

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**Карантыш Галина Владимировна**

**ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ  
РЕАКЦИЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В МОЗГЕ КРЫС В  
МОДЕЛЯХ ИШЕМИИ/ГИПОКСИИ**

Специальность 03.03.01 – Физиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:  
Доктор биологических наук, профессор  
Менджерицкий Александр Маркович

Ростов-на-Дону

2014

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГГ – гипоксическая гипоксия

ГемГ – гемическая гипоксия

ДА – дофамин

КА – коэффициент асимметрии

Л – левосторонние побежки и ротации

ЛЛП – леволатеральный профиль

ЛСА – левая сонная артерия

ЛСС – левые стволовые структуры

л/о – ложная операция

НА – норадреналин

ОСА – окклюзия сонных артерий

ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии (Л - левой СМА; П – правой СМА)

П – правосторонние побежки и ротации

ПЛП – праволатеральный профиль

ПСА – правая сонная артерия

СА – сонная артерия

СРО – свободнорадикальное окисление

СРП – свободнорадикальные процессы

ТБК-РП – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой

R1 – поведенческий сон

R2 – горизонтальная локомоторная активность

R3 – вертикальная локомоторная активность

R4 – питьевое поведение

R5 – пищевое поведение

R6 – мелкая двигательная активность

R7 – груминг

R8 – релаксированное бодрствование

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	стр. 6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. Нейробиологические процессы, определяющие особенность поведения как отражения адаптационных реакций организма на разных этапах онтогенеза	17
1.2. Роль функциональной межполушарной асимметрии в адаптационных реакциях организма	28
1.3. Методы изучения поведения и связанные с ним нейрохимические процессы. Нейропластичность	35
1.4. Роль пептидов и нейромедиаторов в регуляции функций мозга	52
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	59
2.1. Работа с животными	59
2.2. Физиологические методы исследования	62
2.2.1. Модели ишемии мозга	62
2.2.2. Моделирование гемической и гипобарической гипоксической гипоксии	64
2.2.3. Водный лабиринт Морриса	64
2.2.4. Метод «Открытого поля»	65
2.2.5. Метод определения латерального профиля крыс	66
2.2.6. Метод выработки условной реакции активного избегания	67
2.2.7. Методы оценки неврологических нарушений у крыс	68
2.2.8. Оценка объема зоны инфаркта	69
2.3. Биохимические методы исследования	69
2.3.1. Определение содержания моноаминов и активности моноаминоксидазы-А в мозге крыс	69
2.3.2. Определение активности и содержания каспазы-3	72
2.3.3. Определение продуктов свободнорадикального окисления	73
2.3.4. Метод определения концентрации IL-6 и TNF- $\alpha$ в сыворотке крови	73
2.4. Статистическая обработка результатов исследования	74
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ФАКТОРОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ОРГАНИЗМА К ИШЕМИИ/ГИПОКСИИ МОЗГА	75
3.1. Влияние разных видов ишемии гипоксии мозга (пренатального стресса, ОСА и ОГГ) на показатели устойчивости организма	75
3.1.1. Влияние пренатальной гипоксии на поведение, латентное обучение и нейрохимические показатели крыс	75
3.2. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на выживаемость, поведение и нейрохимические показатели крыс 3-4- и 18-месячного возраста	89
3.2.1. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на выживаемость крыс 3-4- и 18-месячного возраста	89
3.2.2. Влияние острой гипоксической гипоксии на латентное обучение, активность и содержание активной каспазы-3 в мозге 3-4-месячных	

крыс	91
3.2.3. Свободнорадикальные процессы и нейромедиаторный баланс при окклюзии сонных артерий у 3-4-месячных крыс	91
3.2.4. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на показатели поведения, обучения и нейрохимический статус крыс 18-месячного возраста	97
3.3. Роль функциональной межполушарной асимметрии мозга в устойчивости организма к ишемическим/гипоксическим воздействиям	107
3.3.1. Влияние окклюзии средней мозговой артерии на выживаемость, объем инфаркта и неврологический статус крыс с разным латеральным профилем	107
3.3.2. Влияние окклюзии сонных артерий на условно-рефлекторную реакцию активного избегания крыс с разным латеральным профилем	118
3.3.3. Влияние окклюзии сонных артерий на нейрохимические показатели крыс с разным латеральным профилем, которым вырабатывали условную реакцию активного избегания	123
3.3.4. Изменение нейромедиаторного баланса в мозге 3-4-месячных крыс с разным латеральным профилем при окклюзии сонных артерий	133
<b>ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОБУЧЕНИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ИШЕМИИ/ГИПОКСИИ МОЗГА</b>	145
4.1. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к пренатальному стрессу	145
4.2. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга крыс 3-4 месяцев	163
4.2.1. Влияние пептидных препаратов на свободнорадикальные процессы в мозге крыс в модели окклюзии сонных артерий	163
4.2.2. Влияние пептидных препаратов на латентное обучение 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии	168
4.2.3. Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 у 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии	170
4.2.4. Влияние пептидных препаратов на поведение 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии	173
4.2.5. Влияние пептидных препаратов на медиаторный баланс в мозге 3-4-месячных крыс при острой гипоксической гипоксии	181
4.3. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга крыс 18 месяцев	186
4.3.1. Влияние кортексина и пинеалона на выживаемость и поведение старых крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий	186
4.3.2. Влияние пептидных препаратов и острой гипоксической гипоксии на латентное обучение 18-месячных крыс	196
4.3.3. Влияние кортексина и пинеалона на содержание моноаминов в структурах мозга 18-месячных крыс при подвергнутых окклюзии сонных артерий	198
4.3.4. Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 в мозге	

и содержание интерлейкинов в сыворотке крови 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии	209
4.4. Результаты дисперсионного анализа сравнения исследованных показателей	214
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	222
ВЫВОДЫ	252
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	255

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование принципов онтогенетического развития остается актуальной задачей теоретической и практической биологии и физиологии. Основные вопросы, касающиеся индивидуального развития, до сих пор волнуют научный мир, несмотря на то, что сформулированы они были еще древнегреческими философами (Левкипп, Демокрит, Эпикур, Аристотель).

В основу современных представлений об особенностях адаптации организма на разных этапах онтогенетического развития легли теории критических периодов раннего развития (Levine, 1957), критических фаз развития организма (Грегг, 1944; Светлов, 1960), функциональных систем (Анохин, 1968), нейроэнтропийная теория (Аршавский, 1982) и т.д.

При исследовании процессов адаптации организма к стрессовым факторам особое внимание уделяется вопросам онтогенетической эволюции мозга, а также его роли в адаптационных реакциях организма. Известно, что каждому из этапов развития соответствует определенное морфологическое обеспечение функций и обучение специфическому поведению (Шулейкина, Хаютин, 1989), поэтому предъявление стрессовых воздействий на разных этапах развития организма программирует характерные для каждого возрастного периода морфофункциональные и поведенческие нарушения. Выявление механизмов, лежащих в основе онтогенетических особенностей изменения поведения в ответ на стресс, является принципиальным для разработки адекватных методов его коррекции.

В адаптивных реакциях мозга принимают участие различные нейрохимические системы. Среди них особую роль отводят нейромедиаторным системам, свободнорадикальным процессам, протеолитическим ферментам (в частности, каспазе-3) (Ашмарин, Стукалов, 1999; Гуляева, Обидин, Левшина, 1989; Гуляева, 2003, Ильюченко, 1972; Кругликов, 1981; Хухо, 1990; Huesmann, Clayton, 2006; Sherstnev et al., 2004, 2006; Stepanichev et al., 2005; и др.). Изменение функциональной активности данных нейрохимических систем в онтогенезе описано в ряде работ.

Становление нейромедиаторных систем у грызунов происходит в разные сроки раннего развития. Например, формирование норадренергической и серотонинергической систем начинается с середины эмбрионального развития и завершается в основном к полуторамесячному возрасту (Раевский, 1991); формирование дофаминергической системы происходит в течение последнего триместра беременности и первых двух – двух с половиной недель постнатального развития (Мещеров, 2001; Шабанов и др., 2002, 2003). Воздействие различных видов стресса (гипоксия, этаноловая интоксикация, блокаторы рецепторов и т.д.), приходящееся на период становления медиаторных систем в мозге, способствует нарушению поведения у животных в постнатальном периоде развития (Ватаева и др., 2001; Граф и др., 2005; Резников, 2004; Шабанов и др., 2011; Шаляпина и др., 2001).

По мере старения организма функциональная активность нейромедиаторных систем снижается, как и интенсивность протекания метаболических процессов в целом. Установлено, что уровень свободнорадикальных процессов в стареющем мозге ниже, чем у молодых особей (Koltover, 2007). Вопрос о соотношении протеолитической активности в мозге у животных разного возраста остается малоизученным: в литературе описано, что активность каспазы-3 повышена на ранних этапах онтогенетического развития, когда интенсивность процессов нейрогенеза максимальна.

Изменение характерной для каждого периода онтогенеза функциональной активности данных нейрохимических систем под влиянием стрессовых факторов сопровождается нарушением поведения.

В различных экспериментальных моделях (в условиях нормы и стресса) показано, что изменение поведенческих реакций зависит от степени распределения различных нейрохимических систем в полушариях головного мозга, что дает основание рассматривать проблему функциональной межполушарной асимметрии мозга как одну из принципиальных при изучении адаптационных реакций организма. Известно, что в условиях

стресса снижается уровень нейрохимической и поведенческой (моторной) асимметрии (Ротенберг, Аршавский, 1984). Также показано снижение латерализации функций в процессе старения (Borod, Goodglass, 1980), что определяется изменением в работе энергетической, нейрохимических и других функциональных систем мозга. Формирование ФМА в онтогенезе человека достаточно широко описано в литературе (Газзанига, 1974; Симерницкая, 1985; Фарбер, 1986; Фокин и др., 2004 и др.). Наиболее устойчивые межполушарные взаимоотношения формируются во взрослом возрасте (Полюхов и др., 1986).

Адекватными моделями для исследования поведенческих реакций являются модели ишемии/гипоксии мозга, поскольку они могут быть использованы как на ранних этапах онтогенеза (пренатальная гипоксия), так и при экспериментах со взрослыми животными. Выявлено, что от уровня интенсивности стресса зависят поведенческие реакции, память, обучение, уровень агрессии или страха (Aleksandrov et al., 2001; Bowman et al., 2001; Fujioka et al., 2001; Lemaire et al., 2006; Pijlman, van Ree, 2002; Sousa et al., 2000; Vallee et al., 1999; Ward et al., 2000). Также патологические изменения в ЦНС зависят от длительности гипоксического воздействия и от этапа онтогенетического развития ЦНС, на котором это воздействие применяли (Журавин, 2002; Кассиль и др., 2000). В исследовании А.М. Вуда с соавт. (2008) проведено сравнение регуляторных путей адаптации к острой ишемии мозга молодых и возрастных крыс. Показано, что у старых животных происходит ранняя активация окислительного стресса и апоптоза; дегенерация нейронов увеличена на ранней стадии ишемического процесса, и восстановление функций оказывается отсроченным и неполным; резко активировано нейрональное воспаление в сравнении с молодыми крысами.

Воздействие гипоксии/ишемии мозга способствует нарушению нейромедиаторного баланса, обмена медиаторов в мозге (Nyakas et al., 1996), а также развитию гибели клеток (Иванов, 2010): гипоксия изменяет работу генетического аппарата клетки и может инициировать транскрипцию

специфических генов, ответственных за программируемую гибель клетки (Анисимов, 2010; Квитко, 2010; и др.).

Для коррекции общесистемных нарушений при ишемическом/гипоксическом поражении мозга активно стали использовать препараты пептидной природы. Однако механизмы пролонгированного действия пептидов на поведение исследованы недостаточно. Нет однозначных представлений о принципах работы пептидов, недостаточно изучены механизмы их действия на адаптивные реакции организма на разных этапах онтогенеза.

Разнообразие эффектов пептидов в большой мере связывают с их влиянием на нейромедиаторные процессы (Королева и др., 2006; Левицкая и др., 2002; Ashmarin, Koroleva, 2002; Adriani et al., 2009). Пептиды, обладающие антиоксидантной активностью, способны корректировать нарушения взаимодействия разных систем (начиная от молекулярных и заканчивая структурно-функциональными элементами нейроиммунно-эндокринной регуляции) в условиях интенсификации свободнорадикальных процессов, возникающей при стрессе (Акмаев, 1996, 1997; Анисимов, 2000, 2008; Пальцев, Кветной, 2008). Характер влияния пептидов зависит от исходного функционального состояния организма и моноаминергической системы мозга (Вальдман, 1984; Клуша, 1984; Ostrovskaya et al., 2006; Seredenin et al., 1996).

Принципиальная идея, возникновение которой связано с открытием регуляторных пептидов, состоит в том, что комбинация аминокислотных последовательностей может давать уникальное многообразие вариантов регулирования функций организма на всех этапах его интеграции, начиная с регуляции отдельных процессов метаболизма в клетке и кончая генерализованными поведенческими реакциями (Ашмарин и др., 1998; Gomazkov, 2003). Анализ биологических эффектов регуляторных пептидов приводит к заключению, что одна и та же функция регулируется несколькими пептидами, а один и тот же пептид может участвовать в

регуляции нескольких функций. Таким образом, регуляторные пептиды формируют функциональный континуум, принимающий участие в переносе информации между системами организма, его органами, тканями, группами клеток и отдельными клетками, регулируя их активность и интегрируя их деятельность в единое целое (Ашмарин, Обухова, 1998). Каждый пептид имеет спектр биологической активности, определяемый, во-первых, его непосредственным действием и, во-вторых, его способностью индуцировать выход эндогенных регуляторов, в том числе и других регуляторных пептидов. Существует множество данных, демонстрирующих регулирующее действие нейропептидов на высшие интегративные функции мозга: процессы обучения и памяти, сна, а также участие их в реализации различных поведенческих реакций (Aja et al., 2011; Bale et al., 2001; Cheng et al., 2011; Ding et al., 2006; Leibowitz, 1986; Sakagami et al., 2011; и др.).

Гипотеза о существовании такой системы регуляции позволяет преодолеть серьезные противоречия, возникающие при попытках объяснения относительно длительных физиологических эффектов короткоживущих пептидов (Ашмарин и др., 1994). Тем не менее данная гипотеза не объясняет механизма пролонгированного влияния одних и тех же пептидов в разных моделях стресса и на разных этапах онтогенеза.

Таким образом, изучение механизмов, лежащих в основе особенностей ответа на стрессовые воздействия, а также влияния пептидных регуляторов на нейрохимические системы организмов в разные периоды онтогенеза остается актуальной задачей теоретической и практической физиологии.

**Цель данной работы** – выявление онтогенетических различий поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в ответ на ишемию/гипоксию мозга крыс; а также, учитывая актуальность исследования роли пептидной регуляции и функциональной межполушарной асимметрии в функциональном становлении мозга, установление их влияния на

адаптационные реакции организма по поведенческим, морфологическим и биохимическим показателям.

**В задачи исследования** входило следующее:

1. Выявить возрастные особенности поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в норме и при гипоксии/ишемии мозга в моделях пренатальной гипоксии, острой гипоксической гипоксии и окклюзии сонных артерий.

2. Изучить содержание нейромедиаторов в моделях пренатальной гипоксии у 21-дневных крыс и ишемии/гипоксии мозга у 3–4-месячных и 18-месячных крыс; выявить связь между особенностями изменения в содержании нейромедиаторов, свободнорадикальных процессов и поведенческими реакциями животных разного возраста.

3. Исследовать активность каспазы-3 в мозге крыс в моделях гипоксии/ишемии мозга крыс разного возраста; установить связь активности и экспрессии каспазы-3 в мозге животных с уровнем обучения.

4. Исходя из того, что функциональная межполушарная асимметрия наиболее выражена в репродуктивном периоде, у 3–4-месячных крыс изучить влияние окклюзии средней мозговой артерии на неврологический статус и объемы инфарктов мозга с разным латеральными профилем; установить влияние окклюзии сонных артерий на условную реакцию активного избегания, свободнорадикальные процессы и медиаторный баланс в мозге животных.

5. Выявить возрастные особенности влияния пептидных препаратов на поведенческие и нейрохимические показатели в норме и разных экспериментальных моделях: у 21-дневных крыс в модели пренатальной гипоксии, у 3–4-месячных и 18-месячных животных в моделях окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии.

**Научная новизна исследования.**

Впервые установлено, что наиболее низкие показатели обучаемости связаны с повышением активности каспазы-3 в структурах мозга у

животных, перенесших гипоксическую гипоксию на 13–20-е сутки пренатального развития, а также у 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии.

В работе впервые показано, что у 3–4-месячных крыс с разным латеральным профилем поведенческие реакции зависят от интенсивности стрессового воздействия. Роль моторной асимметрии в устойчивости организма к окклюзии средней мозговой артерии у крыс минимальна. Устойчивость к окклюзии сонных артерий у крыс с разным латеральным профилем связана с особенностями у них перераспределения нейромедиаторов и показателей свободнорадикального окисления в структурах мозга.

Впервые показано, что большая способность к выработке условной реакции активного избегания крыс с леволатеральным профилем коррелирует с повышением интенсивности свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий относительно животных с праволатеральным профилем.

Впервые показано, что эффективность влияния пептидных препаратов на латентное обучение в моделях пренатальной и острой гипоксической гипоксии коррелирует с их влиянием на содержание активной каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста.

Впервые показано, что введение пептидных препаратов способствует снижению нейродегенерации через их влияние на содержание интерлейкинов: в модели окклюзии сонных артерий на фоне введения кортексина снижается содержание IL-6, а при введении пинеалона и дельтарана – фактора некроза опухоли в сыворотке крови 18-месячных крыс.

Впервые установлено, что пренатальное введение дельтарана способствует одинаковым изменениям в структуре поведения контрольной группы крыс и у 21-дневных животных в модели пренатальной гипоксической гипоксии.

**Теоретическое и научно-практическое значение работы.**

В результате проведенной работы показаны различия в устойчивости организма к ишемии/гипоксии разной интенсивности и влиянию пептидных препаратов на физиологические механизмы регуляции поведения крыс разного возраста. Установлено, что обучаемость животных зависит от влияния разных факторов (возраста, характера стрессового воздействия и/или введения пептидных препаратов) на систему каспазы-3 в структурах мозга. Эти данные могут быть использованы для определения стратегии применения пептидных препаратов в неврологической практике у пациентов разных возрастных групп.

Полученные результаты о влиянии ишемии/гипоксии мозга и введения пептидных препаратов на свободнорадикальные процессы, медиаторный баланс в мозге и содержание интерлейкинов в сыворотке крови могут служить теоретическим обоснованием разработки новых подходов к терапии заболеваний, связанных с гипоксией/ишемией мозга.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Способность к обучению крыс на разных этапах онтогенеза сопоставима с возрастными изменениями активности каспазы-3 в мозге: между активностью каспазы-3 в мозге и степенью обучаемости существует колоколообразная зависимость.
2. Онтогенетические изменения в содержании моноаминергических медиаторов являются одним из факторов, определяющих возрастные особенности структуры поведения животных.
3. Нарушение поведения у животных разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга коррелирует с уменьшением содержания норадреналина в мозге, а также со снижением нейрохимической и моторной асимметрии.
4. Введение пептидных препаратов животным разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга способствует улучшению мнестических функций, способствует снижению влияния стресса на структуру поведения.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на Европейском форуме по нейронаукам (Брайтон, Великобритания, 2000), XXX совещании по проблемам высшей нервной деятельности (Санкт-Петербург, 2000), Международной конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в развитии и функциях центральной нервной системы: от рождения до старости» (Санкт-Петербург, 2001), XVIII съезде физиологов России (Казань, 2001), II Всероссийской научно-практической конференции «Социальные, медико-биологические и гигиенические аспекты здоровья» (Пенза, 2004), научной конференции «Нейрохимия: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2005), 4-й национальной научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2005), VII Всероссийской конференции «Нейроэндокринология» (Санкт-Петербург, 2005), IV межвузовской международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2005), I съезде физиологов СНГ (Сочи, Дагомыс, 2005), VIII Мировом конгрессе «International society for adaptive medicine (ISAM)» (Москва, 2006), IV Международной научно-практической конференции «Новые медицинские технологии в охране здоровья здоровых, в диагностике, лечении и реабилитации больных (МК-13-46)» (Пенза, 2006), XIII Международном совещании по эволюционной физиологии (Санкт-Петербург, 2006), Международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2006), V съезде кардиологов Южного федерального округа (Кисловодск, 2006), Всероссийской конференции с международным участием «Структурно-функциональные, нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 2007), I Международной научно-практической конференции «Новые технологии в экспериментальной биологии и медицине» (Ростов-на-Дону, 2007), II научной конференции с международным участием «Актуальные проблемы науки и образования»

(Варадеро, Куба, 2007), Европейском конгрессе интернациональной ассоциации геронтологов (Санкт-Петербург, 2007), II научной конференции с международным участием «Фундаментальные исследования» (Доминиканская Республика, 2007), IV научной конференции «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Тайланд, 2007), IV научной международной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии» (Гоа, Индия, 2007), XXI съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга – Москва, 2010), Всероссийской научной конференции «Модернизация науки и образования» (Махачкала, 2011), Научно-практической конференции с международным участием «Нейрохимические подходы к исследованию функционирования мозга» (Ростов-на-Дону, 2011), VIII международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2012), V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (Ростов-на-Дону, 2013), XXII съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград – Москва, 2013).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 57 научных работ, в том числе 15 статей в журналах по списку ВАК РФ, 1 монография.

**Структура работы.** Диссертация изложена на 308 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, двух глав, содержащих изложение результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Список литературы содержит 517 источников, из них 248 отечественных и 267 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 66 таблицами и 52 рисунками.

