихідного рівня функціонування різних підсистем головного мозку.

ЗМІНИ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ Т-ТИПУ У ЛАТЕРАЛЬНО-ДОРСАЛЬНОМУ ЯДРІ ТАЛАМУСА У НОРМІ ТА ЗА УМОВ АБСАНС-ЕПІЛЕПСІЇ

Шаропов Б.Р., Болдирев О.І., Батюк М.Ю., Штефан Н.Л., Шуба Я.М.

sartorius@email.ua

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

Найтипівішим епілептичним синдромом серед хворих, молодших за 15-16 років, є дитяча абсанс-епілепсія, яка характеризується безсудомними, але дуже частими (15–150 за добу) нападами, що на ЕЕГ супроводжуються комплексами пік-хвиля частотою 3-4 Гц. В останнє десятиріччя були отримані дані щодо ключової ролі таламокортикальної сигналізації і, зокрема, експресованих у таламусі кальцієвих каналів Т-типу у патогенезі цього захворювання. Ми порівняли рівень експресії Т-каналів у латерально-дорсальному ядрі таламуса у моделі дитячої абсанс-епілепсії – шурів лінії WAG/Rij – та у контрольних шурів лінії Вістар віком 10 та 25 діб. Отримані нами методом кількісної ЗТ ПЛР дані свідчать, що за абсанс-епілепсії у латерально-дорсальному ядрі 25-добових тварин спостерігається зниження кількості Т-каналів типів Cav3.1 та Cav3.3 на 68 та 48% відповідно, в той час як рівень експресії Cav3.2 лишається незмінним. У 10-добових шурів різниця між

дослідною та контрольною групою була суттєво менше виражена і в проведених нами досі дослідних не сягла статистичної значущості. Електрофізіологічне вимірювання методом patch-clamp у конфігурації “ціла клітина” показало, що 10-добові щури зі спонтанною абсанс-епілепсією мають знижену на 43% щільність Т-струмів у таламокортикальних нейронах латерально-дорсального ядра. Цікаво, що абсанс-епілепсія іншими дослідниками зазвичай пов’язується з підвищенням рівня експресії Т-каналів у релейних ядрах таламуса. У зв’язку з цим ми припускаємо два можливих пояснення отриманих нами результатів. По-перше, ми могли спостерігати компенсаторний ефект, і зниження експресії Т-каналів у латерально-дорсальному ядрі у 10- та 25-добових щурів змінюється на підвищення при досягненні твариною 3-місячного віку, за якого у щурів лінії WAG/Rij починаються спонтанні абсанси. По-друге, зміна рівня експресії кальцієвих каналів Т-типу у релейних ядрах таламуса за умов абсанс-епілепсії може відбуватись у різних напрямках – як зниження (у випадку латерально-дорсального ядра), так і підвищення (у деяких ядрах, досліджених іншими авторами).

ФІЗІОЛОГІЯ ВІСЦЕРАЛЬНИХ СИСТЕМ

MATURE TO IMMATURE MICRORNAS RATIO IN CULTURED RAT CARDIOMYOCYTES UNDER ANOXIA-REOXYGENATION

Gurianova V.L., Dosenko V.E., Story D.O., Surova O.V.
nika.biph@gmail.com

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

The violent evolution of knowledge concerning RNA interference phenomenon has become from its discovery to its application as therapeutics strategy in some fields of medicine which became possible due to obtained information about the changes of microRNAs (miRs) expression in experimental models of diseases. Such progress is also very perspective for cardiology, therefore understanding of involvement of miR into intimate mechanisms underlying pathogenesis of heart disease is of great interest. Observations. We have evaluated the changes of mature and immature miR-1, -208a, and -29a in rat neonatal cardiomyocytes culture under under anoxia-reoxygenation (AR), using Real-Time PCR. The different directions and extents of changes for mature and immature miRs that are reflected by the mature to immature miRs ratio have attracted our attention. It was significantly increased upon AR (0.5 hour/1 hour) for miR-1 and -208a, returning to control level at AR group (0.5 hour/24 hours), while for miR-29a this ratio had the progressive tendency to decrease under AR. Coefficient of determination R^{2} was used to evaluate the degree of dependence of m miR from level of its immature forms. For miR-1 this parameter decreased from 59.2% in control to 26.4% at AR (0.5/1) and to 5.1% at AR (0.5/24). For miR-208a it is close to such for miR-1 - 60.6%, and decreases to 0.2% in AR (0.5/1) group but returns to the control level upon AR (0.5/24). The same situation is observed for miR-29a: even though initial R^{2} for this miR is much lower than for miR-1 and miR-208a (39.8%), it has similar to miR-208a pattern of changes - it decreases to 18.3% at AR (0.5/1) and comes back to control level in AR (0.5/24) group. Conclusions. Discrepancy between level of mature and immature miRs is peculiar to cardiomyocytes under AR, reflecting in changes of mature to immature miRs ratio and of dependence of mature on immature miRs level. It supports the idea that posttranscriptional regulatory mechanisms of miRs level may play the role in response of cardiomyocytes to AR.

ГИПЕРТОНИЯ И СИСТЕМНЫЙ ИММУНИТЕТ

Ал-Хашими Саад Халаф Тамир, Шейко В.И.

interliycin@mail.ru

Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко

В современном обществе одно из лидирующих мест среди болезней принадлежит гипертонии различной степени, при этом отмечается ее «омоложение». Регуляция кровяного давления это одна из вегетативных функций организма, к которым также относятся и иммунные реакции. Одним из перспективных и пока недостаточно разработанных направлений современной биологии и медицины является изучение состояния системного иммунитета в условиях гипертонической болезни различного генезиса и степени. Что возможно дополнит теории иммунорегуляции функций организма. Цель исследования – изучить особенности иммунитета при гипертонической болезни. Исследование проводилось на базе 5-й многопрофильной больницы г. Луганска. Было обследовано 120 пациентов в возрасте от 25 до 55 лет с диагнозом гипертоническая болезнь. Использовали следующие методики: определяли общее количество лейкоцитов в периферической крови, вычисляли лейкоцитарную формулу, общее и относительное количество моноцитов, нейтрофилов, общее и относительное количество Т-лимфоцитов всех их субпопуляций, В-лимфоцитов, естественных киллеров, концентрацию иммуноглобулинов классов Ig A, Ig M, Ig G и концентрацию ЦИК в сыворотке крови. У больных гипертонией наблюдалось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на 6%, уменьшение количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) на 9%, за счет уменьшения количества Т-хелперов/индукторов и цитотоксических Т-супрессоров, но при этом увеличивалось число В-лимфоцитов на 15%, а также имела тенденция к повышению концентрации Ig A и ЦИК. Таким образом, гипертония сопровождается дисфункцией системного иммунитета, снижением количества Т-лимфоцитов и увеличением В-лимфоцитов.

ЦИТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ В УМОВАХ СЛУХОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ**Бесчасний С.П.****Beschasniu@yandex.ru***Херсонський державний університет*

Існує значна кількість досліджень про зв'язок нервової та імунної систем за різних умов, зокрема, при слуховій депривації (СД). Частина авторів вказує на те, що при СД спостерігається функціональна незрілість систем, відповідальних за генерацію електричної активності головного мозку (ГМ), зміни діяльності верхньооливарного комплексу, розвиток у нейронах кори ГМ гальмівних фазових станів. Компенсаторно відбувається підсилення зорової та пропріоцептивної сенсорної імпульсації, що підвищує рівень моторної активності і тону ерготропної системи, яка запускає стресорну гіперсимпатикотонічну вегетативну реактивність (ГСВР). Як наслідок ГСВР відбуваються пристосувальні реакції обміну: підвищується вміст лактату, лактатдегідрогенази, пірувату, сукцинатдегідрогенази у крові, гіперактивація перекисного окиснення ліпідів. Вищезазначені явища також пов'язані з активністю імунної системи. Відомо, що у дітей із СД виявлена надмірна продукція антитіл, сенсibilізованих Т-кілерів до мієліну, активованих В-клітин (при зменшенні їх загальної кількості), нейроспецифічної енолази, фактора некрозу пухлин, ІЛ-1, лейкоцитарної еластази на фоні недостатності процесів фагоцитозу та зниженні кількості Т-хелперів. Тому є актуальним вивчення лейкоцитів, як одного із показників активності імунної системи при деприваційних впливах. Досліджувалася периферична кров дітей віком від 6 до 11 років із СД (як природна модель дистресових впливів нервової системи на ферментну активність лейкоцитів). Виявлено, що при стандартній лейкоформулі (свідчення відсутності патологічних станів) статистично достовірно знижений вміст мієлопероксидази (МПО), вміст катіонних білків (КБ) і фосfolіпідів (ФЛ) на фоні підвищення вмісту лужної фосфатази (ЛФ) нейтрофілів. Ми припускаємо, що зменшення МПО та КБ (фагоцитин, лейкін, дефензини, лактоферини) вказує на зниження антимікробної активності нейтрофілів. Зниження вмісту ФЛ, які є важливою частиною клітинної мембрани, матриксу, можуть витрачатися під час збільшення попередньої активації МПО. При цьому, активність ЛФ вказує на активні процеси внутрішньоклітинної передачі сигналів з мембранних рецепторів, що можливо через вплив гормональних факторів на В2-адренорецептори (підтверджується підвищенням вмісту ЛФ при збільшенні гормонального гіпофізарно-наднирковозалозного впливу).