Автор выражает глубокую признательность за помощь в проведении исследований коллегам, благодаря которым были получены важные научные результаты, использованные при выполнении диссертационного исследования, а также за помощь в выборе актуальных направлений исследований, ценные критические и конструктивные замечания и советы, оказавшие большое влияние на формирование концептуальной основы при

анализе полученных в исследовании результатов: д.б.н., профессору Н.В. Гуляевой, д.б.н. М.Ю. Степаничеву, д.б.н. М.Ю. Онуфриеву, к.б.н. А.А. Яковлеву (Москва, Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН); д.м.н., профессору Г.А. Рыжак (Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН); к.б.н., с.н.с. С.В. Демьяненко (Ростов-на-Дону, НИИ биологии им. А.Б. Когана ЮФУ).

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Нейробиологические процессы, определяющие особенность поведения как отражения адаптационных реакций организма на разных этапах онтогенеза

Поведение во всей сложности его проявлений является продуктом непрерывных взаимоотношений организма с окружающей средой (Анохин, 1973; Батуев, 1991; Сеченов, 1908 и др.).

На каждом этапе онтогенеза обучение специфическому поведению определяется соответствующим морфологическим обеспечением функций (Шулейкина, Хаютин, 1989) для обеспечения соответствия адаптивных возможностей организма особенностям среды (Анохин, 1948), степень этих возможностей, в свою очередь, определяет формирование онтогенетической памяти в процессе развития организма. При изучении роли познания в онтогенетическом развитии организма P.S. Churchland (1986) выдвинул гипотезу о существовании континуума сенсорно-моторных и познавательных функций. Эту гипотезу подтверждает то, что определенные структуры мозга вовлечены как в познавательные процессы, так и в моторные действия. При исследовании роли сенсорного притока в формировании функций развивающегося мозга, В.В. Раевский (2002) обосновал представление об онтогенетических нишах, более полно характеризующее закономерности онтогенетического развития.

При действии стресса наиболее существенные нарушения высших психических функций наблюдаются в критические периоды развития организма.

Понятие критических фаз развития организма было введено и научно обосновано Н. Греггом (1944) и П.Г. Светловым (1960). Согласно их теории в критические периоды развития организм становится более чувствителен к действующим факторам внешней среды. Каждая критическая фаза предопределяет становление функций организма и его систем на последующий этап развития и обуславливает процессы детерминированного,

асинхронного, гетерохронного и интегрированного развития организма в онтогенезе. Критические фазы развития чаще выявляются на стыке двух этапов или периодов, реже - на стыке стадий (Тельцов и др., 1993, 1998, 1999).

П.Г. Светлов (1960) определил три типа воздействия: повреждающие факторы, приводящие к смерти или к патологическим изменениям в организме; модифицирующие факторы, вызывающие отклонение от нормы, приводящие к морфозам, мутациям и аномалиям развития организма; закономерные факторы, которые оказывают стрессовое действие, обеспечивающее развитие организма в пределах функциональной нормы.

Согласно теории критических периодов в эмбриогенезе человека и животных выделяют два периода: первый – доимплантационный, второй – период интенсивного органогенеза.

При изучении роли негенетических факторов в периоды пренатального и раннего постнатального онтогенеза И.А. Аршавским была создана нейроэнтропийная теория онтогенеза (Аршавский, 1982).

Перинатальный период является критическим в развитии головного мозга, когда он наиболее чувствителен к действию повреждающих факторов. Так, пренатальная гипоксия на определенных этапах гестации, нарушая деятельность сенсомоторной коры и стриатума, изменяет развитие двигательного поведения в первый месяц постнатального поведения и нарушает когнитивные функции у молодых и взрослых животных (Васильев и др., 2004). Гипоксия в этот период может привести к необратимому нарушению механизмов кратковременной и долговременной памяти у взрослых животных (Журавин, 2002; Васильев и др., 2004), поскольку она может вызвать стойкое нарушение взаимоотношений между нейронами коры и подкорковыми структурами, а также изменение синаптического аппарата нейронов мозга (Граф и др., 2008).

В позднем пренатальном периоде в различных структурах развивающегося мозга крыс происходит процесс миграции, созревания и дифференцировки нейронов, а также установка межклеточных синапсов.

В результате гипоксического воздействия изменяется нормальный баланс нейромедиаторов (глутамата, дофамина, серотонина, ацетилхолина и др.) и продуктов их обмена в особо чувствительных структурах мозга (Самойлов и др., 2011; Lipton, 1999; Nyakas et al., 1996) или нарушаются структурно-функциональные свойства клеточных мембран, что само по себе может приводить к гибели клеток (Mishra, Delivoria-Papadopoulos, 1999). В условиях гипоксии изменяется работа генетического аппарата клетки (Caro, 2001; Rybnikova et al., 2008), может инициироваться транскрипция специфических генов, ответственных за программируемую гибель клетки (Самойлов и др., 2005). При этом патологические изменения в ЦНС зависят от длительности гипоксического воздействия и от этапа онтогенетического развития ЦНС, на котором это воздействие применяли (Журавин, 2002; Кассиль и др., 2000).

В исследованиях часто выбирают разные сроки воздействия острой гипоксии на самок во время беременности. В том числе в ряде работ И.А. Журавина использовали 13,5-й день, относящийся к предплодному (эмбриональному) периоду, когда в головном мозге активно протекают основные гистогенетические процессы (деление клеток и их миграция), и 18,5-й день, относящийся к плодному (постимплантационному) периоду, когда уровень пролиферации клеток в мозге снижается, и ускоряются процессы их созревания и дифференцировки (Резников, 1981).

Наиболее значимым для развития животных и становления в раннем онтогенезе врожденных форм двигательного поведения является период, когда в мозге эмбрионов преобладают процессы пролиферации и миграции клеток, т.е. начало третьего триместра беременности. Тогда как для нормального развития когнитивных процессов мозга важными являются периоды пролиферации и миграции нейробластов (E13,5), а также их

созревания и дифференцировки (E18,5). Неблагоприятные условия эмбрионального развития во время этих периодов приводят к необратимому нарушению механизмов кратковременной и долговременной памяти у экспериментальных животных. Показательно, что менее выраженные последствия пренатальной гипоксии на E18,5 (по сравнению с гипоксией на E13,5) в развитии двигательного поведения крыс коррелируют с менее значительными биохимическими сдвигами, обнаруженными после гипоксии на этом сроке.

В отличие от чисто моторных, когнитивные нарушения, возникшие в результате пренатальной гипоксии, сохраняются и у взрослых животных. Предполагают, что причиной подобных нарушений развития моторики и когнитивных функций мозга могут быть изменения биохимических характеристик и структурной организации нервной ткани сенсомоторной коры, стриатума и гиппокампа. В том числе, развитие мозга находится под контролем ряда эндогенных соединений, например сигнальных молекул нейротрансмиттеров (Cameron et al., 1998; Gould et al., 1999).

Согласно данным В.А. Отеллина (2003), действие гипоксии или дефицита серотонина в определенные критические периоды эмбриогенеза вызывает сходные нарушения в развитии мозга, приводящие к формированию абнормальных структур, изменению клеточного состава и, как предполагает автор, межнейронных связей, что сочетается с отклонениями в поведении после рождения. Наиболее вероятной причиной таких сдвигов в поведении животных может являться изменение морфофункциональной организации центральной нервной системы, вызываемое нарушением процессов пролиферации и миграции нейробластов тех отделов мозга, которые закладываются во время действия патологического фактора (Васильев и др., 2004).

Также в процессах пролиферации, миграции и созревания нервных клеток, в установлении межклеточных контактов и развитии нервной ткани важную роль играют растворимая форма ацетилхолинэстеразы (АХЭ),

неприлизин и крупные растворимые белки 5A PPa и вАРРР, образующиеся в результате действия  $\alpha$ - и  $\beta$ -секретаз. Недосток этих биологически активных веществ, обнаруживаемый после пренатальной гипоксии на определенных сроках онтогенетического развития, может вызывать нарушения определенных структур мозга и проявляться в наблюдавшихся изменениях поведения животных (Дубровская и др., 2005; Журавин, Дубровская, 2000).

Пренатальная гипоксия вызывает как нарушение сохранности выработанного инструментального движения после длительного перерыва, так и снижение кратковременной рабочей памяти в радиальном лабиринте у взрослых крыс, что доказывает влияние гипоксического воздействия на когнитивные функции мозга (Ватаева и др., 2004). Принимая во внимание эти данные, а также данные о снижении активности  $\alpha$ -секретазы и амилоид-деградирующих ферментов, наблюдаемой после пренатальной гипоксии или после введения ингибиторов этих ферментов, приводящего к нарушению процесса запоминания, ученые предположили, что недостаток кислорода в мозге, наблюдаемый во время пренатальной гипоксии, вызывает возрастание риска возникновения когнитивных нарушений (Дубровская и др., 2005).

Нейротрансмиттеры, в частности стимуляторы ct2-AP, а также имитирующие их действие вещества, применяемые в клинической практике для перинатальной анестезии и терапии гипертонии (Kamibayashi, Maze, 2000), способны вызывать чрезмерную активацию или, наоборот, торможение гибели клеток в развивающемся мозге.

Влияние внеклеточных сигналов на предрасположенность клеток к самоуничтожению в процессе нормального развития головного мозга и при различных нарушениях регуляции апоптоза под действием стрессорных факторов, таких как гипоксия, является одной из малоизученных проблем. Известно, что апоптоз является неотъемлемым компонентом нормального развития нервной системы млекопитающих (Cellerino et al., 2000; Meier et al., 2000; Yuan, Yankner, 2000). В том числе показано, что элиминация

избыточных клеточных элементов в ЦНС млекопитающих происходит в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе (Будко и др., 1985).

Нужно отметить, что гипоксически-ишемическая нейродегенерация с преобладанием апоптоза у взрослых обусловлена активацией каспазного каскада, а у новорожденных – активацией преимущественно каспазы-3. Это связано с тем, что уровень регуляторов апоптоза, в частности каспазы-3, в головном мозге имеет характерные для разных отделов мозга особенности онтогенеза. Уровень каспазы-3 высок в мозге плодов (Баннова и др., 2005).

Также показано, что пренатальная тяжелая гипобарическая гипоксия изменяет баланс двух конститутивных сигнальных путей, индуцируемых активностью метаботропных глутаматных рецепторов I группы – ImGluR (инозиттрифосфатного и диацилглицерольного), и приводит к усилению механизмов входа экстраклеточного  $Ca^{2+}$  по сравнению с механизмами его высвобождения из внутриклеточных депо. Наиболее ярко этот дисбаланс проявляется на ранних стадиях онтогенеза (Самойлов и др., 2011).

С возрастом в дыхательной цепи митохондрий обнаружено достоверное снижение оксидазной активности цитохрома C, что приводит к образованию активных форм кислорода, способных повреждать макромолекулы (ДНК, белки, липиды) (Кольтовер, 2000). Именно накопление в клетках поврежденных молекул ведет к развитию заболеваний и старению организма (Меньщикова и др., 2006).

Старение может проходить по двум вариантам: физиологическому, естественному, или патологическому, ускоренному (Анисимов, 2000). Физиологическое старение является предпосылкой активного долголетия, тогда как ускоренное старение способствует развитию патологических состояний и болезней. Ускоренное старение, характерное для большинства представителей современной человеческой популяции, обусловлено функциональными сдвигами в ЦНС, возникающими при истощении адаптационных резервов организма в онтогенезе, протекающем в неблагоприятных природных условиях, при несбалансированном питании,

возрастании психоэмоционального напряжения, информационных перегрузок и ограничении двигательной активности (Хавинсон, Морозов, 2001).

Многие нарушения в процессе старения сходны с наблюдаемыми при стрессе, а часто повторяющиеся стрессовые ситуации в значительной мере способствуют развитию преждевременного старения (Фролькис, 1998). К таким общим нарушениям относят изменения поведения, ухудшение памяти, работоспособности, адаптивных возможностей и репродуктивных способностей (Хавинсон и др., 2003).

В настоящее время существует несколько теорий старения организма, среди которых ведущее место занимает свободнорадикальная теория (Кольтовер, 1998). Согласно последней окислительный стресс, развивающийся в результате недостаточности антиоксидантной системы защиты, прежде всего в мозгу, способствует развитию процесса физиологического старения, возрастных заболеваний, включая рак, сердечно-сосудистые болезни, дисфункции головного мозга и других органов (Harman, 2003, 2006).

Также существует кальциевая теория старения, согласно которой главной причиной функциональных повреждений и дегенераций является повышение уровня кальция в стареющих нейронах. На этом фоне в клетке происходит активация кальций-зависимых ферментативных путей и сигнальных каскадов, включая различные фосфолипазы, липоксигеназы, циклооксигеназы, протеинкиназы и NO-синтазы, и генерация кислородных радикалов. NO способствует гибели нейронов путем формирования пероксинитрита (токсического продукта реакции NO и супероксида) и других нейродеструктивных реакций с участием активных форм кислорода. NO может активировать поли-АДФ-рибозополимеразу – фермент, восстанавливающий ДНК и приводящий к усиленному потреблению NAD<sup>+</sup> (Реутов и др., 1998) и в конечном итоге – к гибели нейрона.

Однако, согласно другой гипотезе, NO не является главной причиной клеточной гибели, поскольку ингибитор NO L-NAME неэффективен против апоптоза (Tuteja et al., 2004). NO защищает от повреждения окислительным стрессом олигодендроциты при условии продолжительного периода полужизни доноров NO. Тогда происходит снижение концентрации тиолов и разрушение цистеина, вызывающего повреждение внутриклеточного глутатиона, главного клеточного антиоксиданта (Dringen, 2000).

Одной из главных причин развития ускоренного старения организма является развитие ишемических процессов в мозге. Ишемическое повреждение мозга является результатом комплекса физиологических событий. Главный механизм этого процесса включает эксайтотоксичность, периинфарктную деполяризацию, воспаление и апоптоз.

При снижении уровня мозгового кровотока до 65 мл на 100 г в минуту развивается первичная реакция в виде угнетения белкового синтеза, до 35 мл в минуту – имеет место активация анаэробного гликолиза. А при снижении этого показателя до 20 мл на 100 г в минуту формируется энергетическая недостаточность, дестабилизация мембран нейронов и выброс нейротрансмиттера (глутамата), а развивающийся лактат-ацидоз способствует глиальной активации с последующим формированием некроза и апоптоза клеток в локальных или диффузных очагах ишемии.

При ишемических и гипоксических поражениях мозга происходят комплексные функционально-метаболические нарушения, в которых ведущую роль играет снижение уровня макроэргов – аденозинтрифосфата и креатинфосфата – в организме. Изменение функций дыхательной цепи митохондрий начинается на субстратном участке, где происходит сначала усиление, а затем резкое снижение функциональной активности NADH-зависимого пути окисления, приводящее к нарушению переноса электронов на участке «NADH – коэнзим Q» и сопряженного с ним процесса окислительного фосфорилирования. Несмотря на нарушение активности NAD-зависимого окисления, на ранней стадии внутриклеточная

концентрация макроэргов снижается незначительно, поскольку активируются альтернативные компенсаторные метаболические потоки, главным образом сукцинатоксидазный путь окисления. В более жестких условиях гипоксии блокируется терминальный цитохромный участок дыхательной цепи митохондрий. Таким образом, изменение метаболических потоков является одним из наиболее ранних признаков ишемии и гипоксии мозга.

Фактором, имеющим особое значение при ишемии и вторичной церебральной гипоксии, являются продукты свободнорадикальных реакций. Увеличение степени восстановления переносчиков дыхательной цепи и наличие высоких концентраций кислорода в окружающей среде создают особо благоприятные условия для их образования. Источником генерации радикальных частиц служат либо митохондриальные ферменты, либо NADH-оксидаза наружной митохондриальной мембраны, не связанная с дыхательной цепью. Под воздействием оксидантного стресса резко возрастает проницаемость мембранных структур митохондрий, саркоплазматического ретикулума и лизосом путем изменения свойств липидов. Кроме того, в норме оксидантная система служит целям дезинтоксикации экзогенных и эндогенных токсинов, а в условиях ишемии активация антиоксидантной системы ведет к нарастанию выраженности эндотоксикоза со вторичным повреждением мембран и постишемического отека мозга.

Таким образом, нарушение мозгового кровотока приводит к истощению энергии, потере мембранного потенциала и деполяризации нейронов и глии. Повреждение нейронов в условиях окислительного стресса при ишемии-реперфузии опосредовано множеством взаимосвязанных факторов, среди которых ключевое место занимают процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов. Этот процесс сопровождается нарастанием количества различных продуктов липидного перекисления, обладающих

высокой реакционной способностью и повреждающим действием на клеточные структуры мозга.

Доказательством того, что свободные радикалы включаются в ишемическую клеточную смерть, является тот факт, что активные формы кислорода генерируются как во время, так и после ишемии мозга. Генерация свободных радикалов продолжается как на стадии рециркуляции, так и в более поздние сроки после ишемии. Они способны существовать в течение многих часов и, возможно, дней после инсульта. Гибель ишемической клетки также может наступить спустя несколько часов, дней или даже недель после наступления инсульта, и это зависит как от природы инсульта, так и от региона мозга, в котором он развился. В связи с этим является чрезвычайно важным понимание механизмов клеточной смерти, обусловленной окислительным стрессом. Этот факт также является чрезвычайно важным моментом, поскольку продолжается их повреждающее действие и это обуславливает необходимость длительной (курсовой) антиоксидантной терапии (Зозуля и др., 2000).

Предполагается, что генерация АФК является главным компонентом патофизиологии ишемического и реперфузионного повреждения мозга, поскольку даже отсроченное лечение антиоксидантами оказывается эффективным. В это время происходит гиперпродукция фермента супероксиддисмутазы, защищающего нейроны от повреждения. Например, антиоксидант U-74006F полностью блокировал 2-кратное повышение уровня ТБК-продуктов после 3 ч окклюзии СМА и снижал зону инфаркта на 25%.

Гипоксия приводит к комплексной модификации функций биологических мембран, затрагивающей как липидный бислой, так и мембранные ферменты. Повреждаются или модифицируются главные функции мембран: барьерная, рецепторная, каталитическая. Основными причинами этого явления служат энергодефицит и активация на его фоне фосфолиполиза и СРП, что может вызвать необратимые повреждения и гибель клетки.

Таким образом, СРП интенсивно протекают в нервной ткани и имеют важное значение для ее нормального функционирования. При этом интенсивность процесса в мозге обусловлена высоким содержанием субстратов липидного перекисления, катализаторов свободнорадикальных реакций и сравнительно низкой активностью ферментов антирадикальной защиты, хотя уровень эндогенных низкомолекулярных антиоксидантов ( $\alpha$ -токоферола, глутатиона, аскорбиновой кислоты) в мозге достаточно высок. В нормальных физиологических условиях система антиоксидантов контролирует эндогенный уровень АФК и защищает от окислительного повреждения. Однако в патологических условиях защитные механизмы истощаются и происходит генерация АФК, способных оказывать системное повреждающее действие на клетку.

Для изучения ишемических/гипоксических повреждений работы мозга используют разные экспериментальные модели, в том числе, модель очагового инсульта, окклюзии средней мозговой артерии, окклюзии сонных артерий, гипоксии мозга (острой гипоксической гипоксии, пренатальной гипоксической гипоксии) и т.д., при которых создаются условия, приближенные к патологии человека.

Поскольку свободные радикалы генерируются в избытке уже на самых ранних стадиях ишемии/гипоксии мозга, чрезвычайно важно начать введение ингибиторов свободных радикалов (антиоксидантов) в самые ранние сроки. Так, при длительной очаговой ишемии эффективным является начало введения антиоксидантов в интервале активного терапевтического окна (от 3 до 6 ч) после начала ишемии. Эти нарушения приводят к вторичным изменениям ионов, в результате чего активируются повреждающие процессы в макромолекулах, включающие протеазы, фосфолипазы и свободнорадикальную активацию. Данные процессы и являются непосредственными причинами гибели клеток. Медиатором повреждения мембран является увеличение содержания кальция и свободных радикалов,

которые действуют в синергизме и способны инициировать апоптоз и другие повреждения макромолекул.

Опыт экспериментального и клинического применения показывает, что защита клетки при гипоксии и ишемии от недостатка кислорода с помощью антигипоксантов корригирует нарушения энергетического обмена, тормозит активацию ПОЛ и препятствует снижению антиоксидантного потенциала клетки. Однако механизмы антиоксидантной защиты клетки с помощью антигипоксантов во многом не ясны. По-видимому, у антигипоксантов, относящихся к различным химическим классам, не существует единых механизмов взаимодействия с системой регуляции СРП. Полагают, что у одних препаратов антиоксидантная активность обусловлена сохранением клеткой в условиях недостатка кислорода достаточного энергетического потенциала, что, в свою очередь, способствует стабилизации структуры биологических мембран, предотвращает или замедляет активацию СРП и угнетение антиоксидантной системы (Гусев и др., 2003).

При условии повреждающего действия свободных радикалов введение препаратов (или создание условий), снижающих их накопление, будет уменьшать степень повреждения. Однако трудно получить количественную зависимость между увеличением уровня свободных радикалов и повреждением. Для нейронов мозга особую роль играют те стороны окислительного стресса, которые могут использоваться клетками для адаптации к происходящим нарушениям, в частности для мобилизации природных механизмов повышения устойчивости нейронов к ишемии.

## **1.2. Роль функциональной межполушарной асимметрии в адаптационных реакциях организма**

В условиях устойчивого патологического состояния формируются условно-компенсаторные реакции, поддерживаемые соответствующей матрицей памяти. Одним из наиболее перспективных путей корреляции патологического состояния на настоящий момент является запуск

собственной неспецифической защиты мозга, моделирование и применение воздействий, принципиально сходных с теми, которые сам мозг использует для защиты от негативных влияний (Бехтерева, 1980).

Известно, что изменение поведенческих реакций зависит от степени распределения различных нейрохимических систем в полушариях головного мозга. Таким образом, значительная роль в неспецифической системе резистентности организма принадлежит функциональной асимметрии мозга как (Черноситов, 2000).

Первым значительный вклад в учение о локализации функций сделал врач Брока в 1881 г., описавший больного с моторной афазией и связавший нарушение речи с поражением задних отделов нижней лобной извилины левого полушария.

Исследования межполушарной асимметрии мозга существенно дополнили представления о пространственной организации мозговых процессов. Асимметрия мозга существует не в отрыве, а в единстве с висцеральными и соматическими асимметриями. Аfferентно-эфферентные связи мозга с остальными органами и системами определяют взаимовлияния центральных и периферических асимметрий, что при любых как физиологических, так и патологических латерализованных изменениях вызывает неременный отклик в сопряженных органах другого уровня (Брагина, Доброхотова, 1981). Например, у людей с правым профилем асимметрии стойкая активация правого полушария из-за систематических нагрузок на механизмы приспособления к быстро меняющимся условиям, непосредственно влияя на диэнцефальный отдел мозга, приводит к появлению гипертензии (Леутин, Николаева, 1988; Колышкин, 1993). Ссылаясь на опубликованные данные о возможной функциональной связи правого полушария мозга с диэнцефальным отделом (Каменская и др., 1976), авторы предполагают, что в экстремальных условиях преимущество получают лица с наименьшей специализацией полушарий мозга. У лиц же с левым и симметричным профилем тесной связи правого полушария с

диэнцефальным отделом мозга не выявляется, напротив, полушария их мозга симметричны по взаимоотношению со срединными структурами. Изложенные данные демонстрируют целесообразность более полного определения профилей асимметрии с уточнением неравенства функций возможно большего числа парных органов человека с тем, чтобы изучать особенности адаптации к новым условиям лиц с разными профилями асимметрии.

В разработке проблемы адаптации важны данные и о том, что уровень работоспособности, быстрота наступления утомления различны у лиц с правым и левым профилями асимметрии (Деглин, Черниговская, 1990; Кураев и др., 1996 и др.). Проблема функциональной асимметрии мозга человека тесно связана с проблемой восстановления функций после нарушения мозгового кровотока. Вопрос о прогностическом значении фактора локализации в разных полушариях головного мозга (латерализация поражения) до сих пор остается достаточно дискуссионным. Фактором, отрицательно влияющим на процесс восстановления, является не само по себе поражение правого полушария, а ряд симптомов, часто возникающих при правополушарной локализации очага. А леворукость является благоприятным прогностическим признаком хорошего восстановления речи после инсульта (Кадыков и др., 2003; Шахпаронова и др., 2008 и др.).

Однако латерализация функций представлена не только у людей, но и животных. Данные об асимметрии полушарий головного мозга, полученные не только на млекопитающих, а также на птицах, в отдельных случаях рыбах и насекомых, обобщил в своей монографии В.Л. Бианки (1985). Изучение высшей нервной деятельности птиц, грызунов, хищников и приматов показало, что левое полушарие имеет преимущественное отношение к коммуникативным функциям, выученным формам поведения, тонким манипуляционным движениям, а правое полушарие – к зрительно-пространственному и эмоционально окрашенному поведению. У японских макаков звуковые сигналы, подаваемые особями того же вида, лучше

различаются левым полушарием. Левое полушарие доминирует по функционированию ассоциативных областей коры, правое играет доминирующую роль в деятельности проекционных зон, обеспечивая целостное восприятие мира. Сохранение коры левого полушария существенно для исследовательского поведения, которое становится менее активным после левосторонней декорткации крыс.

В.Л. Бианки предложил индуктивно-дедуктивную гипотезу функциональной асимметрии мозга, в которой индукция и дедукция представлены как «фундаментальные методы отражения и познания окружающей действительности... и определяют и латерализацию высшей нервной деятельности» (по Бианки, 1985).

При сопоставлении имеющихся экспериментальных данных создается впечатление, что правое полушарие у высших млекопитающих животных связано преимущественно с реализацией врожденных и приобретенных автоматизмов, в то время как левое вовлекается в деятельность каждый раз, когда требуется анализ новой ситуации и поиск оптимальных в этой ситуации решений. Об определенном тяготении левого полушария к когнитивно-коммуникативным компонентам организации поведения, а правого – к мотивационной сфере свидетельствует и характер распределения медиаторных систем, о котором мы упоминали выше. Сложнее обстоит дело с регуляцией эмоциональных реакций. При выраженной «эмоциональности» правого полушария мы нередко встречаемся с преобладающей активацией левого в ситуации эмоционального стресса. Возможно, это обусловлено сложной внутренней структурой эмоциональных состояний, включающей в себя и когнитивные (информационные), и мотивационные компоненты, соответственно представленные в левом и правом полушариях головного мозга (Фокин, 2004; Черноситов, 2000 и др.).

Популяционно-феногенетический подход к асимметрии животных представлен в работах В.М. Захарова (1987), Е.И. Микляевой, М.А. Куликова, М.Е. Иоффе, (1987) и др.

Крысы с лучшим развитием левосторонних корковых зон быстрее адаптируются к стрессу, причем асимметрия реакций на стресс обнаружена и при регистрации активности нервных клеток (Кураев и др., 1996 и др.). Функционально асимметричны не только структуры новой коры, но и образования лимбической системы.

Для полной реализации высших психических функций необходима сохранность не только структур правой коры, но и ряда подкорковых образований. Процессы памяти и оперирования ее следами тесно связаны с функциями гиппокампа. Будучи структурой, где мотивационное возбуждение от заднего и переднелатерального гипоталамуса сопоставляется с информацией, поступающей из внешней среды (через перегородку), равно как со следами ранее накопленного опыта (из коры), гиппокамп, по-видимому, осуществляет двойную функцию. Во-первых, он играет роль входного фильтра информации, подлежащей или не подлежащей регистрации в долговременной памяти. С другой стороны, гиппокамп участвует в извлечении следов из памяти под влиянием мотивационного возбуждения для использования этих следов в организации текущего поведения. Подобный вывод позволяет говорить о важной роли гиппокампа в творческой деятельности мозга, причем у человека гиппокамп доминантного полушария вовлекается в анализ словесных сигналов, а гиппокамп правого полушария – в анализ невербальных стимулов. Принцип асимметрии мозга животных справедлив и для распределения биологически активных веществ: «когнитивные» медиаторы – дофамин, гамма-аминомасляная кислота и ацетилхолин – «тяготеют» к левому полушарию, а «мотивационно-эмоциональные» серотонин и норадреналин – к правому. Выявлена правосторонняя биохимическая асимметрия при изучении продуктов окисления липидов и отношения холестерина к фосфолипидам после кратковременного болевого стресса у крыс, высокочувствительных к крику и боли партнера (Баллонов и др., 1976). Также показана индивидуальная чувствительность человека и животных к эмоциональному, болевому,

гипокинетическому и другим видам стресса (Юматов и др., 1990; Судаков, 1998; Пшенникова, 2002; Коплик, 2002 и др.).

Согласно теории А.И. Карамяна (1978) имеется строгая корреляция между степенью специализации структур мозга, свойствами условно-рефлекторной деятельности и сложностью поведенческих актов. Однако в создании устойчивой асимметрии оказывают влияние симметричные подкорковые образования, оказывающие модулирующие влияния на кору больших полушарий (Леутин, Николаева, 1988).

Также была сформулирована онтогенетическая гипотеза межполушарной асимметрии мозга (Полюхов, 1982). Автор определил ряд факторов, определяющих ее особенности и проявления в онтогенезе. Во-первых, А.М. Полюхов предположил, что под влиянием негенетического фактора слабой интенсивности у большинства особей левое полушарие имеет преимущество в скорости эмбрионального развития. Во-вторых, генетически детерминированное формирование билатеральных признаков определяет влияние латерализующего фактора, поскольку проявление генетической дисперсии асимметрии зависит от особенностей феногенеза формирующегося признака. Автор указал также на систематические средовые влияния, способствующие развитию функциональной специализации полушарий, в том числе, большую частоту праворукости. В то же время чрезмерные стрессовые влияния (пренатальный стресс, инсульт и т.д.) вызывают возникновение атипичной межполушарной организации. При этом с возрастом, а также при церебральной патологии увеличиваются средовые стохастические влияния, что влечет за собой дестабилизацию межполушарных асимметрий. Существует мнение о том, что при старении правое полушарие мозга теряет свои возможности раньше, чем левое (Borod, Goodglass, 1980).

Таким образом, показана роль функциональной асимметрии мозга в ряде функций организма, связанных с особенностями поведенческих реакций у особей в процессе онтогенеза, так и при действии раздражителей разной

степени интенсивности. Важную роль в управлении симметричными нервными центрами играет динамическая организация функциональной асимметрии, изменяемая в разных функциональных состояниях для адекватного соответствия деятельности головного мозга новым условиям. Вероятно, существует взаимосвязь между степенью функциональной специализации полушарий и индивидуальным нейрхимическим статусом, метаболическими процессами в мозге в целом. Данное предположение могло бы дать объяснение феномену динамики функциональной асимметрии мозга в онтогенезе, в частности, ее нарастание в начальном и ее снижение, нивелирование — в позднем онтогенезе. С другой стороны становится понятной и причина эффективности пептидных препаратов в регуляции функциональной межполушарной асимметрии (Соллертинская и др., 2013).

Несмотря на наличие большого количества публикаций по теме функциональной межполушарной асимметрии, остается еще ряд неразрешенных вопросов, касающихся устойчивости организмов с разным латеральным профилем к ишемии/гипоксии мозга. Поэтому актуальным представляется изучение состояния нейрхимических систем в структурах правой и левой половины мозга, а также исследование поведенческих реакций особей с разным латеральным профилем в условиях стрессового воздействия разной интенсивности.

Таким образом, возрастные особенности адаптивных реакций обусловлены функциональным состоянием как нейромедиаторных, так и других нейрхимических и молекулярных систем. Стрессовые факторы высокой интенсивности, а также процессы, связанные со старением способствуют значительным нарушениям сигнальной трансдукции, приводящим к снижению обучаемости и нарушению структуры поведения.

### **1.3. Методы изучения поведения и связанные с ним нейрохимические процессы. Нейропластичность**

Одной из наиболее используемых моделей изучения поведения является метод «открытого поля». Свободное поведение как интегративный показатель общего состояния организма и особенностей высшей нервной деятельности изучается во многих исследованиях (Епишина и др., 2006; Каменский и др., 1986; Мак-Фарленд, 1988; Титов, Каменский, 1980).

Одним из основных показателей индивидуальных особенностей реагирования является характер организации континуума «активность – покой» в цикле «бодрствование – сон» (Карманова, Оганесян, 1994).

Индивидуальные особенности поведения проявляются обычно в характере протекания отрицательных эмоциональных реакций, которые описываются уровнем двигательного возбуждения и направленностью вегетативных сдвигов (Горбунова, 2000). Эмоциональные реакции способствуют движению; в свою очередь, двигательные реакции влияют на уровень эмоционального напряжения. В исследованиях типологических особенностей поведения животных наиболее часто выделяют (Шульговский, 1993): 1. Ориентировочно-исследовательское поведение, осуществляемое через двигательные реакции. 2. Защитное поведение – пассивно-оборонительное по своему характеру, не способствующее анализу окружающей среды.

Животные, обладающие разными типологическими особенностями, реализуют в основном одну или другую из этих поведенческих форм. Ориентировочная активность обусловлена внешним раздражителем – новой территорией. Высокая ненаправленная двигательная активность в одном случае может мотивироваться определенным уровнем страха в условиях эксперимента, в другом – носить спонтанный характер и вызываться внутренним побуждением (Исмайлова и др., 2007; Кулагин, Болондинский, 1986). Ориентировочная активность снижается по мере угасания

ориентировочно-исследовательского поведения. Поэтому спонтанную активность измеряют после угасания ориентировочного поведения.

Показателями ориентировочно-исследовательского поведения являются горизонтальная и вертикальная активность (Ахапкина, Воронина, 2006; Кудякова и др., 2007). Эти формы локомоции зависят от общего уровня возбудимости животных (Hlavacova et al., 2006). С одной стороны, вертикальную активность обычно рассматривают как компонент ориентировочно-исследовательского поведения, но, с другой стороны, вставание на задние лапы с упором передними на стенку считают проявлением реакции страха (эмоциональное напряжение), вследствие которого животные стремятся к бегству из данной ситуации. По мере ознакомления животного с обстановкой его исследовательские реакции угасают (Григорьев и др., 2007).

Груминг часто появляется в ситуациях, не связанных с загрязнением шерсти животных, и наблюдается при новизне раздражителей, при пропуске ожидаемого положительного подкрепления, в ситуации «стресса ожидания» (Celis, Torre, 1993), при выработке тонких дифференцировок. Эта форма поведения оценивается как элемент ориентировочно-исследовательской активности (Пошивалов, 1978). Роль неспецифического груминга рассматривают в снижении общего уровня возбуждения и ограничении потока информации.

У одного и того же животного в зависимости от силы и модальности воздействия, его периодичности и непрерывности, в зависимости от изменяющихся условий эксперимента тип поведенческого реагирования может существенно изменяться. Биологической причиной сдвига в реализации форм поведения становится та или иная мотивация организма, зависящая от внешних или внутренних факторов, регулирующих ввод в действие всей функциональной системы поведенческого акта (Кулинский, Ольховский, 1992).

Мы считали необходимым привести столь подробное описание форм поведения грызунов, так как в большинстве экспериментов проводили анализ экспериментальных данных с учетом вышеуказанного подхода к изучению поведения.

Для изучения поведения животных также используют различные методы исследования обучаемости. В этой связи в литературе широко представлены данные о механизмах пластичности в нервной системе.

В основе формирования следа памяти лежат пластические перестройки в сетях нейронов. «Реорганизация связей» в сетях нейронов в отделах головного мозга, участвующих в адаптационных процессах, способствует повышению эффективности функционирования сохранившихся структур и более активное использование альтернативных проводящих путей (Черникова, 2005). Однако в условиях действия стресса чрезмерной интенсивности могут формироваться независимые патологические системы мозга (Крыжановский, 1997).

В целом понятие нейропластичности включает в себя восстановление функций после естественных повреждений и других нарушений, вызванных любыми агентами, способность нервной системы к функциональным перестройкам нейрональной организации. Нейропластические процессы лежат в основе восстановления нарушенных функций мозга, в том числе при различных неврологических заболеваниях (Семченко и др., 1995; Edwards, 1995; Jones, Harris, 1995). В процессе восстановления нарушенной функции выделяют два этапа: спонтанное восстановление вследствие репаративных процессов и реорганизацию нейрональных механизмов и процессов – нейропластичность. Спонтанное восстановление вследствие репаративных процессов отражает восстановление нормального функционирования неповрежденных участков мозга. Эти процессы обусловлены устранением влияния этиологического фактора, что приводит к нормализации кровообращения, регрессу отека, абсорбции некротизированных тканей

(Sheng, 2001). Активное участие в нейропластических процессах играют протеазы, в частности, каспаза-3 (Гуляева, 2003).

С морфологической точки зрения нейропластичность представляет собой совокупность ряда механизмов, в том числе: изменения количества, протяженности и конфигурации активных зон, числа шипиков дендритов и синапсов на них, спраутинг волокон сохранившихся клеток с формированием новых синапсов, компенсаторные возможности метаболизма на мембранном и молекулярном уровнях. Пластичность улучшает преобразование нервного сигнала вследствие усиления синаптической передачи за счет выработки синапсассоциированных белков при долговременном ее потенцировании (Lacour, 1998; Massion, Woollacott, 1996).

Показано, что в основе процесса нейропластичности лежит функционирование глутаматных рецепторов. NMDA-рецепторы играют специализированную роль вследствие уникальных особенностей связанных с ними ионных каналов и участвуют в разнообразных пластических нейронных событиях, включая инициацию длительной потенциации, которая является предположительным субстратом научения, памяти и установления синаптических контактов во время развития нейронов.

Нейропластичность, с одной стороны, определяет механизмы, вызывающие активацию ДНК и проявляющиеся усилением репаративного белкового синтеза. Данные механизмы преимущественно контролируются нейротрофическими факторами и нейротрофоподобными молекулами. С другой стороны, нейропластичность определяет механизмы, приводящие к активации процессов в мембранах, цитозоле и цитоплазматических органеллах, блокирующих клеточную смерть и параллельно имеющих возможность индуцировать появление репаративных молекул. Данные механизмы связаны с блокаторами ионных каналов, агонистами и антагонистами определенных рецепторов, ловушками свободных радикалов, хелаторами металлов и др. Все эти защитные механизмы могут быть естественными или фармакологически активированными.

В условиях развития окислительного стресса в мозге, в том числе, при нарушении мозгового кровотока, происходит и изменение метаболических процессов мозга, и, как следствие, наблюдаются отклонения в механизмах синаптической передачи церебральных нейронов, вовлекаемых в формирование энграммы (Eccles, 1977). Одновременно наблюдается чрезмерно длительное воздействие глутамата на нейрон или гиперстимуляция глутаматных рецепторов нейрональной мембраны, что приводит к эксайтотоксичности. Эксайтотоксичность – пусковой механизм некротической и апоптотической нейрональной смерти в условиях ишемии и других патологических состояний. При взаимодействии глутамата с ионотропными рецепторами в клетках происходит рост свободных ионов кальция и активных форм кислорода, в результате чего активируются протеинкиназы и каспаза-3, последняя – стимулирует пролиферацию (Boldyrev et al., 2004). На первой стадии ишемии мозга возникают обратимые функциональные изменения, прежде всего обратимая блокада синапсов. При продолжительной ишемии развиваются необратимые повреждения нейронов: последние гибнут по механизму некроза и апоптоза.

Важнейшие компоненты трансдукции сигнала – АФК и оксид азота – являются необходимыми посредниками, как пластичности, так и гибели нейрона (Contestabile, 2003; Chan, 2001; Dirksen, 2002; Keynes, Garthwaite, 2004; Annunziato, 2002). АФК опосредуют трансдукцию разнообразных сигналов (Finkel, 2000), реализуя как феномены нейропластичности, так и связанную с окислительным стрессом смерть нейронов (Forman et al., 2000; Knapp, Klann, 2002; Smythies, 1999).

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что «апоптотические» каспазы в нервной системе взрослых млекопитающих выполняют функции, связанные с реализацией феноменов нейропластичности и не связанные с апоптозом (Гуляева, 2003; Bazan, 2005; Gulyaeva, 2004; McLaughlin, 2004).

К важным механизмам реализации апоптоза относится активация некоторых протеаз. Наиболее изученными энзимами в настоящий момент

являются каспазы, образующие ферментный каскад. Каспазы расщепляют белки, отвечающие за различные жизненные функции клетки, в местах расположения аспарагиновых оснований (Thorberry, Lazebnik, 1998; Vaux et al., 1992). В настоящее время у человека идентифицировано 14 видов каспаз (Владимирская, 2002), которые по функциональным особенностям и специфичности к субстрату подразделяются на несколько групп. Активаторы цитокинов (каспаза-1, -4, -5, -13) могут быть вовлечены в равной степени в процесс клеточной смерти и воспаления. Индукторные каспазы (каспаза-2, -8, -9, -10) принимают апоптотический сигнал и передают его на эффекторные каспазы. Эффекторные каспазы – исполнители апоптоза (каспаза-3, -6, -7), ферменты, непосредственно гидролизующие структурные белки.

Каспазы находятся в клетках в виде проферментов с низкой каталитической активностью. Активация каспаз происходит путем их протеолитического расщепления в местах расположения аспарагиновых оснований с последующей димеризацией образованных активных субъединиц. Этот процесс может происходить путем аутоstimуляции при сближении двух прокаспаз, а также в результате направленного действия других протеаз и специальных адаптерных белков в процессе проведения апоптотических сигналов. Эффекторные каспазы после активации начинают цепь протеолитических событий, целью которых является апоптотический демонтаж клетки (Фильченков, 2003; Thornberry, Lazebnik, 1998).

Наиболее изученным представителем эффекторных каспаз является каспаза-3. Субстратом для этой каспазы служит множество белков цитоскелета (ламнин, G-актин, фодрин, пресенилин), ферменты репарации ДНК и регуляторы клеточного цикла (PARP, pRb), протеинкиназы (MEKK 1, FAK, PAK 2) – так называемые «субстраты смерти». Активация каспазы-3 начинается, когда несколько молекул прокаспазы-9 (неактивного предшественника каспазы-9) связываются с Apaf-1 (Nicholson, Thornberry, 1997; Thornberry, Lazebnik, 1998). После образования комплекса прокаспаза-9 расщепляется на каспазу-9 и короткий пептид, не обладающий активностью

(Скулачев, 2001). Капаза-9 атакует прокаспазу-3, расщепляя ее с образованием активной каспазы-3. Каспаза-3 содержит RGD-последовательность (аргинин-глицин-аспартат) вблизи активного центра фермента. В молекуле прокаспазы-3 эта последовательность вовлечена во внутримолекулярное взаимодействие, придающее молекуле профермента такую конформацию, при которой протеазная активность не может проявиться (Gulyaeva et al., 2003). Таким образом, одним из маркеров апоптотической гибели клеток является активность каспазы-3. Следует отметить, что каспазы, являясь основными эффекторами апоптоза, до конца не монополизируют эту клеточную деятельность. Существуют независимые от каспаз механизмы апоптоза (Graeber, Moran, 2002). В ряде клеточных систем апоптоз может происходить и при инактивации каспаз, за счет активности других эффекторов: активированных кальцием протеаз, сериновых и лизосомальных протеаз, эндонуклеаз (Blagosklonny, 2000).