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ОБСЛЕДУЕМЫХ В ВОСТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВЕЛОЭРГОМЕТРИЧЕСКОЙ ПРОБЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ УПРАВЛЯЕМОГО ДЫХАНИЯ С ИНДИВИДУАЛЬНО ПОДОБРАННОЙ ЧАСТОТОЙ**Бирюкова Е.А.****biotema@rambler.ru***Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь*

Исследовано влияние управляемого дыхания (УД), частота которого соответствует таковой локализации максимального пика мощности в низкочастотном диапазоне спектра сердечного ритма (СР) на изменения показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР) в процессе восстановления после субмаксимального нагрузочного тестирования и их зависимость от типа вегетативной регуляции обследуемых. В исследовании принимали участие 24 условно здоровых студента-волонтера, разделенных на 3 группы по 8 человек в каждой: I – со средними значениями стресс-индекса ($50 \leq Si \leq 200$ усл.ед.); II – с низкими значениями ($Si \leq 50$ усл.ед.); III – с высокими значениями ($Si \geq 200$ усл.ед.). В первый день исследования показатели ВСР регистрировали с помощью программно-аппаратного комплекса «Омега-М» проводили на фоне спонтанного дыхания. Затем проводили велоэргометрическую (ВЭМ) пробу и повторную регистрацию показателей ВСР в течение 30 мин (6 записей по 5 мин) восстановительного периода. В последующие 10 дней эксперимента ежедневно в одно и то же время с обследуемыми проводили сеансы УД. На 10-й день повторно выполняли пробу ВЭМ и 30-минутную регистрацию показателей ВСР. Показано, что превентивное воздействие УД с индивидуально подобранной частотой (ИПЧ) приводит к повышению скорости восстановительных процессов, увеличению вагусных воздействий и оптимизации барорефлекторной регуляции, большей активации вегетативного контура регуляции СР после субмакс-

симальной физической нагрузки, что свидетельствует об оптимизации функционального состояния, увеличении адаптивных возможностей организма и толерантности к физической нагрузке организма обследуемых. Вместе с тем выявлены индивидуальные различия в реакции на УДИПЧ у людей с разным тоном ВНС. Так, в большей степени восстановление изученных показателей ВСР происходило у обследуемых с высокими значениями Si, характеризующихся симпатическим типом вегетативной регуляции.

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІУ У МЕХАНІЗМІ СКОРОТЛИВИХ РЕАКЦІЙ ВОРІТНОЇ ВЕНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІД ДІЄЮ СЕРОТОНІНУ

Виноградова О.О., Пасічніченко О.М., Янчук П.І.

alenska_vinogradova@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

Відомо, що серотонін має виражений звужуючий вплив на судини печінки. Літературні дані вказують на те, що його дія на ворітну вену (ВВ) опосередковується через специфічні рецептори, локалізовані на гладеньком'язових клітинах (ГМК). Проте існують дані про ендотеліозалежний вплив серотоніну на судини басейну ВВ. Експерименти були проведені на 20 ізольованих і перфузованих підігрітим розчином Тіроде препаратів ВВ білих безпорідних щурів. Вихідний пасивний натяг судини становив 10 мН. Скоротливі реакції ВВ реєстрували з використанням тензометричної установки. У першій серії дослідів вивчали вплив серотоніну на тонус ГМК препаратів ВВ з цілісним ендотелієм. Серотонін у концентрації 0,01 мкмоль/л, що є близькою до фізіологічної, викликав зниження тонусу ВВ на 0,13[0,13; 0,14]мН (n=10) відносно вихідного рівня. Реакція розвивалася протягом 10 хв з моменту початку перфузії судинних препаратів розчином серотоніну. У другій серії експериментів вивчали вплив серотоніну (0,01 мкмоль/л) на тонус деендотелізованих ізольованих препаратів ВВ. За таких умов серотонін викликав скорочення м'язових препаратів ВВ з амплітудою 0,3[0,2; 0,3]мН (n=10). Таким чином, вплив серотоніну на тонус ВВ, імовірно, зумовлений активуванням різних підтипів серотонінових рецепторів, розташованих як на ГМК, так і на ендотелії судини. Отримані результати вказують на те, що загальна реакція розслаблення ГМК препаратів ВВ з непошкодженим ендотелієм, індукована серотоніном у фізіологічній концентрації, опосередковується ендотеліоцитами, які виділяють дилататорні фактори, можливо, простагліцині або оксид азоту. Такий ендотеліозалежний дилататорний ефект серотоніну у ВВ, очевидно, перекидає можливе підвищення судинного тонусу внаслідок прямого впливу речовини на ГМК вени.

ВПЛИВ ВІЛОЗЕНУ НА АДАПТАЦІЙНІ РЕЗЕРВИ ОРГАНІЗМУ СПОРТСМЕНІВ

Гужва О.І., Шейко В.І.

interliycin@mail.ru

Луганський національний університет імені Тараса Шевченка

Стійкість до емоційних і фізичних навантажень в умовах сучасного суспільства є однією з найбільш актуальних проблем теперішньої фізіологічної науки. Нині значна увага приділяється вивченню механізмів взаємодії нервової, імунної та ендокринної систем з концептуальних позицій системного підходу на рівні цілісного організму, зокрема, за умов адаптації до фізичних навантажень. Викладене вище свідчить про актуальність проведення наукових досліджень у такому напрямі фізіології, як взаємозв'язки функцій системи імунітету та показники гомеостазу у осіб, які займаються спортом в умовах активації клітинної ланки системного імунітету (імуностимулятором вілозен). Обстежено спортсменів різного рівня підготовки ігрових видів спорту. Використовували такі методики: визначення загальної кількості лейкоцитів у периферійній крові, лейкоцитарної формули, загальної та відносної кількості моноцитів, нейтрофілів, загальної та відносної кількості Т-лімфоцитів усіх їх субпопуляцій, В-лімфоцитів, природних кілерів, концентрацію імуноглобулінів класів Ig A, Ig M, Ig G у сироватці крові; та біохімічні показники крові (білірубін, креатинін, хлор, натрій, калій, загальний білок, сечовина, тимолова проба, АсАТ, АлАТ, α -амілаза та альбумін). Регулярні заняття спортом супроводжуються дисфункцією системного імунітету та негативними змінами показників гомеостазу, що свідчить про порушення та послаблення адаптаційних можливостей і резервів організму. Використання вілозену у спортсменів позитивно впливає на абсолютну та відносну кількість ІКК, що призводить до зростання абсолютної та відносної кількості загального пулу лімфоцитів за раху-

нок CD3⁺-лімфоцитів; абсолютної кількості імунорегуляторних Т-лімфоцитів, а саме: підвищується абсолютна кількість Т-хелперів/індукторів на 37,5 %, цитотоксичних Т-супресорів на 56,52 %. Основні показники клітинної ланки системного імунітету під впливом вілозену покращуються. В гуморальній ланці системного імунітету спостерігалось підвищення абсолютної кількості CD19⁺-лімфоцитів і концентрації Ig G. Активація клітинної ланки системного імунітету супроводжувалася покращенням показників гомеостазу. Таким чином, активація клітинної ланки імунітету у спортсменів носить імунореабілітаційний характер і поліпшує адаптацію.

ЧИ Є „МІТОХОНДРІАЛЬНИЙ ФАКТОР” МАРКЕРОМ УТВОРЕННЯ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ПОР?

Добровольський Ф.В.

f_dobr@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

У процесі пошуку нами нових шляхів корекції реперфузійних пошкоджень міокарда виникла потреба уточнення значення „мітохондріального фактора” (МФ) як маркера утворення мітохондріальних пор (МП). У дослідженні здійснюється перевірка маркерного значення МФ, що вивільняється на початку реперфузії, а також пошук можливого пояснення зв'язку між утворенням МП та вивільненням МФ. Ішемії (20 хв) та наступної реперфузії (40 хв) завдавали ізольованим серцям морських свинок, що перфузувалися за Лангендорфом. Оцінювали показники скоротливої активності (СА) та проводили зіставлення ступеня відновлення СА на реперфузії та кількості МФ, що визначалася спектрофотометрично. В першій з трьох дослідних груп здійснювали контрольну ішемію-реперфузію. В двох інших ішемію-реперфузію поєднували з протективними впливами: охолодженням серця під час ішемії (група 2) та попереднім одноразовим годуванням тварин мелатоніном у дозі 10 мг/кг за 1 год до початку досліду (група 3). Істотніше в порівнянні з контролем відновлення СА на реперфузії в групах 2 і 3 свідчило про значну ефективність протективних впливів, що були використані. При цьому більш повне відновлення спостерігалось в групі 3. Так, на 20-й хвилині реперфузії тиск у лівому шлуночку в групі 1 становив в середньому 65%, а в групах 2 і 3 – 81% від доішемійного рівня (P<0,01). Відповідні значення для роботи серця – 66, 82 і 83% (P<0,01). Для dP/dt_{max} – 65, 84 і 85% (P<0,01), для dP/dt_{min} – 66, 81 і 85% (P<0,01). Кількість МФ в групі 2 була значно нижчою, ніж у контролі (0,047 і 0,183 ум. од. відповідно, P<0,001). В групі 3 вірогідних відмінностей у порівнянні з контролем не було. Додаткове визначення часу (в секундах) від початку ішемії до повного припинення скорочень виявило відсутність вірогідної різниці. Неоднаковий характер змін кількості МФ в умовах різних протективних впливів дає змогу зробити кілька пояснень. Серед них і таке, яке повністю заперечує роль МФ як маркера утворення МП. Таким чином, можна зробити висновок про відсутність наразі достатнього розуміння природи МФ та його зв'язку з утворенням МП. На нашу думку, потрібні подальші дослідження в зазначеному напрямку.