Следующие важнейшие компоненты сигнального каскада – ферменты: протеинкиназы, протеинфосфатазы и фосфолипазы, которые опосредуют как гибель, так и выживание нейрона (McConkey, Orrenius, 1996; Liou et al., 2003). Протеинкиназы в частности протеинкиназа  $CK_2$ , участвуют в контроле генной экспрессии. Эта киназа является одним из ключевых ферментов в трансдукции гормонального сигнала, входит в состав рецепторов эстрогенов и андрогенов и (Pinna, Meggio, 1997). Кроме того, протеинкиназа  $CK_2$  может регулировать длительность открытия NMDA-рецепторов. При заболеваниях, сопровождающихся нарушением памяти, в том числе, при когнитивных дефицитах при старении снижается активность протеинкиназы  $CK_2$  и фосфорилирования белков (Рейхард и др., 2001; Yasojima et al., 2000). В тоже время показано, что у крыс с высоким уровнем обучения наблюдается значительные повышения активности протеинкиназы  $CK_2$  по сравнению с группой плохо обучаемых условной реакции активного избегания (Куликова и др., 1997). Таким образом, ферменты, которые в большинстве работ рассматриваются как апоптотические, участвуют в реализации нормальной

пластичности клеток (Algeciras-Schimmich et al., 2002; Los et al., 2001; Mattson et al., 1999; Perfettini, Kroemer, 2003; Tomimatsu et al., 2002).

При ишемии мозга усиление гиперпродукции активных кислородных метаболитов и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) ведет к деструкции мембран и гибели нейронов (Биленко, 1989; Hirai et al., 1998; Armstead et al., 1988; Horakova et al., 1990).

В настоящее время описаны два основных пути клеточной смерти: активный и пассивный, которые характеризуются различными морфологическими и молекулярными проявлениями и разными эффектами на окружающие ткани. Некроз – это процесс, который может быть вызван почти всеми патологическими воздействиями (включая физические, химические и биологические). Последовательность патологических событий при некрозе всегда сходна: осмозис, вызванный клеточным отеком, приводит к пассивной смерти поврежденной клетки (Белушкина, Северин, 2001; Schaffer et al., 2000). Одним из вторичных его эффектов является воспаление, вызываемое высвобождаемым клеточным содержимым и сопровождающееся выработкой цитокинов (Коган, 1998). Таким образом, некроз всегда обусловлен грубой патологией, его механизмы не требуют затрат энергии и предотвратить его можно, только устранив причину повреждения (Скворцова, 2001).

Другим механизмом клеточной смерти является апоптоз, который, в отличие от некроза, нуждается в АТФ (Muresanu, 2003). Роль апоптоза в обновлении и утилизации клеток является решающей и общепризнанной. Апоптоз – это процесс клеточной элиминации, обеспечивающий развитие многоклеточного организма в ходе метаморфоза, эмбрио- и морфогенеза. У взрослых индивидуумов апоптоз направлен на поддержание гомеостаза за счет удаления клеток, утративших свою функцию, и клеток, представляющих потенциальную опасность для организма (мутантные и аутореактивные клетки, клетки, инфицированные вирусом, и др.) (Magno, Joris, 1995).

В настоящее время исследуют роль апоптоза при патологических процессах, вызываемых различными повреждающими факторами. Так, повышенная активация апоптоза является звеном патогенеза СПИД (Уманский, 1996; McKenna, Cotter, 1997), нейродегенеративных и миелодиспластических заболеваний (Лушников, Абросимов, 2001; Mattson, Duan, 2002; Thatte, Dahanukar, 1997), а также ишемических повреждений различных органов (Симоненко и др., 2000; Petito et al., 1998; Takemura et al., 1998). Ингибирование клеточной гибели лежит в основе опухолевых поражений (Сладкова и др., 2000; Hersey, Zhang, 2003; Hug, 1997), аутоиммунных и вирусных заболеваний (Мохиль-Дейн и др., 2002; Робинсон, Труфакин, 1991; Irie et al, 1998). В последнее время изучается роль апоптоза при инфаркте миокарда, шоковых состояниях, постреперфузионных нарушениях, сепсисе (Миролюбова и др., 2001; Krijnen et al., 2002; Oberholzer et al., 2001; Jeremias et al., 2000; Zhao, Vinten-Johansen, 2002). Принято считать, что каскад апоптозных процессов может быть спровоцирован либо прямым действием на геном клетки (вирусы), либо через нейромедиаторы (глутамат), либо причинами, связанными с ишемией клетки, ее физическим повреждением, реперфузией, токсическим воздействием. Биохимические процессы, сопровождающие апоптоз, проявляются экспрессией специфических генов и синтезом особых белков клетки, запускающих реакции апоптоза. Число таких «инициаторов», связанных с патологиями различной этиологии, оказывается значительным. Такая полиэтиологичность предопределяет инициацию апоптоза при многих патологических состояниях – как всего организма, так и отдельных его органов или клеточных популяций (Ярилин, 2001).

Первые морфологические признаки апоптоза – конденсация хроматина (Михайлов, 2001). Позже появляются вдавления ядерной мембраны, и происходит ферментативное расщепление ДНК. Вследствие активации семейства белков, именуемых каспазами, начинаются процессы протеолиза, приводящие к гидролизу структурных белков клетки (Лушников, Абросимов,

2001). Кульминацией данного процесса считают активизацию нуклеаз, когда начинается фрагментация геномной ДНК, что является биохимическим маркером апоптоза (Negoescu et al., 1998). После реализации этого этапа процесс становится необратимым. Отшнуровавшиеся фрагменты ядра, ограниченные мембраной, обнаруживаются вне клетки, их называют апоптотическими тельцами (Lash, Cartwright, 1999). На данном этапе клетка еще жива. В цитоплазме происходят расширение эндоплазматического ретикулума, конденсация и сморщивание гранул. Дальнейшая судьба апоптотических телец в ткани мозга связана с фагоцитарной активностью микроглиоцитов. Последние экспрессируют рецепторы, распознающие фосфатидилсерин мембранной поверхности апоптотических телец (Калиниченко, Матвеева, 2007). В их элиминации участвуют ферменты лизосом фагоцитов, а лизосомы самих апоптотических клеток остаются интактными на протяжении всего процесса (Chung et al., 2006; Cohen, 1993). При этом не возникает воспалительной реакции (Зенков и др., 1996). Следует отметить, что в жидкой среде желудочков мозга апоптотические тельца элиминируются без участия макрофагов, за счет спонтанной дегенерации по механизму «вторичного некроза» (Никитина и др., 2006). Таким образом, уничтожение клеток путем апоптоза обеспечивает минимальное повреждение тканей по сравнению с некротическим механизмом гибели, когда вокруг гибнущих клеток скапливаются их активные внутриклеточные компоненты, включая энзимы, закисляется среда, что способствует гибели других клеток и развитию очага воспаления (Schaffer et al., 2000).

Клеточная гибель является следствием реализации нескольких механизмов: увеличения внутриклеточной концентрации свободного  $Ca^{2+}$ , отека сосудистого происхождения, активации свободнорадикального окисления (СРО) (Christensen et al., 1994; Sonijen, 1987). Одной из причин интенсификации перекисных процессов в мозге может являться возрастание каспазной активности в олигодендроцитах (Драпкина и др., 2003).

В условиях гипоксии накапливаются активные формы кислорода (АФК), в частности супероксид-анион, который в присутствии супероксиддисмутазы (СОД) диспропорционирует на кислород и перекись водорода. В свою очередь, перекись водорода вступает в реакцию со свободными ионами железа и меди, что сопровождается образованием высокотоксичных гидроксильных радикалов, мишенями для которых являются полиненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран и молекула ДНК. Повреждение последней приводит к клеточной гибели, индукторами которой служат ряд ферментов, в том числе семейство каспаз (Скулачев, 2001).

Молекулярные процессы апоптоза запускаются в цитозоле или мембранных органеллах клетки, но реализуются исключительно в ядре через репрессию генов и необратимый процесс межнуклеосомной фрагментации ДНК. В большинстве клеток такую фрагментацию ДНК катализируют  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -зависимые эндонуклеазы, которые работают на линкерных участках макромолекулы (Rich et al., 2000), поэтому хроматин не подвергается полному лизису, а лишь фрагментируется. Расщепление ДНК происходит в несколько этапов с формированием все более мелких фрагментов. Сначала образуются фрагменты, включающие 700, 200–250, 50–70 тыс. пар оснований. Микроскопически этот этап определяется как конденсация хроматина с выпячиванием ядерной оболочки (Ярилин, 2001). Затем – фрагменты, содержащие 30–50 тыс. пар оснований (Steller, 1995). На этой стадии происходит инвагинация ядерной мембраны. На последнем этапе происходит расщепление ДНК в участках сцепления нуклеосом и образование фрагментов из 180–190 пар нуклеотидов (Сладкова и др., 2000; Yan, Shi, 2005).

Факторы, инициирующие апоптоз, чрезвычайно многообразны: гипоксия, высокая температура, ионизирующая радиация, ультрафиолетовое излучение и др. При этом существует несколько механизмов индукции апоптоза: мембранные, митохондриальные и ядерные (Владимирская, 2002).

Мембранные, или рецептор-опосредованные факторы включают реализацию апоптогенного сигнала через специальные рецепторы, С-концевой внутриклеточный домен которых (death domain, DD) способен инициировать дальнейшие этапы развития апоптоза. Рецепторы гибели расположены на поверхности клетки и служат сенсорами внеклеточных сигналов к апоптозу. Эти сигналы подаются рецептор-специфическими лигандами, которые могут быть сцеплены с мембраной или находиться в растворимой форме. Взаимодействие «лиганд – рецептор» мгновенно привлекает к зоне интереса молекулы, преобразующие сигнал к апоптозу. Наиболее изученными и имеющими, вероятно, наибольшее биологическое значение являются специфические рецепторы Fas (APO-1/CD95) (Петухов, 2000), образованные комплексом трансмембранных протеинов, входящие в суперсемейство цитокинов (Полосухина и др., 2000; Israels, Israels, 1999). Взаимодействие рецептора Fas и соответствующего лиганда (Fas-лиганда) приводит к образованию кластеров рецепторных молекул и связыванию их внутриклеточных участков с адаптером FADD (Fas-associated death domain). Взаимодействие адаптера с рецептором осуществляется через гомофильные белок-белковые взаимодействия небольших доменов: DD (death domain – домен смерти), DED (death-effector-domain – домен эффектора смерти), CARD (caspase activation and recruitment domain – домен активации и рекрутирования каспазы) (Мойбенко и др., 2005). TNF- $\alpha$  представляет собой растворимый цитокин, синтезируемый активированными Т-лимфоцитами и макрофагами. После его связывания с TNF-рецепторами (TNF-R1) происходит мобилизация белка TRADD (TNF receptor-associated death domain). Это, в свою очередь, приводит к усилению продукции ядерного фактора транскрипции (NF- $\kappa$ B) и активатора плазминогена-1 (AP-1) (Hsu et al., 1995).

Таким образом, адаптерные белки FADD и TRADD взаимодействуют с цитоплазматическими протеинами, которые содержат домен смерти и ведут к апоптозу через активацию каспазы-8 и последующего каскада каспаз. Однако

при повреждении ДНК, радиации, действии токсических агентов, действии глюкокортикоидов, прекращении цитокиновой регуляции возможна и первоначальная активация каспазы-9 (Владимирская, 2002). Помимо наиболее изученных Fas- и TNF-рецепторов в настоящее время обнаружен ряд других рецепторов гибели клеток: DR3 (death receptor 3), DR4, 5 и 6 (Мойбенко и др., 2005). Известно, что митохондрии являются своеобразными сенсорами кислородного обеспечения клеток, поэтому при различных гипоксических состояниях, оксидативном стрессе, нарушении окислительного фосфорилирования и энергообеспечения клетки в целом включаются митохондриальные механизмы апоптоза (Bratton, Cohen, 2001; Feuerstein, Young, 2000). Внутри митохондрий содержится ряд белков (цитохром *c*, Smac/DIABLO, HtrA2/Omi, эндонуклеаза G и др.), попадание которых в цитоплазму приводит к запуску апоптоза (Li et al., 2001). Так, высвобождаемый из митохондрий цитохром C способствует олигомеризации цитозольного белка – апоптозоактивирующего фактора (Araf), на котором происходит протеолитический процессинг каспазы-9 (Мойбенко и др., 2005). Ядерные механизмы апоптоза включаются в результате повреждения генетического материала. Огромное значение в реализации апоптотического сигнала в данном случае играет белок p53. При повреждении ДНК наступает экспрессия wt p53, вызывающая ингибицию генов, способствующих росту, и экспрессию генов проапоптотических факторов (bax), рецепторов семейства TNF и целого ряда генов-онкосупрессоров, протеины которых являются ингибиторами циклин-зависимых киназ (Cdk) – ключевых ферментов деления клеток (Райхлин, Райхлин, 2002).

Анализ приведенных данных литературы свидетельствует об общности механизмов, функционирующих при выживании и гибели клеток (Балабан, Гуляева, 2006). Как ранее было указано, одна из эффекторных проапоптотических протеаз - каспаза-3, - участвует не только в реализации апоптоза, но и во многих стадиях клеточного цикла и в процессах пролиферации (Waszak et al. 2002). В последнее время появляются новые

данные о неапоптотических функциях каспазы-3, которая вовлечена в биохимические каскады, связанные с нейропластичностью, лежащей в основе интегративной деятельности нервной системы (Балабан, Гуляева, 2006; Гуляева, 2003; Gulyaeva et al., 2004). Также показано, что проведение сигнала, ведущего к дифференцировке клеток, происходит с участием апоптотических механизмов (активация каспаз, накопление межнуклеосомных фрагментов ДНК), однако приводит не к гибели клетки, а к изменению ее функционального состояния (Мошникова и др., 2003).

Интенсивность свободнорадикальных процессов также определяет функциональное состояние клетки. В физиологических условиях образование активных кислородных метаболитов (АКМ) в клетках сдерживается на определенном уровне антиоксидантной системой (АОС), которая включает внутри- и внеклеточные АО – ферментативные и неферментативные системы. АО-ферменты (СОД, каталаза и ГПО) катализируют реакции с участием активных форм кислорода, что приводит к образованию неактивных продуктов. Все АО-ферменты взаимодействуют и локализуются в клетках в местах «максимальной окислительной опасности» – митохондриях, цитозоле, эндоплазматическом ретикулуме, а также в ядрах клеток. Существует группа АО-ферментов, использующих восстановленный глутатион (ВГ) в качестве кофактора, донора электронов и протонов, материала для обезвреживания электрофильных соединений. ГПО обезвреживает  $H_2O_2$  и липидные перекиси, проявляя свою активность в защите главным образом мембран. Глутатионредуктаза (ГР) восстанавливает окисленный глутатион, реактивируя тем самым систему. Обширная группа глутатион-S-трансфераз (ГТ), наряду с пероксидазной активностью, обладает способностью алкилировать токсичные электрофильные соединения, конъюгируя их с ВГ. При этом достигается эффект детоксикации, а ВГ необратимо расходуется (Меньщикова и др., 2006). Существуют системы, предназначенные для связывания и инактивации ионов металлов переменной валентности, главным образом железа (II), которые являются эффективными

катализаторами образования свободных электронов в биологических системах. Кроме специфических белков (ЦП в плазме крови, ферритин, лактоферрин в крови и клетках), к их числу относят также белки, пептиды и низкомолекулярные соединения, способные хелатировать катионы металлов (Владимиров, 2000; Дремина и др., 1993). Помимо ферментных систем, в клетках существуют также низкомолекулярные соединения различной химической природы, которые способны перехватывать свободные радикалы и, таким образом, тормозить цепные реакции СРО. Из них наибольшей специфичностью и эффективностью обладают липидные АО:  $\beta$ -токоферол, каротиноиды, убихиноны и флавоноиды (Burton, Traber, 1990; Cos et al., 1998; Pobezhimova, Voinikov, 2000). Выраженными АО-свойствами обладают также эндогенные тиолы, аскорбиновая, лимонная, никотиновая кислоты, мочевины, мочевая кислота, аргинин, полиамины, катехоламины, билирубин, стероидные гормоны, большинство фосфолипидов, холестерин и другие соединения (Бурлакова, 1997; Венгеровский, 2002; Кричевская и др., 1980; Меньщикова, Зенков, 1993; Осипов и др., 1990; Johnson et al., 2003; Sanguinetti et al., 2004). Наконец, в АО-защиту по мере необходимости включаются также тормозные медиаторы, например гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) (Зозуля и др., 2000), посредством своей способности, как к пре-, так и к постсинаптическому торможению, а также тормозному влиянию на гипоталамические центры регуляции вегетативной нервной и эндокринной систем, что существенно ограничивает продукцию стрессовых гормонов. Тем самым удается предотвратить вторичную активацию ПОЛ (Меерсон, 1981). Совокупность этих веществ и механизмов их реализации и образует АОС защиты. СРО при относительно низкой его интенсивности относится к одному из видов нормального метаболизма. С процессами ПОЛ связаны такие биологические явления, как окислительное фосфорилирование в митохондриях, генерация и проведение нервного импульса, клеточное деление, синтез ряда гормонов, механизмы регуляции мембранной проницаемости и активности мембранных ферментов (Соколовский, 1988).

При стрессорных и патологических состояниях баланс в системе «АКМ – антиоксиданты» может нарушаться; преобладание продукции АКМ в результате повышения их образования или истощения антиоксидантов сопровождается активацией деструктивных процессов и получило название «окислительный стресс» (Меньщикова, Зенков, 1993; Sies, 1991). Так, при ишемии снижается активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, ГПО), что ограничивает способность клеток инактивировать возникающие АКМ (Хмелевский и др., 1992; Prasad et al., 1992). Это приводит к повреждению полиненасыщенных жирных кислот мембранных фосфолипидов и аккумулярованных жирных кислот типа арахидоновой; к инициации ПОЛ и, таким образом, к возникновению новых радикалов и дальнейшему повреждению клеток (Андриадзе и др., 2001; Коган и др., 1992).

Важное значение для понимания механизмов повреждения клетки в условиях воздействия стресс-фактора с целью предупреждения или коррекции нарушений имеет вопрос о мембрано- и цитотоксическом действии АКМ. Механизм действия АКМ на макромолекулы клетки двоякий – прямое ковалентное связывание с белками мембран или опосредованное через индукцию процесса ПОЛ. Взаимодействуя с белками, АКМ снижают уровень мономеров, образуют продукты белковой интеграции и липопротеиновые комплексы. Цитотоксический эффект АКМ может быть следствием хромосомной аберрации, связанной с модификацией или разрывом нитей ДНК. В качестве субстрата АКМ чаще рассматривают ненасыщенные липиды мембран, подвергающиеся ПОЛ, триггерным механизмом которого считают радикалы кислорода, и в частности гидроксил. Сами липоперекиси и липопероксильные радикалы также проявляют токсичность на уровне мембраносвязанных молекул (Барабой и др., 1992).

Накопление свободных радикалов и ингибирование тканевых окислительных систем запускает программу запланированной смерти (Скулачев, 2001; Hill, Singal, 1996; Keller et al., 1998; Kuan et al., 2000;

Beckerman et al., 1993). В настоящее время АКМ рассматривают как внутриклеточные регуляторы пролиферации и апоптоза (Ванин, 2000). Особая роль в регуляции процессов клеточной смерти принадлежит оксиду азота (NO). Результаты исследований ряда авторов свидетельствуют о проапоптотической функции оксида азота (Реутов, 2000; Estévez et al., 1998; Yang, Park, 2006). Известно, что высокий уровень NO активирует апоптотические процессы (Linnik et al., 1993). Показано, что NO и его производные вызывают перекисное окисление компонентов митохондриальных мембран, в результате чего происходит повреждение структуры цитохрома, что сопровождается высвобождением в цитозоль апоптогенных факторов, в том числе каспазы-3 (Bauer, 2000; Ferri, 2000).

С другой стороны, имеются данные, что малые дозы NO предупреждают развитие апоптоза. Согласно этим исследованиям, оксид азота стабилизирует каспазы, препятствуя их активации и блокируя Fas-индуцированный путь развития запрограммированной клеточной гибели (De Nadai et al., 2000; Mannick et al., 1999).

Таким образом, в организме не заложено специальных механизмов, реализующих патологию. Патологические изменения развиваются при нарушении «нормальных» механизмов, при этом нарушения заключаются в том, что функционирующие в норме механизмы реализуются в иной степени, в иной период или в иных клеточных и внеклеточных компартментах. Это особенно важно учитывать при исследовании мозга, деятельность которого управляется многочисленными сложнейшими системами меж- и внутриклеточной сигнализации. В условиях стресса судьба клетки определяется совокупностью различных адаптационных метаболических процессов, индуцированных воздействием, а также генетическими особенностями ее защитных биохимических систем (Меерсон, 1981).

Таким образом, представление о плеiotропности базовых молекулярных механизмов, необходимых для нормального функционирования нейрона или

принимающих участие в его повреждении и гибели, является принципиальным методологическим подходом.

Все вышеприведенные данные исследований механизмов пластичности в нервной системе проанализированы с целью актуализации проблемы коррекции нарушения поведения в условиях стресса.

Большое значение для практической медицины имеет подбор химических соединений, которые, включаясь в метаболические процессы или структуры клетки, препятствовали бы нарушению метаболических процессов в организме на этапе его взаимодействия с факторами высокой интенсивности и укорачивали бы время адаптации. Перспективными являются природные метаболиты, обладающие свойствами регуляторов метаболизма и функций. В этом плане особый интерес представляют регуляторные пептиды.

#### **1.4. Роль пептидов и нейромедиаторов в регуляции функций мозга**

В реализации нейропротекторных свойств регуляторных пептидов, используемых для коррекции гипоксических и ишемических повреждений мозга, лежат комплексные механизмы защиты: способность к ингибированию процессов перекисного окисления липидов, повышение антиокислительной активности ткани мозга, влияние на метаболизм цАМФ, возбуждающих аминокислот, воздействие на церебральную микроциркуляцию.

На моделях ишемии и экстремальной гипобарической гипоксии мозга крыс выявлено нейропротекторное и противогипоксическое действие ряда пептидов (кортексина, карнозина, АКТГ<sub>4-10</sub>, семакса, дельта-сон индуцирующего пептида), их действие реализуется через влияние на медиаторные системы мозга, рецепторное связывание, модуляцию свободнорадикальных процессов и т.д. (Левин, Сагова, 2004; Менджеричский и др. 2003, 2007; Хама-Мурад и др., 2008; Фадюкова и др., 2005; Nyakas et al., 1997; Mendzeritski et al., 2008 и др.).

В том числе, высказано предположение об участии эндогенных пептидов, секретируемых нервными клетками при их активации, в механизмах индукции и развитии долговременной посттетанической потенциации (Мокрушин, 2002). Возможно, пептиды являются теми сигнальными молекулами, которые участвуют в регуляции экспрессии ряда генов нейронов, что определяет формирование разнообразных форм обучения в процессе адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. К ним можно отнести выработку навыка двухстороннего активного избегания и новых двигательных навыков, обучение зрительной дискриминации, пространственное обучение, формирование условных пищевых рефлексов, обучение пассивному избеганию, выработку вкусовой аверсии, контекстуального и условно-рефлекторного страха и целый ряд других поведенческих моделей. Эти опыты показали, что подавление трансляции мРНК *c-fos* в структурах мозга нарушает долговременную, но не кратковременную память (Александров, 2004; Соловьева и др., 2006; Беленичев и др., 2008; Anokhin, 1991; Sheng, Greenberg, 1990; и др.). Нейропептиды стимулируют синтез трофогенов через усиление экспрессии мРНК и торможение производства их ингибиторов (Новожилова и др., 1996).

Синтез нейротрофинов стимулируется высвобождением нейротрансмиттеров, контролируемым нейромодуляторами. В трофическом обеспечении нейрона участвуют и нейромедиаторы, и комедиаторы через активацию комплекса протеинкиназы, последующее фосфорилирование, связанных с регуляцией генома белков, и синтез мРНК. Так, соматотропин способствует регенерации тканей и выживанию клеток через его действие на инсулиноподобный ростовой фактор-1 (Панков, 1999).

Хорошо известна роль нейропептидов в качестве нейромодуляторов: изменение баланса активирующих и тормозных медиаторов влечет за собой изменение состояния перекисных процессов в структурах мозга. Например, вещество Р угнетает возбуждающие ответы кортикальных клеток на ацетилхолин, а спинальных нейронов – на глутамат; соматостатин угнетает

вызванное электростимуляцией выделение норадреналина в гипоталамусе (Мокрушин, 2002). В литературе имеется обширный фактический материал о взаимодействии пептидов и катехоламинов (Островская и др., 2004; Chuang et al., 2001). Многие пептиды (соматостатин, холицистокинин, нейротензин) влияют на активность лимитирующего фермента синтеза катехоламинов – тирозингидроксилазы. Под контролем пептидов (например, нейропептида Y, дельта-сон индуцирующего пептида, неокиоторфина, киоторфина) находится и процесс секреции моноаминов (Менджеричкий, Лысенко, 2003; Островская и др., 2004).

Представляет интерес, что целый ряд заболеваний мозга сопровождается изменением гормонального баланса в организме; имеются сообщения об изменении уровня тиреоидных и кортикостероидных гормонов при аффективных расстройствах и психоподобных состояниях. Предполагают, что нейромедиаторы также могут быть индукторами экспрессии генов (Александров, 2004). В настоящее время возрастает интерес к рецепторам нейростероидов (глюкокортикоидов) в неврологической практике, поскольку они играют большую роль в регуляции ответа организма на стресс. Это показано на культуре клеток гиппокампа человека и у интактных животных, что отражает независимость такого эффекта от ранее установленного тормозящего действия нейростероидов на процесс обратного захвата моноаминов (Lee et al., 1999).

Таким образом, регуляция поведения осуществляется на разных уровнях организации организма. В том числе, в литературе широко представлены данные о роли нейромедиаторов в модуляции поведенческих реакций.

Опыты М.Т. МакГвайера и др. показали роль серотонина в определении социального статуса и упорядочении ранговой иерархии у разных животных: сверчков, омаров и обезьян. Установлено, что более высокие уровни серотонина соответствуют более высокому рангу в иерархии. Так, доминант в группе зеленых мартышек-верветок имеет больше серотонина в сыворотке

крови и продукта переработки серотонина – 5-гидроксииндоуксусной кислоты – в спинномозговой жидкости, нежели подчиненные особи.

При дефиците серотонина у человека независимо от типа личности наступает депрессия и снижение контроля за импульсивным поведением. Дефицит серотонина стимулирует некоторые виды агрессии, в частности агрессивность, вызванную страхом.

Однако целенаправленное самоутверждающее (ассертативное) поведение, также часто вовлекающее элементы агрессии, наоборот, свойственно индивидам с высоким уровнем серотонина. Конечно, нельзя все сводить только к низким или высоким уровням серотонина. От типа личности (включая характерные для нее уровни других нейротрансмиттеров) зависит, каковы будут последствия, например, снижения активности серотониновой системы мозга: депрессия, самоубийство, убийство, поджог или отсутствие социально опасных результатов. Так, снижение уровня серотонина в мозгу вместе с повышением уровней катехоламинов (норадреналина, дофамина) – предпосылка повышенной социально опасной агрессивности.

Другой классический медиатор, который играет ключевую роль в реализации поведенческих актов, – это норадреналин. Считают, что норадреналин участвует в процессах регуляции функционального состояния, оказывает влияние на двигательную активность.

Низкое содержание дофамина в соответствующих участках мозга ведет к потере инициативы («сидению и мечтанию»), более серьезный дефицит – к полной невозможности совершить активное действие; дальнейшее развитие этого состояния может вести к синдрому Паркинсона. Избыток дофамина способствует поведению, связанному с «поиском наслаждений» (гедонистическое поведение), но слишком существенный избыток этого нейротрансмиттера рассматривают, по одной из гипотез, как причину шизофрении.

Во время старения, так же как и при стрессе, самыми сильными

изменениями нейромедиации являются нарушения трансмиссии дофамина, серотонина и норадреналина. Например, в процессе старения в заднем мозге снижается концентрация норадреналина, что отрицательно коррелирует с увеличением активности моноаминоксидазы А (МАО А) (Чернилевский, 2001). Сдвиги активности ферментов, участвующих в биосинтезе дофамина, являются результатом деятельности генорегуляторных механизмов старения, ведущих к активации или подавлению генов. Также показано, что генерация  $O^{2-•}$  может быть следствием аутоокисления катехоламинов (Меерсон, Пшенникова, 1989).

Относительное преобладание тормозных серотонинергических эффектов может усугубить явления экстрапирамидной недостаточности, что ведет к снижению двигательной активности. С возрастом нарастает возбудимость заднего гипоталамуса, который обеспечивает передачу тормозных влияний хвостатого ядра в кору. Недостаточность нигростриарной системы и усиление активности нейронов хвостатого ядра приводят к увеличению возбудимости структур заднего гипоталамуса, а, следовательно, к ослаблению условных рефлексов, замедлению и ограничению произвольных движений. Также ослабевают тормозные процессы, происходящие в таламусе, что изменяет поток информации, поступающий через таламус в высшие отделы мозга (Фролькис, 1998).

В результате стресса повышается уровень катехоламинов, которые в высоких дозах токсичны и могут усугублять развитие окислительного стресса. Дофамин при этом может окисляться до формы супероксида и  $H_2O_2$ , которые, в свою очередь, формируют гидроксильные радикалы в присутствии металлов переходной валентности. Это приводит к ингибированию функций протеинов, что отражается на повреждении и/или гибели клеток (Яхно, Штульман, 2001).

При различных формах стресса у старых животных высвобождение Д-(3Н)-аспартата, неметаболизированного аналога L-глутамата, увеличено по сравнению с высвобождением у молодых животных. Увеличенное

высвобождение Д-аспартата в гиппокампе стареющего мозга зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и усиливает токсичность возбуждающих аминокислот и последующую гибель клеток. Блокаторы  $\text{Na}^+$ -каналов индуцируют такое же выделение глутамата, как и при ишемии (Зайчик и др., 2003).

Холинэргическая стимуляция связана с увеличением мощности антиоксидантных систем клетки, нейтрализуя активные формы кислорода (АФК), способствует повышению устойчивости клетки к апоптозу (Новожилова и др., 1996). Защитная система антиоксидантов важна в поддержании клеточного гомеостаза и предотвращении окислительного стресса. Поэтому антиоксиданты способствуют общему замедлению старения организма (Анисимов, 2000).

В условиях стресса, например, при нарушении мозгового кровообращения могут проявляться аффективные расстройства, и в первую очередь – депрессия. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что в основе механизмов развития депрессивных состояний лежит подавление моноаминергических, в первую очередь серотонинергической и катехоламинергической, медиаторных систем (Frasure-Smith et al., 1995). Это подтверждают данные исследования эффектов трициклических антидепрессантов, которые вызывают адаптивные изменения в структуре некоторых подтипов серотониновых рецепторов (5-НТ<sub>1А</sub> и особенно 5-НТ<sub>2А</sub>), повышая их чувствительность к медиатору. На аутопсийном материале обнаружено увеличение плотности 5-НТ<sub>2А</sub>, а также  $\beta$ -адренэргических рецепторов в мозге лиц, покончивших самоубийством. Длительное применение антидепрессантов приводит к сенсibilизации постсинаптических 5-НТ<sub>2А</sub>-рецепторов.

Наряду с серотонинергической системой важный вклад в развитие депрессивных состояний вносит катехоламинергическая нейротрансмиссия. На это указывает возможность снятия депрессии лекарственными препаратами, которые тем или иным путем повышают содержание нейромедиатора. При длительном (более 2 недель) применении

антидепрессантов, особенно ингибирующих ферменты распада моноаминов, начинают проявляться сложные изменения во многих медиаторных системах.

На основании вышесказанного, исследование баланса нейромедиаторов при нарушении мозгового кровообращения у экспериментальных животных может способствовать раскрытию отдельных физиологических механизмов устойчивости организма к ишемии мозга. Так, известно, что у животных с разным уровнем устойчивости к стрессу существуют различия в распределении нейромедиаторов в мозге (Июффе и др., 2004).

Таким образом, современный период развития биологии и медицины характеризуется значительной концентрацией усилий в области создания биорегуляторов на основе пептидов, обладающих антиоксидантными и адаптогенными свойствами, изучением возрастных особенностей их эффективности и обоснованием целесообразности применения в профилактике и терапии различных патологических состояний (Ашмарин и др., 2006; Хавинсон и др., 2003). В связи с этим актуальным является исследование эффектов гипоксии/ишемии мозга на поведение в экспериментальных моделях у животных разного возраста, выявление роли функциональной межполушарной асимметрии в устойчивости к стрессу и влияния пептидных препаратов на поведенческие реакции, а также установление нейрохимических критериев устойчивости к стрессовым факторам, что и входило в задачи данной работы.

## ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Работа с животными

Все эксперименты с животными были выполнены в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и декларацией о гуманном отношении к животным.

В исследовании использованы 21-суточные крысы (n=508); половозрелые беспородные крысы-самцы в возрасте 3-4 мес. массой 250-350 г (n=868), в том числе, 200 животных в модели ОСМА и 200 крыс в модели ОСА для изучения роли ФМА в устойчивости организма к ишемии/гипоксии мозга; 18-месячные крысы-самцы (n=315); беременные беспородные крысы (180–200 г) с 21–22-дневным циклом гестации (n=98). Срок беременности крыс определяли, считая со дня обнаружения спермиев в вагинальном мазке. После совокупления через 6–8 часов осуществляли цитологическое исследование содержимого влагалища, и беременных крыс изолировали.

В качестве моделей ишемии/гипоксии мозга использовали пренатальную гемическую гипоксию (ГемГ), пренатальную гипоксическую гипоксию (ГГ) разной продолжительности, двустороннюю окклюзию сонных артерий (ОСА), окклюзию средней мозговой артерии (ОСМА), острую гипоксическую гипоксию (ОГГ).

С целью выявления факторов устойчивости к гипоксии/ишемии мозга исследовано: влияние функциональной межполушарной асимметрии (ФМА), разных видов гипоксии/ишемии мозга на выживаемость, неврологический статус, объем инфаркта (крысы линии Вистар), условная реакция активного избегания (УРАИ), латентное обучение и поведение в тесте «открытого поля», а также нейрохимические показатели (беспородные крысы).

Роль латерального профиля в устойчивости к ишемии мозга изучали в моделях ОСА и ОСМА у 3-4 и 18-мес. животных (табл. 1).

У 3-4-месячных животных исследовали показатель выживаемости, объем инфаркта мозга, неврологический статус, протруживание языка после

перенесенного инфаркта, а также влияние пола на устойчивость к ишемии мозга в модели ОСМА. У 18-мес. животных изучали сохранность УРАИ, содержание моноаминов, состояние свободнорадикальных процессов и показатель выживаемости после моделирования двусторонней ОСА.

Таблица 1

Дизайн эксперимента при исследовании роли ФМА в устойчивости к ишемии мозга

Группы	ЛП 3-4	ПП 3-4	ЛП 18	ПП 18
ОСМА	+	+		
ОСА			+	+

Также проводили сравнительный анализ изучаемых функциональных показателей у животных разного возраста.

При исследовании механизмов пептидной регуляции функций нервной системы использованы пептидные препараты: кортексин, пинеалон и дельтаран.

Кортексин представляет собой комплекс L-аминокислот и полипептидов массой от 1 до 10 кДа, выделяемых из коры головного мозга телят. Кортексин также содержит микроэлементы. Кортексин был создан на кафедре военно-медицинской академии г. Санкт-Петербурга.

Пинеалон представляет собой синтетический трипептид (Lys-Glu-Arg). Пинеалон был создан в Институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН (г. Санкт-Петербург).

Дельтаран представляет собой композицию на основе синтетического нонапептида — аналога регуляторного пептида дельта-сна (ДСИП: дельта-сон индуцирующий пептид) со стабилизирующим клеточный гомеостаз действием. Препарат разработан в Институте биоорганической химии Российской академии наук им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (Москва), при участии Института фармакологии РАМН (Москва), Института онкологии им. Н.Н. Петрова (С-Петербург), Исследовательского центра

«Комкон» (С-Петербург, научные руководители программы — академик РАН В.Т. Иванов, проф. А.И. Майский).

Препараты вводили внутривбрюшинно в течение 5 суток до воздействия (у 3-4-месячных животных и 18-месячных крыс в моделях ОСА, ОГГ) или в течение всей беременности самок (при исследовании эффектов пренатальной гипоксии). Кортексин вводили в дозировке 10 мкг/кг массы тела, пинеалон – в дозировке в дозе 10мкг/кг, дельтаран – в дозировке в дозе 12 мкг/100 г массы тела (Менджеричкий и др., 2011).

Дизайн эксперимента на крысах разного возраста представлен в таблицах 2-3.

Таблица 2

Дизайн эксперимента на 21-дневных крысах, подвергнутых пренатальной гипоксии

Группы	интактные	кортексин	пинеалон	дельтаран	гемГ	ГГ 1-10	ГГ 18-20	ГГ 13-20
1	+							
2			+					
3					+			
4			+		+			
5						+		
6			+			+		
7							+	
8			+				+	
9								+
10			+					+
11		+						
12		+						+
13					+			
14					+			+

В моделях ОСА у крыс 3-4 мес. и 18-мес. определяли процент выживаемости и функциональное состояние нейрохимических систем: содержание моноаминов, активность и содержание каспазы-3 и состояние свободнорадикальных процессов в мозге. В модели ОГГ также исследовали эффект гипоксии мозга на обучение в лабиринте Морриса и поведение в тесте «открытого поля». У 18-месячных крыс в модели ОГГ изучали влияние

кортексина и пинеалона на содержание ИЛ-6 и ФНО в сыворотке крови с целью выявления системных эффектов данных препаратов.

Таблица 3

Дизайн эксперимента на 3-4-мес. и 18-мес. крысах в разных моделях ишемии/гипоксии мозга

Группы	интактные	кортексин	пинеалон	дельтаран	ОГГ	ОСА
1	+					
2		+				
3		+			+	
4		+				+
5			+			
6			+		+	
7			+			+
8				+		
9				+	+	
10				+		+

## 2.2. Физиологические методы исследования

### 2.2.1. Модели ишемии мозга

В работе использовали модель двусторонней окклюзии сонных артерий (СА) (Pulsinelli et al., 1982) с целью развития у животных ишемических и реперфузионных повреждений структур мозга. Также моделировали окклюзию средней мозговой артерии.

**Модель двусторонней окклюзии сонных артерий.** Ишемизация мозга достигалась перевязкой левой сонной артерии и через минуту – временной окклюзией (на 3 минуты) правой сонной артерии с последующей 24-часовой реоксигенацией. При изучении роли ФМА в адапционных реакциях организма животным с разным латеральным профилем также моделировали 3-минутную окклюзию ПСА и 24-часовую окклюзию ЛСА. Крыс обездвигивали введением 1,2 мл 1% раствора тиопентала на 100 г массы тела животного. Все хирургические процедуры проводили стерильно.

В работах И.В. Ганнушкиной и соавт. (1986) было показано, что именно в этих интервалах времени происходят наиболее выраженные изменения и увеличение количества так называемых «симптом-положительных

животных», у которых наблюдали: гибель от отека мозга, а у выживших – вращательные движения в ту или другую сторону, гемипарез или гемиплегия, искривление туловища и шеи и другие неврологические нарушения.

Все хирургические процедуры проводили стерильно под наркозом, создаваемым внутрибрюшинным введением барбамилла в дозе 2-4 мг на 100 г массы животного.

Через 24 часа животных декапитировали, собирали мозг извлекали на холоду и выделяли кору и ствольные структуры. Результаты ишемического повреждения мозга сравнивали с контрольной группой животных.

**Модель окклюзии средней мозговой артерии.** В работе использовали 200 половозрелых крыс Wistar обоего пола (масса  $355 \pm 41$  г, питомник Столбовая, Московская область). Животных содержали по 5 в клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях искусственного светового цикла 12 : 12 ч свет темнота (светлый период с 8 : 00 утра). Эксперименты проводили в соответствии с правилами “National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”; протокол экспериментов был одобрен этической комиссией ИВНД и НФ РАН. Животных наркотизировали хлоралгидратом/ксилазином (лидокаином) (350/10 мг/кг массы тела, в/б). Мониторинг и поддержание ректальной температуры на уровне  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  в течение операционного периода осуществляли при помощи коврика “homeothermic blanket” (Harvard Apparatus, USA). Фокальную ишемию создавали с использованием интралюминальной нити по методу, описанному Zea Longa и др. (1989). Через разрез на шее подходили к левым общей, внутренней и внешней сонным артериям. Через общую сонную артерию во внутреннюю сонную артерию вводили обожженную нейлоновую нить – нейлоновый монофиламент 3.0 длиной 18 мм для прекращения кровотока к левой среднемозговой артерии. Нить оставляли на 30 мин, затем вынимали, зашивали разрез и оставляли животных на 5 дней при свободном доступе к

воде и пище. В группе ложнопериоперированных животных использовали тот же протокол, за исключением того, что окклюзию артерии не производили.

### **2.2.2. Моделирование гемической и гипобарической гипоксической гипоксии**

В качестве моделей гипоксического воздействия были использованы гемическая и гипобарическая гипоксическая гипоксия. Гемическую гипоксию моделировали путем кровопотери (2% от веса животного) в первый и пятый дни беременности (зародышевый период). Взятие крови проводили прижизненно под воздействием местной анестезии (2-х % новокаин) из подключичной артерии.

Гипобарическую гипоксическую гипоксию моделировали путем помещения беременных самок в приточно–вытяжную барокамеру при 66,41 кПа (3500 м над уровнем моря) на 3 часа. Воздействие производили с 1 по 10 (зародышевый период), с 13 по 20 (предплодный и плодный периоды) и с 18 по 20 (плодный период) день беременности. Острую гипоксическую гипоксию проводили 3-4-месячным и 18-месячным животным в том же режиме: 66,41 кПа (3500 м над уровнем моря) на 3 часа.

### **2.2.3. Водный лабиринт Морриса**

Известно, что латентное обучение - это образование связи между индифферентными стимулами или ситуациями в отсутствие явного подкрепления. Элементы латентного обучения присутствуют практически в любом процессе обучения, но могут быть выявлены только в специальных опытах. В естественных условиях латентное обучение возможно благодаря исследовательской активности животного в новой ситуации.

В начале 80-х годов шотландский исследователь Р. Моррис (Morris, 1984) предложил для изучения способности животных к формированию пространственных представлений использовать «водный лабиринт». Метод

приобрел большую популярность, и его стали называть «водным лабиринтом Морриса».

Водный лабиринт Морриса представляет собой глубокий таз (или ванну) и помещенную на дно прозрачную (например, из оргстекла) устойчивую площадку размером, примерно, 10x10x10 см. В таз наливается теплая вода (35 - 37°C) чуть выше уровня площадки. Чтобы животное не видело эту платформу, воду замутняли молоком. Проводили изучение времени поиска скрытой платформы на 1-е – 3-и сутки эксперимента.