ВПЛИВ СІРКОВОДНЮ НА МІТОХОНДРІАЛЬНЕ ДИХАННЯ СЕРЦЯ ЩУРІВ

Дорофєєва Н.О.

dorofeyva@mail.ru

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Для визначення впливу сірководню в концентрації, близькій до ендогенної, на ефективність дихання і окисного фосфорилування мітохондрій серця щурів *in vivo*, проведені дослідження на щурах зі спонтанною гіпертензією та контрольної групи лінії Вістар. Для дослідження впливу сірководню *in vivo* щурам у свідомості проводили ін'єкцію донора сірководню NaHS у концентрації 56 мкмоль/л (внутрішньоочеревино) та через 30 хв використовували в дослід. Мітохондрії серця щурів виділяли методом диференціального центрифугування. Процеси мітохондріального дихання досліджували за допомогою приладу Оксиграф («Hansatech instruments»). Функціональний стан мітохондрій визначали методом Чанса та Вільямса. Виявлено достовірне підвищення швидкості споживання кисню в станах V2, V3, V4 при дії сірководню *in vivo* у щурів контрольної групи та у тварин зі спонтанною гіпертензією. Проте кратність підвищення була різною. Так, у стані відносного спокою V2 у щурів контрольної групи швидкість споживання кисню збільшилась в 2,7 раза, а у щурів зі спонтанною гіпертензією – в 1,6 раза. АДФ-стимульоване дихання мітохондрій серця у щурів кон-

трольної групи збільшилося в 2,4 раза ($P < 0,01$), а у щурів зі спонтанною гіпертензією – в 1,6 раза ($P < 0,05$). Проте виявлено, що у щурів контрольної групи при впливі сірководню *in vivo* на 29,4% зменшувався дихальний контроль ($P < 0,05$), який відображає ступінь спряження процесів дихання і фосфорилування. А у щурів зі спонтанною гіпертензією не відмічалось достовірного зниження дихального контролю. Таким чином, вплив сірководню на мітохондріальне дихання серця у щурів зі спонтанною гіпертензією та щурів контрольної групи був різний.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ЖОВЧОСЕКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ВІД АКТИВНОСТІ ПАРАСИМПАТИЧНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

Єсіонова Ю. М., Лященко Т. П., Весельський С. П.

lestat6662008@meta.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Функціонування органів травного тракту залежить від активності різних відділів вегетативної нервової системи. Процеси виділення та утворення жовчі перебувають під переважним впливом парасимпатичного відділу. Функціонування гепатобіліарної системи має певні вікові особливості. Отримані численні дані з цього питання є досить суперечливими, тому це і стало метою наших досліджень. Досліди проводили на білих щурах-самцях трьох вікових груп: ювенільні (130-175 г), зрілі (200-250 г) та старі (300-350 г) в умовах гострого експерименту з відпрепарованою та канюльованою жовчною протокою під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Об'ємну швидкість холерезу вимірювали впродовж 3 год досліді і розраховували в нанометрах на 1 г маси тіла тварини за хвилину досліді. У ворітну вену тваринам через катетер вводили атропін з розрахунку 0,15 мг на 100 г. Контрольній групі тварин вводили лише фізіологічний розчин (0,1 мл на 100 г). У контрольних дослідіх спостерігалось поступове зниження рівня холерезу впродовж експерименту, що, безумовно, пов'язане з втратою жовчних кислот (ЖК) як основних саморегуляторів жовчоутворення. Порівняно зі щурами зрілої групи показники жовчної секреції у тварин ювенільної групи характеризуються гіперфункцією, а у щурів старої групи – гіпосекрецією. Застосування універсального блокатора М-холінорецепторів атропіну призводить до лавиноподібного зниження рівня об'ємної швидкості холесекреції у щурів ювенільної групи, менш вираженої холестатичної реакції у старих щурів на фоні практично незмінної жовчосекреторної функції печінки статевозрілих тварин. Виходячи з вищевикладеного можна зробити наступні висновки: 1. Жовчосекреторна функція у ювенільних щурів перебуває в максимальній залежності від активності парасимпатичного відділу автономної нервової системи. 2. У щурів зрілого віку недостатність парасимпатички компенсують паралельні незалежні механізми регуляції. 3. Певна залежність рівня холерезу у щурів старої групи від тону парасимпатичної нервової системи свідчить про можливу вікову атрофію вищезазначених механізмів компенсації.

ВПЛИВ ω -3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КОНЕКСИНУ-43 ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

Жуковська А.С.¹, Шиш А. М.¹, Бенюва Т.², Трібулова Н.², Мойбенко О.О.¹

a.zhukovska@gmail.com

¹ *Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ,*

² *Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava*

Конексини - це сарколемальні білки, які, згруповуючись, утворюють напівканал конексон. У щільних контактах шлуночка серця експресується переважно конексин-43, який є головним у передачі електричного сигналу по серцю. Порушення функції щільних контактів призводить до погіршення серцевої провідності, водночас відомо про пошкодження серцевої провідності при діабеті. З іншого боку є відомості, що ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) покращують функціонування серця за умов різноманітної патології серцево-судинної системи. Таким чином, нами було поставлено за мету дослідити вплив ω -3 ПНЖК на структурні зміни конексину-43 у «діабетичному» серці. Для досліді використано самців щурів, яких розподілено на 3 групи: 1 – контроль, 2 – щури зі стрептозотоциніндукованим (50 мг/кг) цукровим діабетом (ЦД), 3 – щури зі стрептозотоциніндукованим ЦД, які протягом 4 тиж отримували ω -3 ПНЖК (0,1 мл/100 г за добу). Виявлено, що за

допомогою ω -3 ПНЖК відбувається модифікація жирнокислотного складу клітинних мембран серця. За результатами імунофлуоресцентного аналізу при ЦД спостерігається порушення розподілу, дезорганізація і латералізація конексину-43, збільшення числа імунореактивних його частинок у вставних дисках порівняно з контролем. Отримання щурами ω -3 ПНЖК сприяло нормалізації розподілу конексину-43 при експериментальному ЦД, а число імунореактивних його частинок наблизилося до контрольних значень. Отже, вживання ω -3 ПНЖК покращує структурні зміни конексину-43, викликані ЦД, і може бути корисним у зниженні ризику серцево-судинних ускладнень за цієї патології.

ЭФФЕКТЫ ДЕГАЗАЦИИ КРОВИ IN VITRO

Зинченко А.А.

alinazina@gmail.com

Донецкий национальный университет

Содержание растворенного в крови воздуха *in vivo* может меняться под действием внешних физических факторов таких, например, как давление, ультразвуковые или электромагнитные поля. В настоящей работе исследованы биологические эффекты дегазации крови *in vitro*, с целью выявить влияние растворенного воздуха на функционирование форменных элементов крови и установить сопутствующие дегазации изменения показателей крови. Дегазация проводилась методом центрифугирования образцов крови или плазмы, для чего предварительно были получены градуировочные кривые, связывающие продолжительность центрифугирования со степенью дегазации. Показано, что последняя немонотонно влияет на скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и что эти изменения обусловлены, в первую очередь, дегазацией плазмы и адсорбцией микропузырьков воздуха на мембранах эритроцитов. Затем определялась концентрация глюкозы в плазме с различным содержанием растворенного воздуха, а также в самих эритроцитах, инкубированных в плазме после центрифугирования. Показано, что после 10 мин центрифугирования (согласно стандартной методике) содержание глюкозы в плазме снижается на 10%, увеличение продолжительности либо повторное центрифугирование выводит этот показатель за границы нормы для здоровых людей, а для больных сахарным диабетом – переводит в норму. При этом содержание гликозилированного гемоглобина (HbA1c) изменяется немонотонно с увеличением времени обработки плазмы как больных людей, так и здоровых. Исследование динамики свертывания плазмы показало, что активность свертывающей системы зависит от концентрации растворенного в плазме воздуха немонотонно. С ростом дегазации время свертывания по внутреннему пути резко растет, а по внешнему – падает. При этом увеличивается активность ионов кальция, инициирующих свертывание. После насыщения образцов плазмы воздухом активность протромбиназы возвращалась к исходному значению. При дегазации сыворотки крови наблюдается увеличение доли липидной части в β -липопротеидах. С ростом времени центрифугирования существенно уменьшается число лейкоцитов и увеличивается pH спинномозговой жидкости. Таким образом, неконтролируемое насыщение воздухом или дегазация крови может приводить к искажению результатов анализов и, как следствие, к некачественной диагностике.

ВПЛИВ ВЕГЕТАТИВНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ НА ЖОВЧОУТВОРЮВАЛЬНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

Калашник Г.В., Лященко Т.П., Весельський С.П.

gal4enok28@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Інтенсивність жовчосекреторної функції печінки та склад жовчі змінюється під впливом регуляторних факторів, в тому числі й автономної нервової системи. Встановлено, що подразнення парасимпатичних нервів посилює рівень холерезу та виділення з жовчю органічних компонентів, а симпатичних – послаблює. Однак проблема статевих особливостей впливу вегетативної нервової системи на жовчосекреторну функцію печінки щурів залишається маловирішеною, що і стало метою нашої роботи. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 200-250 г з відпрепарованою і канюльованою жовчною протокою під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Як блокатор М-холінорецепторів парасимпатичної нервової системи використовували атропін (0,15 мг/100

г, внутрішньоортально), симпатичної нервової системи – лабеталол (0,07 мг/100 г, внутрішньоортально). Визначення вмісту жовчних кислот (ЖК) проводили за методикою Весельського С.П. та співробітників (1991). Наші дослідження показали, що в контрольних групах рівень холерезу та вміст ЖК у секреті були більшими у самців. Після введення атропіну статистично значущі відмінності між рівнями холерезу самців і самиць зникають, але у самиць об'ємна швидкість холесекреції змінюється незначно, а у самців – знижується. Дебіт ЖК у жовчі самиць після введення атропіну статистично значущо вищий за такий у самців. Тобто блокада М-холінорецепторів призводить до зниження рівня холесекреції та виведення з секретом ЖК у самців та збільшення вмісту холатів у жовчі без змін у холерезі самиць. Під впливом лабеталола рівень холерезу зростає у самців та не змінюється у самиць. Дебіт ЖК у секреті самців після застосування лабеталола був статистично значущо вищим за такий у самиць і самців контрольної групи. Отже, введення неспецифічного блокатора нервової системи супроводжується підвищенням швидкості жовчоутворення та збільшенням дебіту ЖК у жовчі самців, та не викликає суттєвих змін цих показників у самиць. Таким чином, результати нашої роботи свідчать, що активуючий вплив парасимпатичної нервової системи на жовчоутворювальну функцію печінки та холестатичні ефекти симпатичної більш притаманні щурам-самцям. Самиці характеризуються відносною незалежністю від діяльності автономної нервової системи щодо холерезу.

ВПЛИВ ТРИЙОДТИРОНІНУ НА ЛАТЕНТНИЙ ПЕРІОД ЗБУДЖЕННЯ ВЕЛИКОГОМІЛКОВОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ (ДОСЛІДЖЕННЯ IN SITU)

Кметко І. Л.

v.sobolev@mail.ru

Донецький національний університет

Важливе значення в регуляції функціонального стану нервово-м'язової системи належить тиреоїдним гормонам. Метою нашої роботи було з'ясування в умовах *in situ* характеру впливу експериментального гіпер- і тиреотоксикозу на тривалість латентного періоду збудження переднього великогомілкового м'яза білих щурів. Експерименти були виконані на 30 білих щурах. У тварин першої групи викликали експериментальний гіпертиреоз підшкірним введенням протягом 4 діб трийодтироніну в дозі 15 мкг/кг. У тварин другої групи викликали експериментальний тиреотоксикоз (4 ін'єкції трийодтироніну в дозі 150 мкг/кг). Третя група була контрольною. Під час дослідження у тварини препарували малогомілковий нерв, який іннервує передній великогомілковий м'яз. У м'яз вводили два голчасті сталеві електроди. У тварин усіх груп вимірювали латентний період збудження м'язового волокна за допомогою реєстрації «М-відповіді» під час поодиноких подразнень нерва електричними імпульсами тривалістю 150 мкс. Для підсилення біопотенціалів застосовувався диференціальний підсилювач з режекторним гіраторним фільтром, цифровий дівайс (цифровий осцилограф TDS2004C з пам'яттю) і комп'ютер. Результати дослідів дали змогу зробити наступні висновки. По-перше, експериментальний гіпертиреоз викликав скорочення латентного періоду збудження м'яза. Так, якщо середнє значення латентного періоду для групи контрольних щурів становило $2,86 \text{ мс} \pm 0,064 \text{ мс}$, то у тварин з експериментальним гіпертиреозом – $1,34 \text{ мс} \pm 0,037 \text{ мс}$, тобто на 53 % менше ($P < 0,001$). По-друге, експериментальний тиреотоксикоз викликав протилежні зміни з боку латентного періоду. Так, час латентного періоду збудження м'яза щурів цієї групи становило $3,71 \text{ мс} \pm 0,083 \text{ мс}$, що було на 29 % менше ($P < 0,001$) за значення у щурів контрольної групи. По-третє, експериментальний гіпер- і тиреотоксикоз «спотворювали» класичний вигляд «М-відповіді». Зокрема, спостерігалось розщеплення як першої, так і другої фази сумарного потенціалу м'яза. Таким чином, експериментальний гіпер- і тиреотоксикоз використаних моделей викликають чіткі зміни з боку фундаментальної константи нервово-м'язової системи – латентного періоду збудження м'язових волокон моторної одиниці.

**ВПЛИВ АЗИТРОМІЦИНУ НА ТРАНСПОРТ ВОДИ ТА ЕЛЕКТРОЛІТІВ
ЧЕРЕЗ ЕПІТЕЛІЙ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ****Козьякова М., Довбинчук Т., Закордонець Л.¹, Толстанова Г.****Maria_Koziakova@ukr.net***Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ*

Механізми побічної дії антибіотиків на функціонування шлунково-кишкового тракту є недостатньо вивченими. Питання набуває ще більшого значення у зв'язку з виявленням не-антибактеріальної активності у багатьох групах антибіотиків, особливо макролідів (вплив на моторну функцію кишечника, секрецію кислоти шлунком, пригнічення експресії цитокінів еозинофілами тощо). Встановлено безпосередній вплив макролідів на механізми транспорту іонів через епітелій дихальних шляхів. Метою нашої роботи було з'ясувати механізми побічної дії тривалого застосування азитроміцину на транспорт води та електролітів через епітелій товстої кишки. Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Вістар (180-230 г). Азитроміцин (15 мг/кг, reg.os.) вводили щодня протягом 5 діб. На 6-ту добу вимірювали сумарний потік води та електролітів (Na, K, Cl) методом перфузії ізольованої ділянки кишечника *in vivo* на анестезованих щурах. Вміст малонового діальдегіду, активність каталази та супероксиддисмутази в слизовій товстої кишки визначали відповідно колориметричним аналізом і методом електрофорезу. Жирно-кислотний спектр ліпідів крові вимірювали методом газорідинної хроматографії. Визначали кількісний та якісний склад мікрофлори фекалій. Слід відмітити, що введення азитроміцину призводило до вірогідного збільшення всмоктування води (2,5 раза, $P < 0,001$), натрію (1,7 раза, $P < 0,001$), хлору (1,3 раза, $P < 0,05$) і зниження секреції калію ($P < 0,05$). Цей ефект корелював з двократним посиленням росту епідермального стафілокока, стрептококів та кандіди. У рівні біфідо- та лактобактерій змін не спостерігалось. Виявлено збільшення активності каталази ($P < 0,01$) та супероксиддисмутази ($P < 0,05$) в слизовій оболонці товстої кишки щурів після введення азитроміцину. Вміст малонового діальдегіду (показник інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів) залишався без змін. Введення азитроміцину не впливало на вміст поліненасичених і ненасичених жирних кислот у крові щурів. Таким чином, азитроміцин впливає на показники сумарного транспорту води та електролітів Na, K та Cl через епітелій товстої кишки щурів; тривале введення азитроміцину посилює ріст патогенної мікрофлори, що може бути причиною розвитку оксидативного стресу в слизовій оболонці товстої кишки.