#### **2.2.4. Метод «Открытого поля»**

Проводили тестирование методом “открытого поля” (Буреш и др., 1991). Для объективной оценки индивидуальных особенностей экспериментальных животных проводили количественный учет меры представленности следующих форм поведения: релаксированное бодрствование, вставание на задние лапы, горизонтальная активность, прием пищи, питьё, груминг и мелкая двигательная активность. Тестирование проводили в одно и то же время суток, по десять минут. Каждое животное тестировали 10 раз. Количественный учет реализуемой поведенческой функции осуществляли каждые 15 с. При формировании однородной выборки учитывали сходство средних представленностей регистрируемых поведенческих функций за 10 тестирований и характер динамики их изменений (от первого до девятого тестирования). Те животные, у которых анализируемые признаки были достаточно близкими и характеризовали достаточно высокую выраженность тревожности, составляли искомую группу. На них проводили экспериментальные исследования и контрольные наблюдения.

Для количественной оценки меры представленности контролируемых поведенческих функций весь поведенческий континуум в естественном цикле “активность-покой” был разбит на 8 форм поведения: R1 – поведенческий сон, R2 – горизонтальная локомоторная активность, R3 –

вертикальная локомоторная активность, R4 – питье воды, R5 – потребление пищи, R6 – разные виды мелкой двигательной активности (топтанье на месте, вздрагивание, принюхивание, поворот головы, движение хвостом и т.д.), R7 – груминг, R8 – релаксированное бодрствование. Для оценки наблюдаемых при естественном освещении (ночью использовали фонарь) поведенческих функций в континууме “активность-покой” R1, R4-8 строили профили, представляющие собой количественную представленность каждой формы поведения. Минутную представленность поведенческой функции складывали из единичных учетов. При количественном учете R2 и R3 подсчитывали количество реализуемых действий в каждый единичный учет и суммировали в минутной представленности. Количественный учет двигательной активности животного осуществляли путем подсчета пройденных им пронумерованных клеточек пола и суммировали сначала для единичного учета, а позже – для минутного. При количественном учете вертикальной локомоции подсчитывали число вставаний на задние лапы в течение каждой минуты. Горизонтальную локомоцию оценивалась путем подсчета пройденных клеток (10\*10 см) пронумерованного пола камеры (40\*50 см). На основании этих поведенческих функций осуществляли качественную идентификацию поведения крысы и проводили учет их количественной представленности.

### **2.2.5. Метод определения латерального профиля крыс**

Латеральный профиль животных определяли с использованием Y-образного лабиринта (Ефимов и др., 1987). Тестирование крыс в Y-образном лабиринте проводили в одно и то же время суток (с 10 до 14 часов) при максимальном ограничении внешних раздражителей. Вычисление латерального профиля проводили по формуле:

$$\text{ЛП} = \text{Л-П}/\text{Л+П}, \text{ где}$$

Л и П – суммарное количество левосторонних и правосторонних пробежек и ротаций (разворотов в тупиках коридоров) за несколько сеансов тестирования.

### **2.2.6. Метод выработки условной реакции активного избегания**

Выработку условной реакции активного избегания у крыс проводили с использованием установки электрокожной стимуляции, содержащей решетчатый пол и полку (Буреш и др., 1991). Электрическая стимуляция кожи – один из широко используемых приемов создания экспериментальной авersive ситуации. Под авersive поведением понимают комплекс поведенческих актов, направленных на избавление животного от неприятных, отвергаемых им воздействий окружающей среды.

Для опыта использовали прямоугольную камеру (20×40 см) с решетчатым полом и стенками из оргстекла, источник переменного тока. Сила электрического тока контролировалась амперметрами (для верхней и нижней полки).

Поскольку влияние электрического тока зависит от плотности тока в ткани, а основным источником варьирования эффектов является специфическое сопротивление кожи и площадь контакта кожи с электродами (т.е. сопротивление тканей животного), производили предварительное тестирование влияния силы электрического тока на интенсивность поведенческой реакции крысы при помощи регуляторов силы тока. Для того чтобы животное не смогло избежать влияния тока, использовали специальные «распределители» для изменения связи тока с прутьями решетки, что давало возможность переключать схему «+ – – +» на «– – + +».

На пол подавался переменный электрический ток умеренной силы (0,5–0,8 мА) в течение всего времени эксперимента (15 минут). При этом в поведении животных наблюдали вздрагивание (внезапное напряжение мускулатуры или прижимание к полу, при котором лапы остаются на решетке). На полку подавался электрический ток высокой интенсивности,

вызывающий выраженное агонистическое поведение крысы (сильная реакция, при которой все четыре лапы крысы одновременно отрываются от решетки, а также регистрировались голосовые реакции – писк).

В качестве условного стимула для выработки условной реакции использовали световой стимул (лампочка 100 Вт). Поскольку на пол подавали в течение всего эксперимента электрический ток, животное стремилось избежать этого воздействия путем подъема на верхнюю полку, куда 11–12 раз в минуту подавался электрический ток высокой интенсивности спустя 1 секунду после светового стимула на 1,5 секунды.

Процедура проведения опыта: животное помещали в камеру и в течение 5 минут разрешали ее исследовать. Затем включали источник тока. Эксперимент проводили каждый день по 15 минут в течение 7 дней.

Считали, что условная реакция активного избегания выработана, если животное после светового стимула спускалось на пол (область наименьшего воздействия), а через 2–3 секунды после этого возвращалось на верхнюю полку. Затем подсчитывался процент выработанных условных реакций из общего числа предъявлений.

### **2.2.7. Методы оценки неврологических нарушений у крыс**

Для оценки неврологического дефицита использовали следующие тесты. Первый основан на 20-балльной поведенческой шкале (Hunter et al., 2000) и отражает выполнение животными следующих тестов: помещение лапы, установочный рефлекс, переладина, наклонная платформа, вращение, визуальное вытягивание передней лапы, подвижность, общее состояние (развернутая неврологическая шкала). Сумма баллов 20 отражает нормальную функцию, а снижение суммы баллов указывает на нарушенный неврологический статус. Вторым методом оценки неврологического дефицита (общая неврологическая шкала) проводили по шкале McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной (1996) до операции, на 1, 3, 7-е сутки после окклюзии СМА. При проведении тестирования животные не испытывали неприятных

ощущений или иного отрицательного воздействия. Также проводили тест на вытягивание языка (ВЯ) (Gulyaeva et al., 2003). ВЯ измеряли по способности крысы вылизать арахисовое масло из стеклянного цилиндра длиной 2,5 см с внутренним диаметром 5 мм. Заполненный арахисовым маслом цилиндр помещали на ночь в клетку, а наутро измеряли длину верхней части цилиндра без арахисового масла. Тесты проводили, начиная с первого дня после ОСМА. Для оценки общего физиологического состояния животных их ежедневно взвешивали.

### **2.2.8. Оценка объема зоны инфаркта**

После ОСМА животных декапитировали быстро удаляли мозг и получали коронарные срезы толщиной 2.0 мм. Срезы инкубировали в 2%-ном растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТС, Sigma, USA) в 0.01 М фосфатно-солевом буфере (PBS) в течение 20 мин при комнатной температуре, а затем оставляли на ночь в 4%-ном растворе параформальдегида, забуференном фосфатом. Обе поверхности каждого среза фотографировали с использованием цифровой камеры Camedia C-5060 (Olympus, USA) и анализировали изображения с помощью программы Image Pro-Plus. Измеряли область инфаркта и рассчитывали объем инфаркта при помощи метода, описанного Lin и соавт. (1993).

## **2.3. Биохимические методы исследования**

### **2.3.1. Определение содержания моноаминов и активности моноаминооксидазы-А в мозге крыс**

Содержание норадреналина (НА), адреналина, дофамина (ДА) и серотонина (5-ОТ) определяли с помощью обращенно-фазного варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ детектированием на установке Gold Nouveau 125/166 Basic Gradient HPLC System Beckman Coulter. Экстракцию моноаминов проводили в 0,1М трис-буфере, pH 8,6. В экстракт вносили дигидроксибензиламин (ДГБА) и оксид алюминия ( $Al_2O_3$ )

для адсорбции моноаминов. Пробирки встряхивали в течение 15 мин, затем смесь центрифугировали в течение 3 мин при 1000g, супернатант трижды отмывали бидистиллированной водой. Для элюирования моноаминов с оксида алюминия использовали 0,4N HClO<sub>4</sub>. Дополнительно проводили фильтрацию проб через ацетат целлюлозные мембранные фильтры фирмы Sartorius (Германия), размер пор - 0,22 мкм. 10 мкл супернатанта наносили на колонку.

Условия хроматографирования: колонка Ultrasphere ODS C-18 (4,6x150 мм), скорость потока 1,0 мл/мин. Использовали систему из двух элюентных растворов: элюент А – ацетонитрил, элюент В – 0,1% фосфорная кислота. Элюенты дегазировали вакуумированием. Разделение вели в линейном градиенте от 0 до 70% элюента В за 35 минут (Рис.1). Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в соотношении 500 пмоль/мл в 0,4N HClO<sub>4</sub>.

Идентификацию пиков проводили по времени выхода пиков соответствующих стандартов катехоламинов: норадреналин гидрохлорид (Fluka), адреналин (Sigma), дофамин гидрохлорид (Fluka), серотонин креатинин сульфат (ISN Biomedicals). Для расчета концентрации катехоламинов в образцах находили соотношение высоты пиков исследуемых нейромедиаторов и внутреннего стандарта - 3,4-дигидробензиламина гидрохлорида (ДГБА, Sigma) в физиологических концентрациях.

Величины концентраций моноаминов (МА) в опытных образцах рассчитывали, исходя из отношений высот пиков в стандартной смеси и в образце, по следующей формуле:

$$C_{\text{MAоп}} = H_{\text{MAоп}} \times \Phi / H_{\text{ДГБАоп}} \text{ пг/мл,}$$

$$\text{где } \Phi = \frac{C_{\text{MAст}}}{H_{\text{MAст}}/H_{\text{ДГБАст}}}$$

$\Phi$  – фактор пересчета,  $H_{MACT}$  – высота пика МА стандарта,  $H_{MAоп}$  – высота пика МА, определяемая в пробе,  $H_{ДГБАCT}$  – высота пика ДГБА в стандартном растворе,  $H_{ДГБАоп}$  – высота пика ДГБА в пробе,  $C_{MACT}$  – концентрация МА в стандарте,  $C_{MAоп}$  – концентрация МА, определяемого в пробе. Содержание моноаминов в гомогенатах ткани мозга выражали в пг на г сырого веса ткани мозга.

#	Time (min)	Module	Function	Value	Duration (min)
1	0.00	Det 166	Autozero		
2	0.00	Pump	%B	30.00	
3	15.00	Pump	%B	0.00	
4	20.00	Pump	Alarm		
5	0.00				

Рис. 1. Программа элюирования в Karat 32.

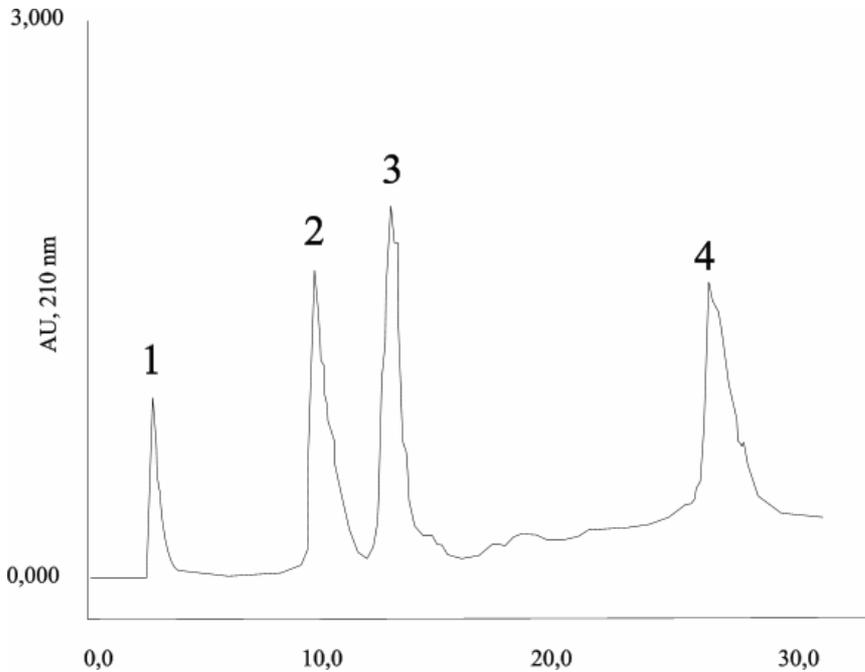


Рис. 2. Пример хроматографического разделения биогенных аминов экстракта мозга крыс с помощью обращенно-фазного варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ детектированием на установке Gold Nouveau 125/166 Basic Gradient HPLC System Beckman Coulter. 1 – Норадреналин, 2 – Адреналин, 3 – Дофамин, 4 – Серотонин

**Определение активности моноаминоксидазы-А** проводили флюориметрическим методом по убыли субстратов ферментов (серотонина), добавленных в инкубационную смесь (Камышников, 2000).

### 2.3.2. Определение активности и содержания каспазы-3

Активность каспазы-3 определяли флюориметрическим методом в структурах головного мозга описанным в работах (Яковлев и др., 2004; Bradford, 1976).

Флуоресценцию регистрировали при длинах волн возбуждения и эмиссии 400 нм и 490 нм соответственно на спектрофлюориметре Hitachi F-4010 оборудованном микрокюветой. Активность каспазы-3 рассчитывали по разности скоростей накопления свободного 7-амино-4-метилкумарина в пробах (Sigma, США) и выражали в пмоль/мин/мг белка.

Содержание активной каспазы-3 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы «Biosource» (Бельгия) согласно инструкциям производителей. Исследования выполнены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei» (производства Италии).

### **2.3.3. Определение продуктов свободнорадикального окисления**

Животных декапитировали в утренние часы. Мозг извлекали при минусовой температуре и выделяли кору больших полушарий и ствольные структуры. В отделах мозга крыс определяли показатели хемилюминесценции и ТБК – реактивных продуктов (ТБК-РП) (Арутюнян и др., 2000). Количество малонового диальдегида (МДА) определяли колориметрическим способом (Placer et al., 1966; Стальная, Гаришвили, 1977). Метод основан на образовании в кислой среде и при высокой температуре триметинового комплекса (ТБК-активный продукт), состоящего из одной молекулы МДА и двух молекул 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК), который обладает розовым цветом. Количество ТБК-реактивных продуктов выражали в нмолях/г влажной ткани мозга.

Для определения  $H_2O_2$ -люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) в кювету вносили 2,9 мл 50 мкМ раствора люминола в 0,1 М трис-HCl буфере рН 6,8 и 0,1 мл образца (водорастворимую фракцию головного мозга). Затем кювету прогревали 500 секунд при 37°C и вносили в нее 0,5 мл 350 мМ  $H_2O_2$ , одновременно включая счетчик импульсов. Измерение проводили в течение 100 секунд. Определяли следующие параметры (Шестаков и др., 1972): светосумма свечения за 100 секунд (S); высота быстрой вспышки (H).

### **2.3.4. Метод определения концентрации IL-6 и TNF- $\alpha$ в сыворотке крови**

Концентрацию IL-6 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови животных определяли твердофазным иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов соответствующих реагентов (eBioscience, Platinum ELISA) согласно

инструкциям производителей. Исследования выполнены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei» (производства Италии).

#### **2.4. Статистическая обработка результатов исследования**

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета программ Statistica for Windows 6.5. Различия между группами определяли с использованием параметрических (t-критерий Стьюдента) или непараметрических (критерий Манна-Уитни) методов анализа. Данные в таблицах и рисунках представлены в виде  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ . Для выявления достоверности влияния факторов в группах испытуемых использовали унивариантный (ANOVA) дисперсионный метод.

### **ГЛАВА 3. Влияние ишемии/гипоксии мозга на функциональные показатели крыс разного возраста**

#### **3.1. Влияние разных видов ишемии гипоксии мозга (пренатального стресса, ОСА и ОГГ) на показатели устойчивости организма**

##### **3.1.1. Влияние пренатальной гипоксии на поведение, латентное обучение и нейрохимические показатели крыс**

В последние годы заметно возросло число экспериментальных работ, посвященных изучению влияния различных неблагоприятных факторов на функции головного мозга, в частности пренатальной гипоксии разной продолжительности.

Одной из главных причин нарушений поведения в постнатальном периоде развития животных, перенесших пренатальную гипоксию, может быть изменение морфофункциональной организации центральной нервной системы, вызываемое нарушением процессов пролиферации и миграции нейробластов тех отделов мозга, которые закладываются во время действия патологического фактора (Васильев и др., 2004).

Согласно полученным результатам исследования наиболее высокий процент мертворожденных крыс выявлен в группе крыс, подвергнутых пренатальной ГГ в течение предплодного и плодного периодов (с 13-х по 20-е сутки беременности) (табл. 4).

Исходя из анализа результатов проведенного исследования, можно предположить, что степень когнитивного дефицита у крыс зависит от периода, в течение которого они были подвергнуты пренатальной гипоксии. Наиболее негативное влияние на латентное обучение и выживаемость крыс оказывает гипоксическая гипоксия, приходящаяся на предплодный и плодный периоды (13–20-е сутки беременности) (табл. 5).

Поскольку в последние годы доказано, что одним из механизмов, лежащих в основе пластических перестроек в нейронах, является изменение протеазной активности, в частности, активности каспазы-3, нами было

выдвинуто предположение, что нарушение латентного обучения у крыс, перенесших пренатальный стресс, может быть результатом изменения активности данной протеазы.

Таблица 4

#### Выживаемость крыс, подвергнутых пренатальной гипоксии

Группа	Процент мертворожденных крыс
Контроль	–
Гемическая гипоксия + физ. р-р	–
Гипоксическая гипоксия (с 1-х по 10-е сутки беременности, зародышевый период) + физ. р-р	12,5
Гипоксическая гипоксия (с 18-го по 20-й день беременности, плодный период) + физ. р-р	11,76
Гипоксическая гипоксия (с 13-го по 20-й день беременности, предплодный и плодный периоды) + физ. р-р	20

Таблица 5

#### Результаты исследования когнитивной функции крыс в водном лабиринте Морриса при воздействии пренатальной гипоксии (с, $M \pm m$ )

Сумма четырех попыток	Первый день тестирования	Второй день тестирования	Третий день тестирования
Контроль			
(n = 72)	38,5±4,1	21,3±2,1	18,7±1,7*
ГемГ + физ. р-р (n = 18)			
(n = 72)	61,3±6,0#	71,8±8,1#	50,8±5,4#
ГГ (1–10-й день беременности) + физ. р-р (n = 15)			
(n = 60)	98,0±12,3#	80,3±10,8#	56,7±6,2# *
ГГ (18–20-й день беременности) + физ. р-р (n = 26)			
(n = 104)	78,9±6,2#	87,5±6,9#	77,3±8,0#
ГГ (13–20-й день беременности) + физ. р-р (n = 7)			
(n = 60)	109,45±15,82#	106,41±15,73#	121,88±19,02 #

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение времени поиска платформы относительно 1-го дня тестирования; # - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно контроля.

**Активность каспазы-3 в структурах мозга крыс при воздействии пренатальной гипоксии ( $M \pm m$ , процент и степень достоверности отличия от контроля)**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
контроль	2,56±0,12	3,53±0,37
Гемическая гипоксия	1,64±0,09*, -36%, $p = 0,00001$	1,79±0,26*, -49%, $p = 0,009$
Пренатальная гипоксическая гипоксия (1–10-е сутки беременности)	2,97±0,20, +16%, $p = 0,08$	2,86±0,25, -19%, $p = 0,3$
Пренатальная гипоксическая гипоксия (18–20-е сутки беременности)	2,03±0,10*, -21%, $p = 0,002$	2,65±0,12, -25%, $p = 0,06$
пренатальная гипоксическая гипоксия (13–20-е сутки беременности)	3,15±0,19*, +23%, $p = 0,02$	4,40±0,16, +25%, $p = 0,05$

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение активности каспазы-3 относительно контроля.

В мозге крыс, перенесших гемическую гипоксию, выявлено достоверное понижение активности каспазы-3 (табл. 6). В данной группе животных на второй день тестирования в лабиринте Морриса показано даже некоторое повышение времени поиска скрытой платформы, лишь к третьему дню происходило снижение данного показателя.

В модели гипоксической гипоксии с 1-го по 10-й день (зародышевый период) у крыс на первый день тестирования в лабиринте Морриса время поиска скрытой платформы было в 2,5 раза выше, чем в контрольной группе. Однако у этих же крыс активность каспазы-3 в мозге соответствовала контрольному уровню.

Результаты исследования когнитивной функции и активности каспазы-3 в группе крыс, которым моделировали гипоксическую гипоксию с 18-го по 20-й день (плодный период), были сходными с таковыми у животных в модели гемической гипоксии. Однако, как было указано ранее, процент выживаемости в этих группах различается.

Наиболее неблагоприятный прогноз в становлении когнитивной функции получен у крыс, перенесших гипоксическую гипоксию в предплодный и плодный периоды (13–20-й день беременности). У этих животных наблюдали наиболее высокое значение времени поиска скрытой платформы на 1-й день тестирования в лабиринте Морриса среди всех животных, подвергнутых ГГ в разные сроки пренатального развития. К 3-му дню тестирования у этих крыс данный показатель становится еще выше. То есть обучения (закрепления навыка поиска скрытой платформы) не происходило. В мозге крыс выявлено возрастание активности каспазы-3 относительно контроля.

Пренатальный стресс также отразился и на структуре поведения животных, изучение которой проводили с использованием теста «открытого поля», который является одним из самых популярных тестов в нейробиологии поведения (Augustsson, Meyerson, 2004).