**ВПЛИВ ЦИТИДИН-5'-ДИФОСФОХОЛІНУ НА ГЕМОДИНАМІКУ
У МАЛОМУ КОЛІ КРОВООБІГУ У ЩУРІВ****Лук'янчук А.П., Стрелков Є.В.****alinaluk17@mail.ru***Державна установа «Інститут фармакології та токсикології АМН України», Київ*

Цитидин-5'-дифосфохолін (ЦДФ-холін) – кон'югат нуклеотиду з холіном, є в усіх клітинах організму. Він широко використовується як ефективний фармакологічний препарат, який має нейропротекторні, мембраностабілізуючі та антиоксидантні властивості. Проте ефекти ЦДФ-холіну та його метаболітів на серцево-судинну систему мало досліджені. Метою нашої роботи було оцінити вплив ЦДФ-холіну на стан гемодинаміки у малому колі кровообігу. Дослідження проводили на дорослих білих щурах-самцях середньою масою $254 \text{ г} \pm 20 \text{ г}$ під хлоралозо-уретановим наркозом (внутрішньоочередово, 1:10, 40 г уретану на 100 г). У тварин вимірювали тиск крові у правому шлуночку серця та у лівій загальній сонній артерії, реєстрували електрокардіограму. Початковий середній артеріальний тиск (САТ) становив ($114,7 \pm 10,2$) мм рт. ст., а систолічний тиск у правому шлуночку (сТПШ) – ($27,4 \pm 2,1$) мм рт. ст. Внутрішньовенне введення ЦДФ-холіну у дозі 100 мг/кг призводило до розвитку легеневої гіпертензії, а також супроводжувалося транзиторним підвищенням системного артеріального тиску. Протягом перших 3 хв після введення сТПШ підвищувався на 40 % (до $38,4 \pm 3,9$) мм рт. ст. ($n = 10$; $P < 0,05$). Надалі він поступово знижувався і на 20-й хвилині спостереження був ($34,6 \pm 3,5$) мм рт.ст., що на 26 % вище від початкового рівня ($P < 0,05$). Час дії ЦДФ-холіну був приблизно 60 хв. Максимальне значення САТ реєструвалося протягом першої хвилини і було на 18 % вище від вихідного значення – ($135,5 \pm 6,5$) мм рт. ст. ($n = 10$; $P < 0,05$). Приблизно через 5-7 хв після введення САТ нормалізувався і надалі знижувався до ($109,2 \pm 13,2$) мм рт. ст. на 20-й хвилині ($P > 0,05$). Вплив ЦДФ-холіну на роботу серця був несуттєвим: спосте-

рігалося невелике зменшення частоти серцевих скорочень ($3296,5 \pm 35,8$ до $273,6 \text{ с}^{-1} \pm 36,2 \text{ с}^{-1}$, $P < 0,05$) та скорочення інтервалу QTc ($3176,5 \pm 24,7$ до $163,3 \text{ мс} \pm 23,7 \text{ мс}$, $P > 0,05$). Отже, дія ЦДФ-холіну викликає виражену легеневу гіпертензію тривалістю приблизно 60 хв, але істотно не впливає на роботу серця та системну гемодинаміку. Механізми впливу ЦДФ-холіну на стан гемодинаміки у малому колі кровообігу потребують подальшого дослідження.

БІОХІМІЧНІ ТА ЕЛЕКТРОЛІТИЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ В УМОВАХ АКТИВАЦІЇ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ

Львов О.С., Шейко В.І.

lvov.as@mail.ru

Луганський національний університет імені Тараса Шевченка

Згідно з теорією імунорегулюючих функцій організму можна припустити, що імунокомпетентні клітини мають значний вплив на формування гомеостазу і тим самим впливають на показники електролітів. У свою чергу показники гомеостазу характеризують стан окремих органів та систем. Враховуючи все вищевикладене, метою нашої роботи стало вивчення показників гомеостазу, а саме біохімічних та електролітичних констант, в умовах активації неспецифічної ланки імунітету. Дослідження на статевозрілих кролях проводили на базі кафедри анатомії і фізіології людини та тварин Луганського національного університету імені Тараса Шевченка і на базі біохімічної лабораторії реанімації Луганської обласної дитячої клінічної лікарні. Використовували такі методики: визначення загальної кількості лейкоцитів у периферичній крові, лейкоцитарної формули, загальної та відносної кількості моноцитів, нейтрофілів, загальної та відносної кількості Т-лімфоцитів усіх їх субпопуляцій, В-лімфоцитів, природних кілерів, концентрацію імуноглобулінів класів Ig A, Ig M, Ig G у сироватці крові; та біохімічні показники крові (білірубін, креатинін, хлор, натрій, калій, загальний білок, сечовина, тимолова проба, АсАТ, АлАТ, α -амілаза та альбумін). Як імуностимулятор використовували тимоген, протягом 3 діб. Для тимогену викликала зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів, за рахунок всіх їх субпопуляцій, незначне зростання числа В-лімфоцитів, але при цьому спостерігалось збільшення загальної кількості лейкоцитів внаслідок зростання кількості моноцитів і нейтрофілів. Слід відмітити також збільшення концентрації креатиніну в сироватці периферичної крові, що вказує на функціональне навантаження на печінку. Інші біохімічні показники крові, які ми досліджували, не відрізнялися від вихідних значень. Встановлено, що активація неспецифічного антиінфекційного захисту організму не викликала ніяких змін показників електролітів периферичної крові. Таким чином, неспецифічний антиінфекційний захист організму має мінімальний вплив на показники гомеостазу.

КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ПЕПТИДОГЛІКАНУ ЗОЛОТИСТОГО СТАФІЛОКОКА НА СКОРОЧЕННЯ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ МАТКИ ЕСТРОГЕНІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Насібян Л.С., Філіппов І.Б.

lilit_nasib@mail.ru

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Патогенність стафілокока зумовлена його здатністю виділяти в навколишнє середовище під час росту і руйнування клітинної стінки біологічно активні полімери – пептидоглікан, ліпoteйхоєві кислоти, білок А. Останні стимулюють розвиток типового запального процесу, призводячи до порушення функціонування органів або тканин. Скорочення гладеньких м'язів матки контролюється гормонами яєчників і змінюється протягом менструального циклу, виконуючи не тільки трофічну функцію, але й є необхідною умовою для нормального перебігу процесів запліднення і настання вагітності. Зміна скоротливості невагітної матки під дією бактеріальних ендотоксинів спричинює порушення цих фізіологічних процесів. Метою нашої роботи було вивчення клітинних механізмів дії компонента клітинної стінки золотистого стафілокока пептидоглікану на скорочення гладеньких м'язів матки естрогенізованих щурів. Прикладання пептидоглікану в максимальній ефективній концентрації ($3 \text{ мкг} / \text{мл}$) призводить до збільшення амплітуди спонтанних скорочень в середньому на 30%, тривалості одиночного фазного скорочення – на 40% та індексу скоротливості ($CI = F_{\text{max}} \cdot (+dF / dt) : -dF / dt$) – на 73% відносно контролю. Дослідження показали, що в основі дії пептидоглікану

на гладенькі м'язи міометрія знаходиться його здатність активувати утворення медіатора запалення – фактора активації тромбоцитів. Останній ініціює активацію не тільки фосфоінозитидного сигнального шляху, а й таких регуляторних протеїнкіназ, як фосфатидилінозитол-3-кінази, екстрацелюлярної сигналрегульованої кінази 1 / 2 (ЕРК S) і р38 мітогенактивованої протеїнкінази (р38 МАК). Сигнальні шляхи ЕРК S і р38 МАК мають домінуюче значення у потенціюванні скорочувальної активності гладеньких м'язів міометрія щурів під дією пептидоглікану. Таким чином, в основі посилення скоротливості гладеньких м'язів міометрія пептидогліканом знаходиться його здатність генерувати утворення фактора активації тромбоцитів і залучення множинних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів.

СТРЕСІНДУКОВАНІ ПОРУШЕННЯ ТРАНСПОРТУ ТА УТИЛІЗАЦІЇ КИСНЮ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЩУРІВ

Опанасенко Г.В.

nosar@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Розповсюдженість захворювань пародонта в осіб молодого віку, різноманітність етіологічних факторів, недостатня з'ясованість патогенетичних ланок пошкодження, недосконалість первинної та вторинної профілактики захворювань зумовлює актуальність проведення подальших досліджень у цих напрямках. Серед основних ризик-факторів ушкодження тканин пародонта є стрес, але при цьому залишаються недостатніми киснезалежні механізми стресіндукованих пошкоджень м'язових і твердих тканин. Метою нашої роботи було дослідження показників транспорту та утилізації кисню в тканинах пародонта щурів при хронічному іммобілізаційному стресі та вплив на ці параметри тіотриазоліну - препарату з антиоксидантною дією. Робота проведена на 20 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200г. Стрес відтворювали розміщенням тварин в індивідуальних тисних пеналах, які забезпечували суворе горизонтальне їх положення, по 6 год щоденно протягом 14 діб. Контролем були інтактні тварини. Ефективність експериментального відтворення стресу при хронічній іммобілізації щурів оцінювали за зміною маси надниркових залоз і тимуса, наявністю виразок на слизовій оболонці шлунка. Для визначення напруження кисню (P_{O_2}) в м'язих тканинах пародонта та швидкості поглинання O_2 кістковою тканиною альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів використані полярографічні методи дослідження. Показано, що хронічна іммобілізація тварин призводить до зниження P_{O_2} в яснах вірогідно щодо контролю (на 30%). Швидкість поглинання кисню кістковою тканиною пародонта у стресованих щурів знижується на 47% в порівнянні з контролем. У групі тварин, яким перед щоденною іммобілізацією вводився внутрішньом'язово розчин тіотриазоліну (50 мг на 1кг маси тіла), P_{O_2} знижувався на 18%, а швидкість поглинання кисню на 28% в порівнянні з контрольними значеннями, тобто відбувалося покращення умов транспорту та утилізації кисню в тканинах пародонта.

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У АУТОФАГІЧНИХ КАРДІОМІОЦИТАХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДИКИ SINGLE-CELL RT-PCR У РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ

Пашевін Д.О., Гур'янова В.Л., Тумановська Л.В., Досенко В.Є., Мойбенко О.О.

Den-win@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Відомо, що за умов патологічних впливів у клітинах поряд з некротичною загибеллю можуть реалізуватися процеси апоптозу та аутофагії. Як на клітинному, так і на тканинному рівнях перебіг патологічного процесу багато в чому буде залежати від того, який шлях загибелі переважатиме. Нині внутрішньоклітинні механізми реалізації клітинної загибелі вивчені недостатньо, а одночасна наявність різних видів загибелі в популяції клітин за однакових умов дає змогу зробити припущення про наявність генетичних чинників у реалізації цих процесів. Основною метою нашої роботи було дослідження відмінностей у експресії генів, що відіграють важливу роль у розвитку аутофагії – генів mTOR (від англ. mammalian target of rapamycin) та убіквітину. Досліди проведені на первинній культурі кардіоміоцитів щура. Наявність аутофагії визначалася суправітальним забарвленням флуоресцентним барвником монодансилкадаверином (специфічно забарвлює аутофагічні вакуолі). Окремі клітини з культури забирали за допомогою скляної мікропіпетки (D=4-5 мкм). З застосуванням набору Taq Man Fast Cells-to-Ct проводили зворотну транскрипцію з використан-

ням рендомного гексамерного праймера. Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі за допомогою технології SYBR Green. Рівень експресії генів убіквітину та mTOR стандартизували за експресією house-keeping гена (β -актин). Було встановлено наявність відмінностей в експресії генів убіквітину та mTOR у контрольних клітинах та клітинах з ознаками аутофагії. Зокрема, рівень експресії гена убіквітину в аутофагічних клітинах був меншим у 5,66 рази ($P=0,04$) у порівнянні з контролем. Рівень експресії гена mTOR був вищим у аутофагічних клітинах (в 1,43 рази порівняно з контролем, $P>0,05$). Отримані результати дають змогу стверджувати, що розвиток аутофагії залежить від вихідного рівня експресії генів, що зумовлює гетерогенність популяції культивованих кардіоцитів.

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ СІРКОВОДНЮ НА КАЛЬЦІЙІНДУКОВАНЕ ВІДКРИВАННЯ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ПОРИ У СЕРЦІ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

**Семеніхіна О.М., Струтинська Н.А., Чорна С.В., Вавілова Г.Л., Сагач В.Ф.
veritatessplendor@i.ua**

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Останнім часом з'явилися нові дані, які дають можливість розглядати сірководень, як новий газовий трансмітер. Проте його фізіологічна роль у серцево-судинній системі та механізми дії ще не з'ясовані. Метою нашої роботи було вивчення впливу донора сірководню гідросульфиду натрію (NaHS), а також субстрату його біосинтезу – L-цистеїну на чутливість мітохондріальної пори (МП) до природного індуктора її відкриття Ca^{2+} у серці дорослих і старих щурів. Експерименти проводили на ізольованих мітохондріях, з тканин серця дорослих і старих щурів. Відкриття МП реєстрували спектрофотометрично ($\lambda=520$ нм). Досліджували вплив NaHS у діапазоні концентрацій 10^{-12} - 10^{-4} моль/л на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця дорослих і старих щурів. У межах концентрацій NaHS 10^{-6} - 10^{-4} моль/л спостерігали дозозалежне зменшення набухання як у дорослих, так і у старих щурів, що свідчить про захисний ефект сірководню щодо відкриття МП. Преінкубація суспензії мітохондрій серця зі специфічним інгібітором мітохондріальних K_{ATP} -каналів 5-гідроксидеканоатом (10^{-4} моль/л) спричиняла послаблення протекторного ефекту NaHS (10^{-5} моль/л) щодо кальційіндукованого відкриття МП, що свідчить про можливе залучення цих каналів до вказаного ефекту. При дослідженні впливу NaHS у межах концентрацій 10^{-12} - 10^{-8} моль/л на набухання ізольованих мітохондрій у безкальцієвому середовищі спостерігали помірне набухання органел серця як у дорослих, так і старих тварин. Показано, що такий ефект певною мірою спричинено активацією мітохондріальних K_{ATP} -каналів щурів. В експериментах при одноразовому введенні щурам NaHS (10^{-4} моль/кг) і L-цистеїну (10^{-3} моль/кг) за годину до декапітації було встановлено зменшення чутливості МП до Ca^{2+} у серці щурів. При цьому дія L-цистеїну виявилась більш ефективною. Використання специфічного блокатора ферменту цистатіонін- γ -ліази – пропаргілліцину у кількості 10^{-4} моль/кг ваги спричиняло підвищення чутливості до кальційіндукованого відкриття МП у серці старих щурів, на відміну від дорослих. Отримані нами результати свідчать про важливу і неоднозначну роль сірководню в модуляції змін проникності мітохондріальних мембран.

ВПЛИВ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ

Янко Р.В.

biolag@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Метою проведених досліджень було вивчення впливу дозованої нормобаричної гіпоксії (ДНГ) на функціональну активність паренхіми щитоподібної залози. Дослідження впливу ДНГ здійснювали на 24 щурах-самцях лінії Вістар віком 12 міс. Щурів розділили на 2 групи: I група – контрольні щури та II група – тварини, які щодня отримували ДНГ (10% кисню в азоті) протягом 30 хв. Тривалість експерименту становила 28 діб. По завершенні досліджу з обох часток щитоподібної залози виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. Проведені дослідження по-

казали, що щитоподібна залоза як контрольних, так і дослідних груп тварин має не змінену будову зі збереженням її основних структурних елементів. Вона містить фолікули овальної та видовженої форми різного розміру. У дослідній групі тварин середня площа поперечного перерізу фолікула була менша від контролю на 10%. У щурів, що зазнавали впливу ДНГ, виявляли тироцити кубічної та призматичної форми з середньою висотою на 20% ($P < 0,05$) більшою від контролю. При цьому внутрішній діаметр фолікула був нижчим від значення контрольної групи на 9%. Колоїд у фолікулах переважно помірної щільності, з добре вираженими резорбційними вакуолями. Площа колоїду менша від контролю на 20% ($P < 0,05$). Кількість тироцитів в одному фолікулі в середньому становила 28. Відмічено зростання фолікулярно-колоїдного індексу (на 28%; $P < 0,05$) та зниження індексу накопичення колоїду (на 25%; $P < 0,05$) у щурів, що зазнавали впливу ДНГ. Отже, зменшення середньої площі поперечного перерізу фолікулів та площі колоїду, збільшення висоти тиреоїдного епітелію та зменшення внутрішнього діаметра фолікулів, наявність в колоїді резорбційних вакуолей, підвищення фолікулярно-колоїдного індексу та зниження індексу накопичення колоїду свідчить про стимулюючий вплив дозованої нормобаричної гіпоксії на функціональну і синтетичну активність щитоподібної залози.

ЮВІЛЕЙНІ ДАТИ



Олексій Олексійович Мойбенко
(до 80-річчя з дня народження)

Все радості життя – в творчестві

Восточная мудрость

Олексій Олексійович Мойбенко – видатний український учений-патофізіолог, ім'я якого широко відоме за межами нашої країни, академік НАН України, доктор медичних наук, професор, завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, президент наукового товариства патофізіологів України, двічі лауреат Державних премій України в галузі науки і техніки, премій НАН України ім. О.О.Богомольця та М.Д. Стражеска – 7 жовтня 2011 р. відзначає славний ювілей: 80 років від дня народження та 55 років наукової, науково-організаційної та педагогічної діяльності.

Вже перші кроки наукової діяльності Олексія Олексійовича були пов'язані з вивченням патогенезу найбільш розповсюджених захворювань – патології серцево-судинної системи. У 1956 р., працюючи лікарем у відділі патофізіології Інституту

клінічної медицини ім. М.Д. Стражеска, Олексій Мойбенко самостійно проводить наукові дослідження з проблем кровообігу малого кола та в 1964 р. захищає дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук на тему «Гемодинамічні відносини між великим та малим колом кровообігу при гострій артеріальній гіпертензії». Подальший шлях лікаря-науковця нерозривно пов'язаний із Інститутом фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, де з 1964 р. він працює на посаді старшого наукового співробітника, а з 1974 р. – очолює відділ експериментальної кардіології, що згодом за ініціативою ювіляра отримав нову назву – відділ загальної та молекулярної патофізіології. У 1973 р. під керівництвом академіка М.М. Горєва О.О. Мойбенко захищає докторську дисертацію на тему «Роль рецепторних зон серця в регуляції кровообігу». З 1992 р. О.О.Мойбенко очолює наукове товариство патофізіологів України, він є членом ради Міжнародного товариства патофізіологів, членом Міжнародного товариства з вивчення серця.