Согласно теории функциональных систем поведенческий акт рассматривается как компонент поведенческого континуума, который представляет собой совокупность последовательных поведенческих актов, совершаемых индивидом на протяжении своей жизни. Поскольку отдельный поведенческий акт направлен на достижение определенного результата, то именно по результату поведенческий акт может быть выделен из общего континуума поведения для последующего анализа (Судаков, 1976; Швырков, 1978).

В таблице 7 представлены результаты исследования структуры поведения у животных экспериментальных групп. Согласно полученным результатам гипоксия, приходящаяся на разные этапы пренатального развития животных, по-разному отражалась на представленности такой формы поведения, как поведенческий сон (R1). Так, в модели гемической гипоксии, а также гипоксической гипоксии, приходящейся на 18–20-е сутки беременности, у 3-недельного потомства время R1 было выше уровня контроля. В то же время у крыс в моделях гипоксической гипоксии,

приходящейся соответственно на 1–10-е и 13–20-е сутки, наблюдали снижение времени поведенческого сна. Нужно отметить тот факт, что одновременно у этих животных отмечали значительное возрастание вертикальной и горизонтальной локомоторной активности. В том числе время R2-R3 в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 1-10-е сутки пренатального развития, было выше на 55% ( $p < 0,05$ ), а в модели пренатального стресса на 13-20 сутки – 3,5 раза ( $p < 0,01$ ) относительно контрольного уровня. Менее значимое возрастание времени горизонтальной и вертикальной локомоции установлено в группе животных в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 18–20-е сутки пренатального развития. У животных, подвергнутых пренатальной гемической гипоксии, изменений во времени локомоторной активности не выявлено.

Также у крыс в модели пренатальной гемической гипоксии выявлено достоверное понижение количества пройденных квадратов относительно контрольной группы, но время, затраченное на R2 и R3, соответствовало контролю.

Поскольку количество горизонтальных локомоций у 3-недельных крыс, перенесших гипоксическую гипоксию на 1–10-й день пренатального развития, не отличалось от контроля, вероятно, увеличение времени R2–R3 у этих животных происходило за счет повышения вертикальных стоек.

Нужно отметить, что тестирование в «открытом поле» проводили непродолжительное время (в течение 10 минут, несколько повторений). Вероятно, с этим связано то, что у крыс контрольной группы не наблюдали питьевого поведения. Также отсутствие данной формы поведения показано у животных в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-й день беременности.

У животных, перенесших гемическую гипоксию, время R5 также было увеличено по сравнению с контрольной группой крыс. Тогда как в модели гипоксической гипоксии данный показатель был ниже или соответствовал контрольному уровню.

Время мелкой двигательной активности отличалось от контрольного уровня только в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-й день беременности, и происходило на фоне увеличения представленности исследовательского поведения.

Пренатальная гипоксия также способствовала возрастанию времени груминга у 3-недельных крыс, за исключением гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки пренатального развития.

Представленность релаксированного бодрствования у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, либо не изменялась (гемическая гипоксия и гипоксическая гипоксия 1-10 сутки пренатального развития), либо снижалась в остальных моделях пренатального стресса.

Таким образом, в модели пренатальной гемической гипоксии происходит возрастание времени, затрачиваемого на поведенческий сон, пищевое поведение и груминг. Остальные формы поведения значительно не изменяются относительно контроля (рис. 3-4).

У животных в модели гипоксической гипоксии (1–10-е сутки беременности) снижение поведенческого сна и пищевого поведения происходит на фоне возрастания вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, а также груминга (рис. 5).

У крыс в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 18–20-е сутки пренатального развития повышение времени поведенческого сна, локомоторной активности и груминга происходит одновременно со снижением представленности релаксированного бодрствования (рис. 6).

Наиболее значительные изменения в поведении наблюдали у животных в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки пренатального развития: значительное повышение времени горизонтальной и вертикальной локомоторной активности сопровождается снижением представленности остальных исследованных форм поведения (рис. 7).

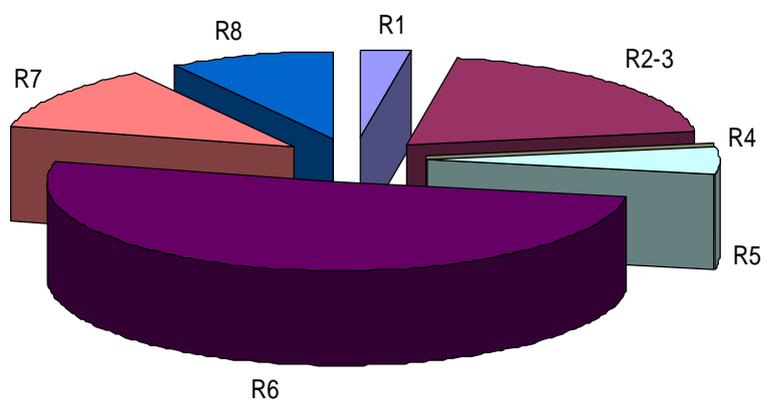


Рис. 3. Поведенческий континуум у крыс контрольной группы

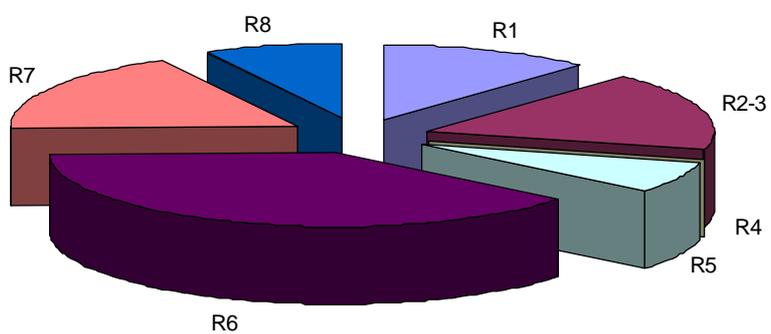


Рис. 4. Поведенческий континуум у крыс в модели гемической гипоксии

Таблица 7

## Изменение поведенческого континуума у крыс под влиянием пренатальной гипоксии

Группа	Формы поведения							
	R1, с	R2, кол-во	R3, кол-во	R4, с	R5, с	R6, с	R7, с	R8, с
		R2–R3, с						
контроль	15,01±0,72	43,83±2,11	11,42±0,65	0	29,17±1,36	302,32±12,32	76,47±3,04	59,78±2,36
		117,25±4,27						
Гемическая гипоксия	71,25±3,41	34,01±1,75	10,61±0,43	0,75±0,03	38,58±0,98	234,51±11,65	103,83±4,16	47,41±1,76
		103,67						
ГГ (1-10 сутки берем.)	6,03±0,24	45,78±1,67	17,96±0,76	1,18±0,05	20,62±0,97	249,21±12,35	85,04±4,22	55,98±2,81
		181,94 ± 8,65						
ГГ (18-20 сутки берем.)	40,50±1,97	52,06±2,58	13,09±0,62	1,58±0,07	32,19±1,07	264,25±12,71	82,58±4,38	22,42±1,20
		156,48±7,64						
ГГ (13-20 сутки берем.)	9,98±4,06	159,67±6,83	25,67±1,43	0	7,48±0,32	77,52±3,26	32,49±1,16	37,51±1,46
		435,02±21,33						

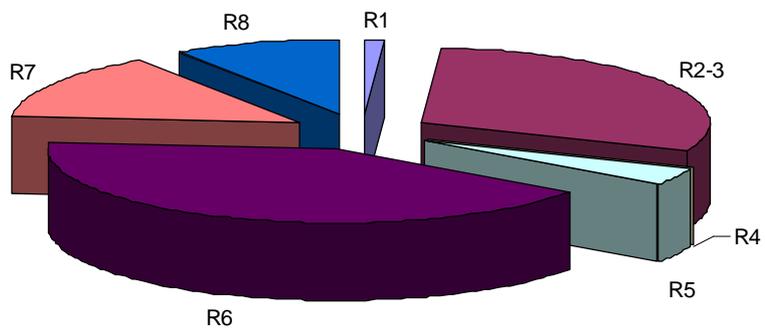


Рис. 5. Поведенческий континуум у крыс в модели гипоксической гипоксии (1–10-е сутки беременности)

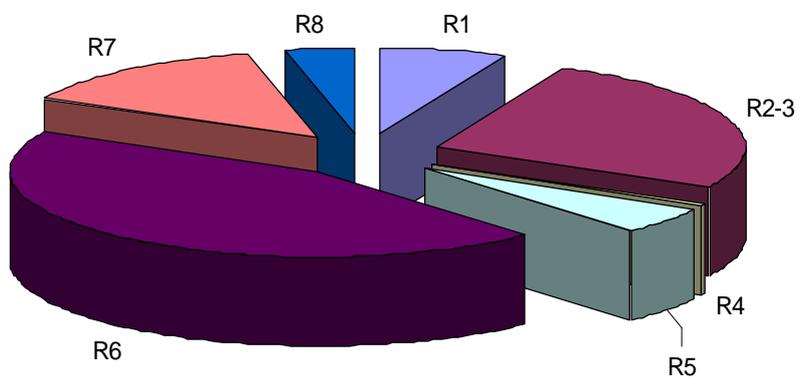


Рис. 6. Поведенческий континуум у крыс в модели гипоксической гипоксии (18–20-е сутки беременности)

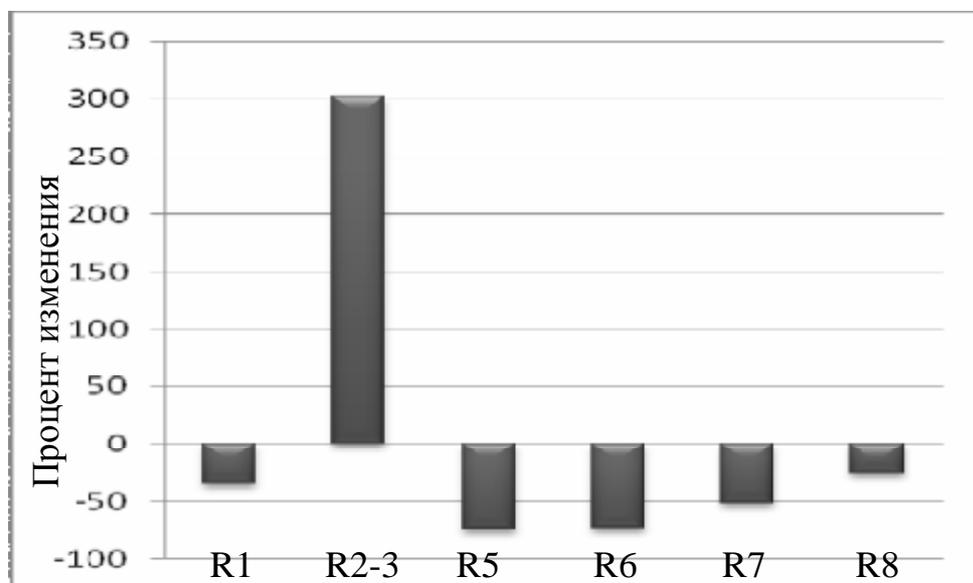


Рис. 7. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) форм поведения у крыс в модели гипоксической гипоксии (13–20-е сутки беременности) относительно контроля

Далее представлены результаты исследования содержания моноаминов в структурах мозга 3-недельных экспериментальных животных, которые находились в условиях пренатального введения короткого пептида (пинеалона) и гипоксии на разных сроках беременности самок.

При анализе эффектов пренатальной гипоксии на изменение содержания моноаминов в мозге крыс установлено следующее. В модели гемической гипоксии в коре больших полушарий происходило накопление норадреналина, дофамина и серотонина. В стволовых структурах в этой группе крыс выявлено увеличение содержания адреналина, дофамина и снижение уровня серотонина относительно контроля (рис. 8).

У крыс в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 1–10-е сутки пренатального развития, в коре больших полушарий наблюдали повышение содержания адреналина, серотонина и снижение уровня норадреналина; в стволовых структурах происходило понижение содержания адреналина, дофамина и серотонина относительно контрольной группы крыс (рис. 9).

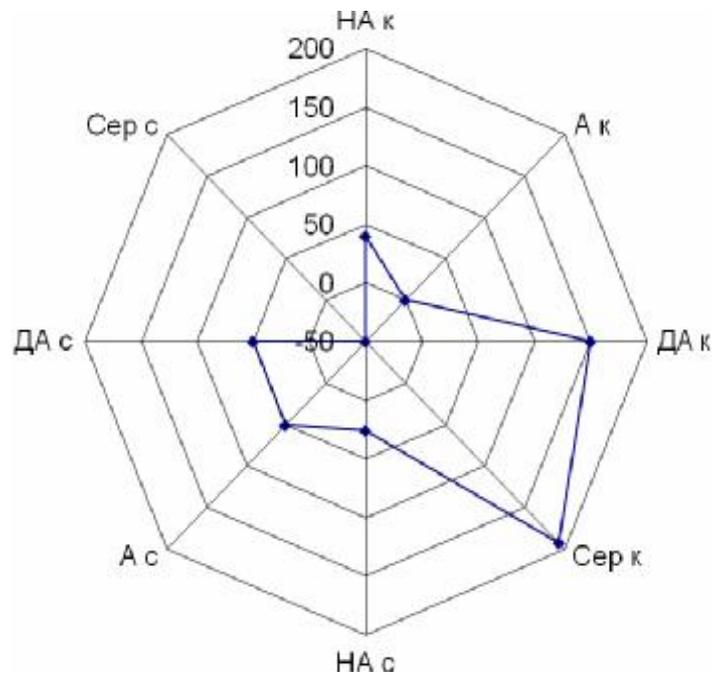


Рис. 8. Содержание моноаминов в мозге 3-недельного потомства, перенесшего гемипаркинсоническую гипоксию

НА к – норадреналин, кора больших полушарий; А к – адреналин, кора больших полушарий; ДА к – дофамин, кора больших полушарий; Сер к – серотонин, кора больших полушарий; НА с – норадреналин, стволовые структуры; А с – адреналин, стволовые структуры; ДА с – дофамин, стволовые структуры; Сер с – серотонин, стволовые структуры

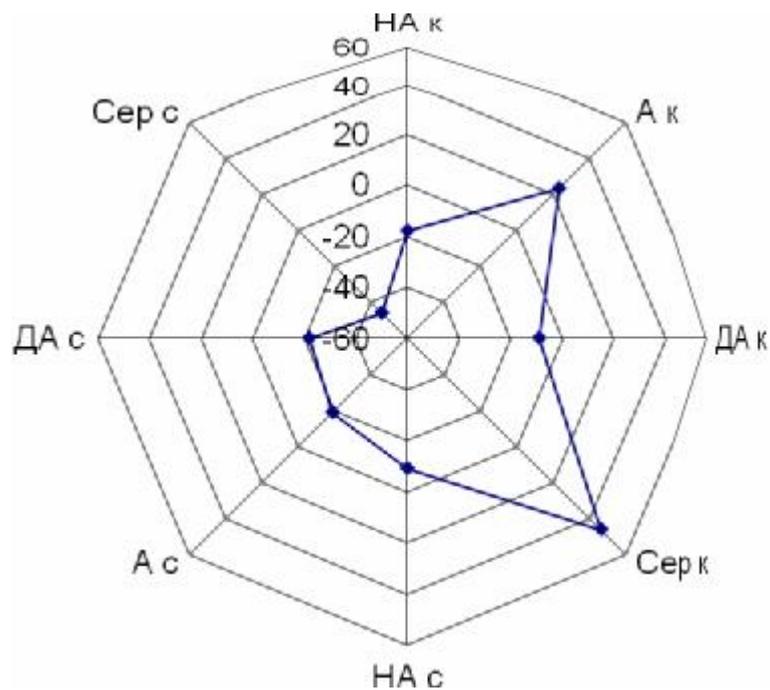


Рис. 9. Содержание моноаминов в мозге 3-недельного потомства, перенесшего гипоксическую гипоксию (1–10-е сутки пренатального развития)) (условные обозначения см. на рис. 8)

В модели гипоксической гипоксии, происходящей на 18-20 сутки пренатального развития, происходило истощение норадреналина и накопление серотонина в структурах мозга (рис. 10).

У крыс в модели гипоксической гипоксии, происходящей на 13–20-е сутки пренатального развития, в коре больших полушарий наблюдали снижение норадреналина, повышение адреналина, дофамина и серотонина, а в стволовых структурах происходило накопление серотонина по сравнению с контролем (рис. 11).

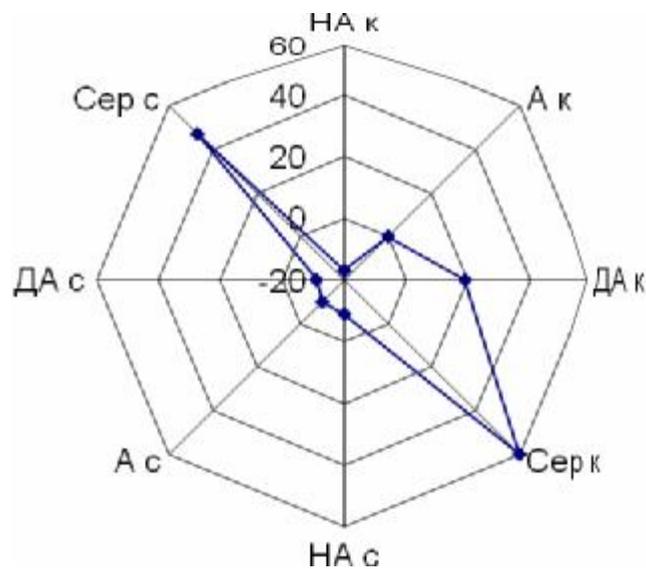


Рис. 10. Содержание моноаминов в мозге 3-недельного потомства, перенесшего гипоксическую гипоксию (18–20-е сутки пренатального развития) (условные обозначения см. на рис. 8)

Содержание моноаминов (мкг/г) в мозге 21-дневных крыс в модели пренатальной гипоксии ( $M \pm m$ )

Серия	Кора больших полушарий				Стволовые структуры			
	НА	Адреналин	Дофамин	Серотонин	НА	Адреналин	Дофамин	Серотонин
Контроль, физ. р-р	704,11 ± 31,77	177,49 ± 83,24	90,96 ± 36,85	30,53 ± 1,23	2063,40 ± 97,42	99,44 ± 4,18	335,14 ± 13,64	209,47 ± 8,55
Гемическая гипоксия + физ. р-р	919,88 ± 42,36*	172,91 ± 6,55	204,28 ± 9,73*	87,74 ± 3,86*	2341,02 ± 105,35	150,58 ± 63,28*	509,47 ± 21,33*	112,88 ± 5,37*
Гипоксическая гипоксия (1–10-й день беременности) + физ. р- р	580,4 ± 22,35*	215,32 ± 10,06*	80,25 ± 3,76	43,15 ± 1,98*	1805,21 ± 76,99*	80,79 ± 3,52	252,72 ± 12,76*	119,89 ± 5,43*
Гипоксическая гипоксия (13–20-й день беременности) + физ. р- р	600,21 ± 24,67*	285,61 ± 12,71*	104,41 ± 4,68	37,11 ± 1,22	1790,63 ± 72,55*	86,56 ± 3,52	300,02 ± 12,32	268,93 ± 11,66*
Гипоксическая гипоксия (18–20-й день беременности) + физ. р- р	608,08 ± 24,30*	174,25 ± 6,92	106,13 ± 4,37	49,86 ± 2,11*	1889,15 ± 76,46	89,268 ± 4,03	282,06 ± 13,25*	288,64 ± 12,32*

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение относительно контроля.

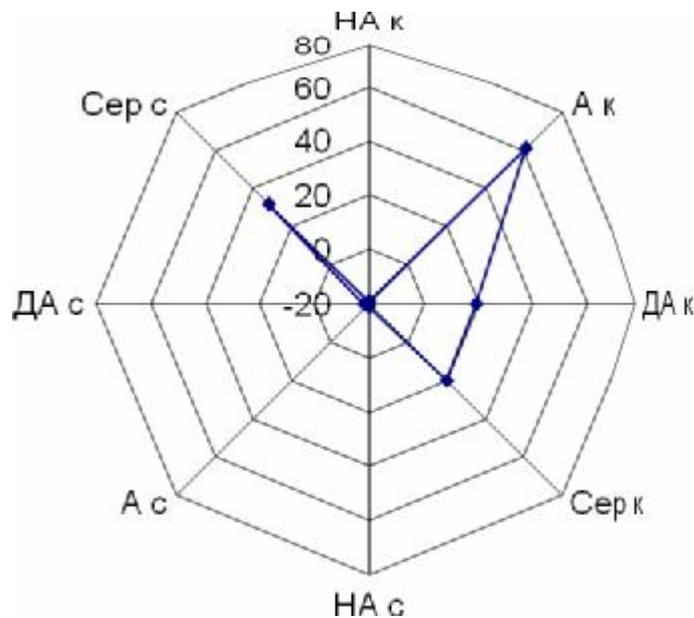


Рис. 11. Содержание моноаминов в мозге 3-недельного потомства, перенесшего гипоксическую гипоксию (13–20-е сутки пренатального развития) (Примечание см. на рис. 8)

Интересно отметить тот факт, что в группах крыс, которые были подвергнуты гипоксической гипоксии на 18-20 и 13-20 сутки гестации, наблюдали не столь значительные отклонения в содержании моноаминов в мозге, как в моделях гемической гипоксии и гипоксической гипоксии, приходящейся на 1-10 сутки гестации, относительно контрольной группы. Интересно, что в модели гипоксической гипоксии на 18-20 и 13-20 сутки гестации происходило повышение содержания серотонина в структурах мозга (особенно, в стволовых структурах). Известно, что серотонин стимулирует секрецию адреналина и норадреналина в мозговой части надпочечников через гипоталамо-гипофизарную систему (Иззати-Заде и др. 2004). Однако именно на фоне повышения содержания серотонина в мозге у 21-дневных животных происходили наиболее значительные изменения в структуре поведения относительно контрольной группы крыс.