О.О. Мойбенко зробив великий внесок у розвиток фізіології та патофізіології серцево-судинної системи та імунопатології серця. Значних успіхів вдалося досягти вченому при вивченні кардіогенних рефлексів, патогенезу гострого інфаркту міокарда, ішемічно-реперфузійного синдрому та у розробці нових методів фармакотерапії зазначених патологічних станів. Важливою рисою академіка Мойбенка є унікальна здатність поєднувати теоретичні надбання експериментальної патофізіології з запитами клінічної медицини. Блискучим прикладом цього є створення ним нових методів моделювання гострої ішемії та реперфузії серця, розробка та впровадження в клінічну практику нових методів терапії гострого інфаркту міокарда. Зокрема, під керівниц-

твом О.О.Мойбенка було створено перший в світі водорозчинний препарат кверцетину – «Корвітин», що успішно пройшов клінічні випробування та знайшов широке застосування в кардіологічній практиці як інгібітор ліпоксигенази та антиоксидант. Значним теоретичним здобутком наукової праці Олексія Олексійовича останніх років є створення оригінальної концепції ендогенних механізмів кардіопротекції та переважного ураження гальмівних ланок функціональних систем при розвитку різноманітних патологій. Ці погляди узагальнені у великій колективній монографії за редакцією академіка Мойбенка «Эндогенные механизмы кардиопротекции». В цілому О.О.Мойбенко є автором 6 монографій та близько 450 наукових публікацій. Велику увагу він приділяє підготовці наукових кадрів – під його керівництвом захищено 5 докторських та 30 кандидатських дисертацій. Особливістю О.О. Мойбенка як керівника великого наукового колективу є його справжній демократизм, простота, доступність, вміння розпізнати в молодому науковці найкращі здібності. З Олексієм Олексійовичем можна дискутувати, обговорювати будь-яку тему і, навіть, сперечатися. Як писав Л. Бланкі: «Можна поступитися силі, але беззаперечно підкоряються лише розуму». Саме у відділі академіка О.О. Мойбенка панує атмосфера справжнього наукового пошуку, відданості науці, доброзичливості та взаєморозуміння.

Як науковець Олексій Олексійович вдало поєднує особливості двох типів учених: учених-аналітиків, які роблять узагальнення на основі отриманих наукових фактів, і вчених-творців, які не тільки узагальнюють наукові факти, але й вказують нові напрямки в науці, охоплюючи думкою цілу наукову галузь, оцінюючи її

досягнення і недоліки, її ключові проблеми і невирішені питання. Він учений-новатор, людина з особливо розвинутим почуттям актуальних напрямків науки сьогодення, творець оригінальних концепцій та експериментальних підходів, на основі яких і побудована наукова піраміда досягнень керованого ним колективу. Його наукове кредо співзвучне словам Б.Пастернака:

Цель творчества – самоотдача,
А не шумиха, не успех...
И надо жить без самозванства
Так жить, чтобы в конце концов
Внушить к себе любовь пространства,
Услышать будущего зов!

Академік О.О. Мойбенко є відомим у всьому світі вченим-патолофізіологом завдяки десяткам виступів на наукових конференціях і з'їздах та симпозиумах із викладенням результатів досліджень, що переважно мають пріоритетний характер. Відомо, що нині наука є результатом роботи великої кількості вчених і наукових шкіл. Олексія Олексійовича, безумовно, можна вважати лідером у галузі патологічної фізіології як основного напрямку медичної науки, що створює її міцний фундамент. Наукову діяльність ювіляр успішно поєднує з науково-організаційною та суспільною роботою, керуючи Українським товариством патолофізіологів (з 1992 р.), беручи участь у роботі ВАК СРСР (1983–1988), ВАК України (1995–1997), комітету з присудження державних премій України, є членом бюро відділення НАН України, членом редакційних колегій низки медичних журналів. З нагоди ювілею колектив Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України вітає Олексія Олексійовича і бажає міцного здоров'я та довгих років плідної творчої наукової праці.

Колеги, співробітники, учні.



**Рибальченко Володимир Корнійович
(на честь 70-річчя з дня народження)**

П'ятого вересня 2011 р. виповнилося 70 років талановитому вченому, заслуженому діячеві науки і техніки України, доктору біологічних наук, професорові Рибальченку Володимир Корнійовичу. Народився він в селянській родині у Шевченковому краї. У суворі повоєнні роки відмінно закінчив Кайтанівську семирічну школу, далі – з відзнакою Звенигородський сільськогосподарський технікум і у 1961 р. вступив до біологічного факультету Київського державного університету ім. Т.Г. Шевченка. 1964 р. він як кращий студент (стипендія ім. О.О. Богомольця) був переведений з кафедри біохімії і біофізики Київського університету на кафедру біофізики Московського державного університету ім. М.В.Ломоносова для продовження навчання зі спеціальності біофізика. Зі студентських років захоплювався науковими дослідженнями під керівництвом академіків В.А. Беліцера і П.Г. Богача (Київ) та С.Є. Северіна і О.С. Спірна (Москва). Перша робота «Чи існують антикодони?» опублікована у 1964 р.

По закінченні з відзнакою університету у 1966 р. – перший диплом біофізика в

Україні – В.К. Рибальченко обійняв посаду асистента Київського університету, де і пройшла його наукова і педагогічна кар'єра від асистента до професора і декана факультету. З 1966 р. і до сьогодні він читає лекції і проводить практичні заняття на біологічному факультеті, яким притаманні оригінальність, багатогранність і сучасний рівень досягнень мембранології і фізико-хімічної біології. Його навчальна і навчально-методична робота знаходять схвальні відгуки серед студентів і науковців. У 1972–1974 рр. – заступник декана, а в 1978–1979 рр. – декан біологічного факультету. З 1985 р. він професор біологічного факультету, провідний і головний науковий співробітник, завідувач лабораторії мембранології (тепер – науково-дослідний сектор «Мембранології і цитології») та науковий керівник міжфакультетської НДЛ «Біологічно активні речовини» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. З 1994 по 2007 р. – завідувач кафедри медичної біології Медичного університету (за сумісництвом). У 1970 р. захистив кандидатську дисертацію за спеціальністю біофізика, а у 1988 – докторську дисертацію за спеціальностями біохімія і фізіологія людини і тварин.

Професор Рибальченко В.К. – талановитий викладач і один з провідних в Україні і за кордоном учених-біологів в галузі мембранології і фізико-хімічної біології. Ним і під його керівництвом одержано пріоритетні результати щодо фундаментальних досліджень АТФазних і транспортних властивостей клітинних мембран гладеньких м'язів тонкого кишечника. Вивчена регуляція Ca^{2+} -наосу плазматичних мембран (ПМ) гладеньком'язових клітин кальмодуліном і окситоцином, запропонований новий маркерний фермент окситоцин-чутлива, Mg^{2+} -залежна, Ca^{2+} -активна АТФаза. Розроблений спосіб імплантації фрагментів ПМ у штучні ліпідні

бішари (БЛМ) і вперше реконструйована калієва і кальцієва провідності. Встановлена електрогенність і зворотність натрій-кальцієвого обміну. Вперше показана поверхнева активність блокатора Ca^{2+} -насоса окситоцином, утворення гормоном потенціалзалежних іонних каналів як у БЛМ, так і у функціонально активному комплексі «ПМ-БЛМ». Запропонована гіпотеза зв'язування окситоцину з ПМ (стаття опублікована в ДАН ССРСР за рекомендацією П.Г.Костюка): молекула гормону, взаємодіючи з ліпідами ПМ, набуває єдиної фізіологічно активної конформації. Йому і його науковій школі з мембранології належать відкриття безрецепторної хімічної міжклітинної сигналізації і створення сучасної моделі молекулярної організації клітинних мембран.

Творчий доробок Рибальченка В.К. – понад 550 наукових і навчальних праць (одноосібних і у співавторстві). Серед яких три підручники, чотири монографії, 12 патентів і авторських свідоцтв на винаходи та 15 навчальних посібників з грифом МОН України, за які вчена рада Київського університету у 2008 р. присудила йому премію ім. Тараса Шевченка. Окремі з навчальних посібників («Биохимическая кинетика», «Структура и функции мембран», «Физиология и биохимия пищеварения животных и человека») використовуються і у навчальних процесах університетів країн СНД, зокрема у Московському університеті ім. М.В. Ломоносова, випускником якого і є сам автор.

Значний внесок В.К. Рибальченка в підготовці та атестації науково-педагогічних кадрів вищої кваліфікації. Під його науковим керівництвом успішно захищено 26 кандидатських і 3 докторські дисертації, вперше в Україні створив і тривалий час очолював спецраду з захисту докторських дисертацій з цитології, є членом кількох

спецрад, бере участь в організації і роботі республіканських і міжнародних наукових симпозіумів, конференцій і з'їздів біофізичного, біохімічного, токсикологічного і фізіологічного товариств України. Протягом багатьох років він – член редколегій кількох наукових часописів і головним редактором фахового видання «Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології», яке видається спільно Київським національним університетом ім. Тараса Шевченка і Луганським державним медичним університетом.

Висока цілеспрямованість і воля, принциповість і професіоналізм, добропорядність і доброзичливість, а також високе почуття гумору (протягом короткого періоду нашого «тверезого» життя сам випускав стінгазету «Алкогольдегідрогеназа») у спілкуванні з колегами, студентами і з учнями здобули Володимирі Рибальченку заслужений авторитет у науковій спільноті України та світі. Його особистий внесок у науку сприяв розвитку біохімії і біофізики мембран кінця ХХ – початку ХХІ сторіч.

Визнанням вагомих результатів наукової і педагогічної діяльності професора Рибальченка В.К. є достатній індекс цитування його праць, членство в International Academy of Cardiovascular Sciences та The New York Academy of Sciences, призначення вченим секретарем, заступником голови і головою експертної ради з біологічних наук Вищої атестаційної комісії України, нагородження трьома медалями і почесним званням «Заслужений діяч науки і техніки України».

Хай здоров'я, радість і достаток
Сиплються немов вишневий цвіт,
Хай малює доля з буднів свято
І дарує Вам багато літ!

Колеги, співробітники та учні



**Юрій Петрович Лиманський
(до 80-річчя з дня народження)**

Юрій Петрович Лиманський народився в м.Ставрополі 19 листопада 1930 р. У 1954 р. закінчив навчання у Ставропольському медичному інституті, після чого чотири роки працював лікарем, але потяг до дослідницької роботи привів його в Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця АН УРСР, де у 1958 р. він був зарахований до аспірантури у відділ загальної фізіології нервової системи професора Платона Григоровича Костюка. Очолюваний П.Г.Костюком колектив науковців був першим в УРСР, де розроблялися, створювалися та застосовувалися нові методи дослідження нейронів спинного мозку та стовбурових структур за допомогою мікроелектродної техніки. Під час роботи над кандидатською дисертацією «Функциональные особенности отдельных нейронов ретикулярной формации» розкрився особистий хист Лиманського до самостійної наукової роботи. Після успішного захисту кандидатської дисертації (1962)

Ю.П.Лиманський протягом багатьох років досліджував синаптичну організацію та зв'язки нейронів стовбурових ядер трійчастого, лицевого, додаткового і під'язикового нервів. Результати цих досліджень увійшли у його докторську дисертацію «Структура и функции тройничного нерва», яку він захистив у 1972 р. Матеріали цієї фундаментальної праці увійшли до першої монографії Ю.П.Лиманського «Структура и функции системы тройничного нерва», що була надрукована у 1976 р.

З 1972 по 1979 р. Юрій Петрович обіймав посаду вченого секретаря Інституту. Його талент як організатора науки розкрився повною мірою на посаді заступника директора (1968) з наукової частини Інституту фізіології ім.О.О.Богомольця АН УРСР.

У ці роки Юрій Петрович брав активну участь у створенні та розробці комплексу апаратури для електрофізіологічних досліджень. У 1976 р. він разом з групою наукових співробітників одержав Державну премію у галузі науки і техніки України. У 1988 р. Ю.П. Лиманський отримав звання професора. З 1979 р. він очолює відділ фізіології стовбура мозку. Продовження досліджень синаптичної організації і функцій різних мозкових структур згодом завершилося узагальненням і написанням монографії «Рефлексы ствола головного мозга», за яку у 1987 р. Ю.П.Лиманському було присуджено премію ім.О.О.Богомольця АН УРСР.

У цій монографії Ю.П.Лиманський зробив глибокий аналіз не тільки власних експериментальних досліджень стосовно функціональної організації різних типів нейронів ретикулярної формації, а також узагальнив дані вчених багатьох наукових центрів інших країн світу, які вивчали фізіологію черепно-мозкових нервів. Ця праця дала йому змогу зрозуміти роль

нейронних ядер стовбура мозку, що беруть участь у захисних, пристосувальних і регуляторних функціях системи трійчастого нерва.

Ю.П. Лиманський є видатним ученим у галузі нейрофізіології. Основні напрямки його наукової діяльності: вивчення функціональної організації ретикулярної формації та ядер черепно-мозкових нервів; фізіологія болю і знеболювання; розробка методів усунення болю у людини; дослідження анальгетичних властивостей надслабких електромагнітних полів. Він виявив і вивчив низку важливих властивостей функціональної організації нейронних структур стовбура мозку, а також синаптичні процеси в ретикулярній формації.

У книзі «Фізіологія болю» (1986) Ю.П. Лиманським була запропонована гіпотеза про біль як багатопрограмну послідовну реакцію організму. За цією гіпотезою перша програма – це відчуття, що відіграє роль попереджувального сигналу; друга програма – це емоційна відповідь загальної захисної реакції організму, а третя – відображає емоційну відповідь загальних захисних реакцій, спрямованих на створення умов, які сприяють загоюванню пошкоджень.

На основі дослідницького матеріалу, отриманого Ю.П.Лиманським та його співробітниками, а також багатьох експериментальних даних різних наукових колективів світу, у 1987 р. ним була сформульована оригінальна нова концепція, за якою всі нейронні структури стовбура мозку можуть бути об'єднані у три морфофункціональні системи (рефлекторну, інтегративну і нейрорегуляторну), а також показано механізм їхньої взаємодії і роль кожної з них у роботі головного та спинного мозку. За цією концепцією участь морфофункціональних систем стовбура мозку в забезпеченні важливих функцій організму ґрунтується на здатності його інтегративної системи об'єднувати окремі прості рефлек-

си у складні рефлекторні акти, керовані нейрорегуляторними системами. Ця повністю оригінальна концепція дає змогу повному бачити функції складових елементів і діяльність окремих рефлекторних дуг, шляхи і механізми їх об'єднання у прості рефлекси та складні рефлекторні акти, засоби регулювання окремих параметрів рефлексів у відповідних конкретних умовах існування організму, роль ретикулярної формації, а також нейрорегуляторних аміно- і пептидергічних систем у керуванні функціями мозку.

У 1990 р. Ю.П.Лиманським була запропонована гіпотеза про те, що точки акупунктури є рецепторами електромагнітних полів, які належать до особливої сенсорної системи, яку він назвав системою «екоцептивної чутливості». На думку автора, ця система являє собою особливий аферентний вхід, через який організм постійно контролює якісні і кількісні показники факторів зовнішнього середовища (електромагнітні поля космосу, магнітне поле Землі, метеофактори), які у разі значних відхилень можуть змінювати діяльність життєво важливих функціональних систем організму. Ця інформація інтегрується в мозку з аналогічною інформацією, що надходить від внутрішніх органів через систему вісцеросенсорної чутливості, і використовується мозком для запуску адаптивних механізмів, спрямованих на послаблення або повну компенсацію негативних змін у функціональних системах організму.

У 2004 р. професором Ю.П.Лиманським у співавторстві з академіком УАН Н.Д.Колбуном запропонована інформаційно-хвильова гіпотеза болю, згідно з якою в організмі існує дві системи рецепції ноцицептивних стимулів. Перша належить нервовій та ендокринній системам, що формують больові реакції, а друга здійснюється через «живий матрикс» – єдину систему сполучної тканини, що зв'язує

зовнішнє середовище через точки акупунктури з міжклітинним простором, а також з внутрішньоклітинними структурами кожної клітини. При цьому «живий матрикс» виконує «інформаційне» керування фізіологічними процесами в організмі та регулює електромагнітні показники організму – «електромагнітний гомеостаз».

В останнє десятиріччя у відділі фізіології стовбура мозку під керівництвом професора Ю.П. Лиманського в співпраці з професором С.О. Гуляром проводяться дослідження механізмів пригнічення соматичного та вісцерального болю з допомогою активації ендogenous (опіоїд-ергічної, серотонінергічної та NO-синтазної) протибольових систем. Доведено, що суттєву роль в анальгезії, викликаній дією низькоінтенсивних електромагнітних полів оптичного і мікрохвильового діапазону, відіграють нейрони опіоїд-ергічної та серотонінергічної систем стовбура головного мозку. Також вивчено роль цих протибольових систем у пригніченні соматичного і вісцерального болю у тварин, які знаходились у стані стресу, а також у тварин з порушеннями генотипу.

Одночасно було отримано нові експериментальні докази того, що точки акупунктури здатні сприймати енергію електромагнітних полів і трансформувати її в складні рефлекторні процеси, спрямовані на підтримку стабільності функцій організму. Цій проблемі присвячено ґрунтовний огляд «Научные основы акупунктуры», надрукований у 2007 р.

Поруч з фундаментальними теоретичними та експериментальними дослідженнями професор Ю.П. Лиманський у співавторстві запропонував принцип комп-

лексного лікування больових синдромів остеохондрозу хребта людини (1988 р.); розробив практичні посібники для лікування різноманітних больових синдромів опорно-рухового апарату людини за допомогою білого та кольорового поляризованого світла (2004, 2006, 2011), а також написав монографію про застосування в практичній медицині постійних магнітних полів (2006 р.). Результати його досліджень мають виняткове значення не тільки для теоретичної, але і практичної медицини і фізіології.

Багато років Ю.П. Лиманський є професором Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка і Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут», де читає лекції з анатомії та фізіології людини. Студенти Київського національного університету виконують курсові та дипломні роботи у відділі, яким понад 30 років керує Ю.П. Лиманський. Під його науковим керівництвом підготовлено та успішно захищено 10 кандидатських дисертацій. Професор Ю.П. Лиманський є автором 285 наукових праць, серед яких – 16 монографій. Результати його досліджень увійшли у два розділи підручників з нейрофізіології.

Професор Ю.П. Лиманський є членом Міжнародної організації з вивчення мозку, Міжнародної і Української асоціації з дослідження болю, членом редакційної колегії міжнародного журналу “Нейрофізіологія /Neurophysiology”. За великий особистий внесок у розвиток фізіологічної науки та підготовку висококваліфікованих наукових кадрів його нагороджено орденом Трудового Червоного Знамени (1984) та грамотою Верховної ради України (2004).

Колеги, співробітники, учні.