Таким образом, степень нарушений в когнитивной и поведенческой сферах зависит от того, в какие сроки пренатального развития оказывалось

воздействие. Наиболее выраженные нарушения установлены у потомства, перенесшего пренатальную гипоксическую гипоксию, приходящуюся на предплодный и плодный периоды (13–20-е сутки беременности). У этой группы животных установлено повышение активности каспазы-3 в мозге, что свидетельствует об активации апоптотических процессов в ответ на эмоциональный стресс (тестирование в лабиринте Морриса и «открытом поле»).

Сопоставление данных физиологического исследования с характером биохимических сдвигов уровня биогенных аминов в структурах мозга животных позволило выявить роль моноаминергических механизмов в регуляции поведения в зависимости от продолжительности и сроков пренатального стресса.

### **3.2. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на выживаемость, поведение и нейрохимические показатели крыс 3-4- и 18-месячного возраста**

#### **3.2.1. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на выживаемость крыс 3-4- и 18-месячного возраста**

В данном разделе рассмотрен вопрос эффектов ишемизации мозга в разных экспериментальных моделях (острой гипоксической гипоксии и 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА) у крыс двух возрастных групп: 3-4-месячных и 18-месячных, т.е. роль возраста животного в устойчивости к стрессу (табл. 9).

Согласно представленным результатам в обеих возрастных группах животных выше процент гибели крыс в модели окклюзии сонных артерий. Достоверное различие данного показателя установлено в группе 18-месячных животных. Также в данной возрастной группе выше процент смертности относительно 3-4-месячных крыс.

**Показатель смертности крыс в моделях острой гипоксической гипоксии и двусторонней окклюзии сонных артерий (M±m)**

Группы	Процент гибели крыс, %
3-4-месячные крысы	
ОГГ (n=40)	37,5
ОСА (n=45)	37,7
18-месячные крысы	
ОГГ (n=30)	43,3
ОСА (n=30)	50

**3.2.2. Влияние острой гипоксической гипоксии на латентное обучение, активность и содержание активной каспазы-3 в мозге 3-4-месячных крыс**

При изучении эффектов гипоксической гипоксии на латентное обучение 3-4-мес. крыс установлено снижение времени поиска скрытой платформы к 3-м суткам тестирования. Однако по сравнению с контрольной группой обучение крыс было менее эффективно: в течение всего тестирования показано повышение времени поиска скрытой платформы у животных, которым моделировали острую гипоксическую гипоксию относительно контроля (табл. 10).

Также следует отметить, что у 3-4-месячных крыс время поиска скрытой платформы было ниже, чем у 21-дневных крыс, подвергнутых пренатальной как гемической, так и гипоксической гипоксии разной продолжительности.

**Результаты исследования когнитивной функции 3-4-месячных крыс в водном лабиринте Морриса в модели острой гипоксической гипоксии и введении коротких пептидов (с,  $M\pm m$ )**

Сумма четырех попыток	Первый день тестирования	Второй день тестирования	Третий день тестирования
Контроль			
(n = 72)	28,53±1,09	11,63±0,27	8,49±0,31
Острая гипоксическая гипоксия			
(n = 28)	37,52±1,49*	24,54±0,10*	17,83±0,65*

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение относительно контроля.

При этом у 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии происходило изменение активности каспазы-3 только в стволовых структурах мозга; содержание активной каспазы-3 не выявлено относительно контроля (табл. 11).

Таблица 11

**Активность и содержание активной каспазы-3 в мозге 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии ( $M\pm m$ )**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
Активность каспазы-3		
1-я группа – контроль	3,95±0,31	2,85±0,16
ОГГ	4,31±0,29	4,52±0,24*
Содержание активной каспазы-3		
1-я группа – контроль	10,10±0,42	12,03±0,46
ОГГ	11,75±0,51	12,04±0,56

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение активности каспазы-3 относительно контроля.

### 3.2.3. Свободнорадикальные процессы и нейромедиаторный баланс при окклюзии сонных артерий у 3-4-месячных крыс

В модели двусторонней окклюзии сонных артерий в мозге крыс происходило накопление вторичных продуктов свободнорадикального окисления (ТБК-РП). Особенно выраженные изменения установлены в левой

половине мозга. В тоже время суммарная пероксидазная активность в большей степени возростала в правой коре больших полушарий и правых стволовых структурах (табл. 12). Это может свидетельствовать о разных путях метаболического ответа в структурах мозга: в правой половине мозга, со стороны которой моделировали 3-минутную окклюзию с последующей 24-часовой реоксигенацией, в большей степени активируются пероксидазы, которые принадлежат к группе гемопротеиновых ферментов, активирующих перекись водорода и осуществляющих сгорание трудноокисляемых компонентов клетки. В левой половине мозга (со стороны 24-часовой окклюзии) больше выражены процессы, направленные на накопление продуктов свободнорадикального окисления.

Таблица 12

**Содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП, нМоль/г) и показатели суммарной пероксидазной активности (СПА, е.о.п./мл) в мозге (нМ/г) 3-4- месячных крыс при окклюзии сонных артерий, (M±m)**

	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
<b>ТБК-РП</b>				
контроль	41,12±2,04	38,47±2,02	30,47±1,95	33,71±1,69
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	125,33±6,21*	79,65±3,77*	189,13±5,73 *	112,31±5,76*
<b>СПА</b>				
контроль	5,00±0,13	4,70±0,16	3,10±0,19	3,40±0,15
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	6,50±0,21*	7,90±0,34 *	5,60±0,17 *	7,50±0,37*

**Примечание:** \* - отличия достоверны по отношению к контрольному уровню.

Полученные результаты подтверждают данные исследования показателей хемилюминесценции у экспериментальных животных. В правой коре больших полушарий высота быстрой вспышки не изменилась, но возрос

показатель светосуммы относительно контроля. Во всех остальных структурах мозга на фоне повышения светосуммы отмечали и увеличение высоты быстрой вспышки по сравнению с контролем (табл. 13). Следовательно, в правой коре больших полушарий процессы окисляемости тканевых липидов и концентрация металлов переменной валентности была ниже, тогда как уровень антиоксидантов – выше относительно остальных исследованных структур мозга. Однако скорость расходования свободных радикалов липидной природы, вследствие их взаимодействия с антиоксидантами и обусловленная в первую очередь уровнем прооксидантов в системе, одинаково высока была во всех структурах мозга.

Таблица 13

**Показатели хемилюминесценции (h, мм; Sm, кол-во импульсов\*10<sup>4</sup>) в мозге 3-4- месячных крыс при окклюзии сонных артерий (M±m)**

группы	h, мм	Sm за 100`
контроль	Правая кора больших полушарий	
	71,90±3,20	69,50±2,64
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	78,32±2,77**	613,66±17,21*
контроль	Левая кора больших полушарий	
	65,98±2,97	71,48±2,92
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	86,34±3,53*, **	614,27±21,26*
контроль	Правые стволовые структуры	
	68,75±2,98	72,31±3,19
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	126,06±6,04*	613,33±15,52 *
контроль	Левые стволовые структуры	
	73,45±2,98	75,37±2,54
3-мин. окклюзия ПСА + 24-час. окклюзия ЛСА	107,33±4,78*	566,33±18,35*

**Примечание:** \* - отличия достоверны по отношению к контрольному уровню.

Также показано, что в условиях 3-минутной окклюзии правой сонной артерии и 24-часовой окклюзии левой сонной артерии в правой коре больших

полушарий происходит значительное истощение содержания всех исследованных медиаторов, за исключением гистамина относительно контроля (табл. 14). Выявлено снижение уровней норадреналина, дофамина, серотонина, а также 5-ОИУК. Соотношения НА/ДА и НА/серотонин были ниже контрольных величин (табл. 29), тогда как соотношение серотонин/5-ОИУК возросло.

В правых стволовых структурах снижение уровней норадреналина, дофамина обнаружено одновременно с повышением содержания серотонина (табл. 14). Возрастание уровня серотонина можно объяснить компенсаторным уменьшением его метаболизма (содержание 5-ОИУК понижалось). При этом происходило значительное снижение соотношений НА/ДА и НА/серотонин (табл. 15), что свидетельствует о преобладании активности серотонинергической системы над адренергической в данных структурах при 3-минутной окклюзии правой сонной артерии и 24-часовой окклюзии левой сонной артерии.

В левой коре больших полушарий (табл. 14) произошло снижение содержания норадреналина, дофамина и 5-ОИУК. Одновременно обнаружено повышение уровня серотонина. В результате понизились соотношения НА/ДА на -69% ( $p < 0,05$ ) и НА/серотонин и увеличилось значение соотношения серотонин/5-ОИУК (табл. 15). Из вышесказанного следует, что левая половина коры более чувствительна к нарушению кровоснабжения по сравнению с правой гемисферой в связи с более длительным окклюзирующим воздействием.

В левых стволовых структурах было отмечено значительное снижение уровней как серотонина, так и его метаболита (табл. 14). Такое изменение уровней моноаминов отразилось на росте показателей НА/ДА и НА/серотонин, тогда как соотношение серотонин/5-ОИУК было ниже контроля (табл. 15).

**Содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) и гистамина (мкг/мл) в мозге 3-4-месячных крыс в условиях двусторонней окклюзии, ( $M \pm m$ )**

группы	НА	ДА	серотонин	5-ОИУК	Гистамин
Правая кора больших полушарий					
контроль	0,19±0,005	0,82±0,006	0,27±0,005	0,26±0,008	5,10±0,08
3-мин.оккл. ПСА+ 24-час. оккл. ЛСА	0,05±0,002*	0,35±0,013*	0,12±0,005*	0,043±0,003*	5,45±0,05
Правые стволовые структуры					
контроль	0,19±0,009	0,78±0,04	0,30±0,007	0,23±0,007	4,00±0,19
3-мин.оккл. ПСА+ 24-час. оккл. ЛСА	0,08±0,002*	0,56±0,01*	0,56±0,03*	0,05±0,002*	2,04±0,11*
Левая кора больших полушарий					
контроль	0,18±0,006	0,69±0,02	0,25±0,004	0,24±0,006	5,20±0,06
3-мин.оккл. ПСА+24-час. оккл. ЛСА	0,018±0,001*	0,22±0,003*	0,49±0,014*	0,19±0,004*	5,78±0,08
Левые стволовые структуры					
Контроль	0,18±0,005	0,72±0,04	0,26±0,005	0,21±0,005	3,60±0,09
3-мин. оккл. ПСА+24 -час. оккл. ЛСА	0,15±0,003	0,69±0,09	0,09±0,002*	0,05±0,003*	2,73±0,08*

**Примечание:** \* - достоверные отличия относительно контроля; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

Таким образом, в модели двусторонней окклюзии сонных артерий у 3-4-мес. животных нарушения медиаторного баланса носили комплексный характер, что проявилось в значительном истощении медиаторов как адренергической, так и серотонинергической природы (за исключением левой коры). Однако, согласно данным соотношений нейромедиаторов, при данном воздействии, как в правой, так и в левой гемисферах истощение адренергической медиации сопровождалось активацией серотонинергической.

Таблица 15

**Показатели соотношений НА/ДА, НА/серотонин и серотонин/5-ОИУК в мозге 3-4-месячных крыс при окклюзии сонных артерий (M±m)**

группы	НА/ДА	НА/серотонин	Серотонин/5-ОИУК
<b>Правая кора больших полушарий</b>			
контроль	0,23±0,01	0,70±0,03	1,04±0,04
3-мин. оккл. ПСА+24 -час. оккл. ЛСА	0,15±0,003	0,42±0,017*	2,79±0,12*
<b>Правые стволовые структуры</b>			
контроль	0,24±0,01	0,63±0,02	1,30±0,04
3-мин. оккл. ПСА.+24 -час. оккл.ЛСА	0,14±0,035*	0,14±0,064*	11,20±0,36*
<b>Левая кора больших полушарий</b>			
контроль	0,26±0,01	0,72±0,03	1,04±0,05
3-мин. оккл. ПСА+24 -час. оккл. ЛСА	0,08±0,003*	0,037±0,001 *	2,58±0,105*
<b>Левые стволовые структуры</b>			
контроль	0,25±0,008	0,69±0,02	1,24±0,04
3-мин. оккл. ПСА+24 -час. оккл. ЛСА	0,22±0,010	1,67±0,28 *	1,80±0,43*

**Примечание:** \*- достоверные отличия относительно контроля; НА/ДА – соотношение норадреналин/дофамин; НА/серотонин – соотношение норадреналин/серотонин; серотонин/5-оксииндолуксусная кислота.

Необходимо также отметить, что поведение животных после окклюзии сонных артерий, особенно после двусторонней окклюзии, отличалось

наличием депрессивных проявлений («забивались» в угол клетки, «вялость» и т.д.).

Далее приведены результаты исследования эффектов окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на функциональные показатели крыс 18 месяцев.

### **3.2.4. Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на показатели поведения, обучения и нейрохимический статус крыс 18-месячного возраста**

У выживших после ОСА старых крыс оценивали поведенческие показатели в тесте «открытое поле». В группе животных, подвергнутых окклюзии сонных артерий, наблюдали значительное снижение времени на потребление пищи (на 86%) и мелкую двигательную активность (на 30%) относительно ложноперирированных крыс (табл. 16).

При подсчете количества горизонтальных и вертикальных локомоций было установлено, что у животных, подвергнутых ОСА, происходило значительное снижение количества вертикальных стоек по сравнению с группой ложноперирированных крыс.

Нужно отметить, что характер поведенческих реакций у ложноперирированных животных был сходным с интактными животными.

Далее представлены результаты исследования эффектов ОСА на содержание моноаминов в структурах мозга 18-месячных животных, подвергнутых окклюзии сонных артерий (табл. 17, рис. 12).

В коре больших полушарий выявлено значительное понижение уровня норадреналина. В стволовых структурах снижение этого медиатора было несколько меньше, чем в коре больших полушарий, и составило 22% относительно контрольной группы крыс. Уровень адреналина вырос как в коре больших полушарий, так и в стволовых структурах.

Существует представление о том, что энергетический метаболизм в мозге регулируется через активацию  $\beta$ 2-адренорецепторов адреналином, а не

норадреналином. Увеличение уровня адреналина в мозге способствует усилению гликогенолиза и гликолиза. Известно, что гликогенолиз осуществляется при участии фосфорилазы, которая активируется путем фосфорилирования при помощи АТФ. Окислительное карбоксилирование в условиях энергетического дефицита в мозге усиливается через  $\beta$ 2-адренэргический механизм.

Ранее было установлено, что регуляция энергетического метаболизма осуществляется и норадреналином. Так, было установлено, что увеличение в мозге уровня НА способствует уменьшению содержания АТФ и гликогена, увеличению уровня лактата и пирувата, активности пируваткиназы и лактатдегидрогеназы, а также снижению активности фруктозо1,6-бифосфотазы (Sangiao-Alvarellos et al., 2011). Вероятно, эффекты норадреналина на гликолиз и гликогенолиз опосредуются через активацию не  $\beta$ 2-, а другого типа адренорецепторов.

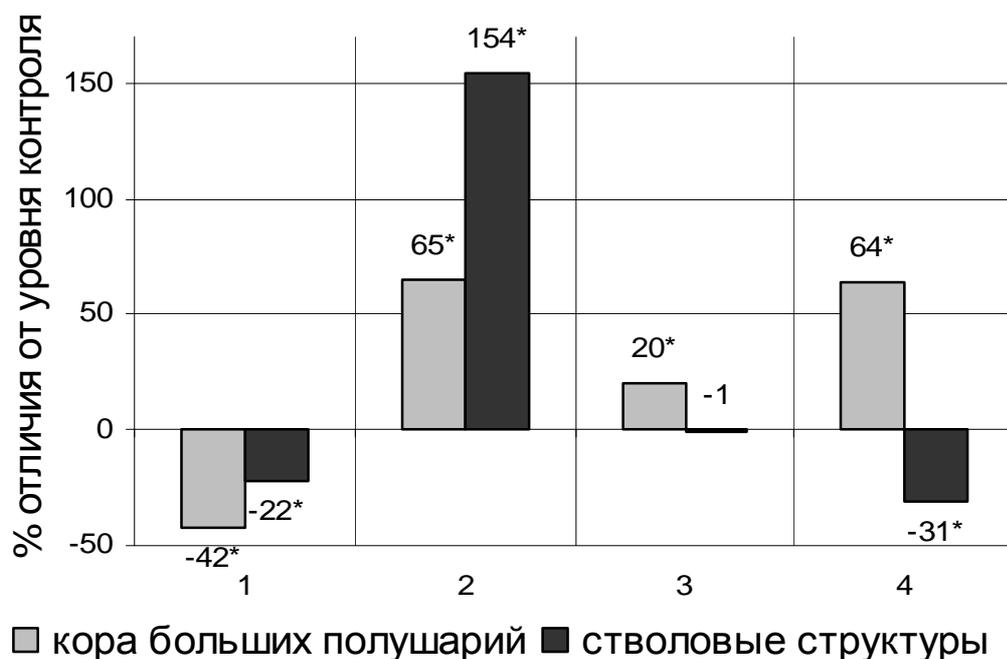


Рис. 12. Влияние окклюзии сонных артерий на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина (4) в структурах мозга 18-месячных крыс: \* - данные статистически значимы (t-критерий Стьюдента) по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Таблица 16

**Влияние окклюзии сонных артерий на представленность основных форм поведения 18-месячных крыс ( $M \pm m$ )**

Группа	Серия, за 1 час в сек., % от общего времени						
	R1	R2–R3	R4	R5	R6	R7	R8
Л/о	1181,3±294,4; 32,8%	190,0±60,9; 5,3%	108,8±35,9; 3%	252,5±97,1; 7%	838,0±39,5; 23,3%	654,2±3,6, 18,2%	375,2±57,5; 10,4%
ОСА	1518±180; 42,2%	252,0±87,8*; 7%	54,0±32,4*; 1,5%	36,0±22,1*; 1%	591,0±75,7*; 16,4%	438,0±105,0*; 12,2%	711,0±288,6*; 19,8%

**Примечание:** л/о – ложнооперированные крысы; ОСА – окклюзия сонных артерий.

\* - достоверные отличия от уровня показателей ложнооперированных крыс (при  $p < 0,05$ )

Таблица 17

**Содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина (мкг/мл) в мозге 18-месячных крыс контрольной группы ( $M \pm m$ )**

Группа	Исследуемые структуры	Содержание моноаминов в мозге (мкг/г)		
		НА	ДА	серотонин
Контроль	Правая кора больших полушарий	0,14±0,004	0,09±0,05	0,29±0,02
	Левая кора больших полушарий	0,17±0,007	0,11±0,003	0,34±0,01
	Правые стволовые структуры	0,31±0,02	0,26±0,05	0,32±0,004
	Левые стволовые структуры	0,27±0,01	0,18±0,01	0,27±0,009

Таким образом, на фоне возрастания содержания адреналина в структурах мозга крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий, выявлено истощение норадреналина и дофамина. Дефицит норадренергической и дофаминергической систем проявляется в поведенческих реакциях, который наблюдали и в проведенном исследовании.

Известно, что после выделения катехоламинов из нервных терминалей возрастает активность тирозингидроксилазы из-за уменьшения аллостерического ингибирования продуктом синтеза. При этом продуктом реакции гидроксилирования тирозина при участии тирозингидроксилазы является дигидроксифенилаланин (ДОФА). Кофакторную функцию фермента выполняет тетрагидроптеридин. Этот фермент может ингибироваться некоторыми производными тирозина (дофамином, норадреналином) по принципу обратной отрицательной связи, а также альфа-метилтирозином. Альфа,альфа-дипиридил связывается с железом, удаляя кофактор и ингибируя фермент. Вероятно, наблюдаемое понижение содержания норадреналина и дофамина является результатом ингибирования этими медиаторами тетрагидроптеридина.

При изучении изменений соотношений нейромедиаторов под влиянием окклюзии сонных артерий у 18-месячных крыс было обнаружено следующее. Наблюдали значительное снижение индекса норадреналин/дофамин (НА/ДА) в коре больших полушарий, а также соотношения ДОФА/дофамин в стволовых структурах мозга.

Можно предполагать, что такое перераспределение активности катехоламинергических систем в структурах мозга 18-месячных крыс под влиянием ОСА связано с изменением уровня функционирования адренергических рецепторов.

Возрастные изменения ЦНС приводят к изменению уравновешенности и подвижности нервных процессов, что обуславливает проявления возрастных особенностей условно-рефлекторной реакции. Модификация пластичности мозга при старении обусловлена структурными изменениями,

протекающими, в частности, при участии активных форм кислорода. Возникающий при этом холинэргический и дофаминэргический дефицит приводит к нарушению процессов обучения и памяти и моторной функции. С возрастом увеличивается уязвимость культуры нейронов к эксцитотоксическим инсультам в результате повышения или нарушения высвобождения нейротрансмиттеров, включая глутамат. Защитная система антиоксидантов является важной в поддержании клеточного гомеостаза и предотвращении окислительного стресса. Поэтому антиоксиданты способствуют общему замедлению старения организма.

Последствия нарушения регуляции СРП весьма драматичны не только для мембраны, но и для клетки в целом. Вклад нарушений регуляции СРП в общую картину повреждения зависит как от вида патогенного фактора, так и от структурно-функциональных особенностей ткани-мишени. Одной из наиболее чувствительных в этом плане является нервная ткань.

Свободные радикалы способны повышать базальные уровни возбуждающих аминокислот. Перекисное окисление липидов биологических мембран играет определенную роль в механизмах захвата и выброса медиаторов. Соединения, обладающие антиоксидантными свойствами, ингибируют захват серотонина и стимулируют его выброс из синапсов. Перекись водорода и другие активные формы кислорода изменяют синаптическое ингибирование. В присутствии  $H_2O_2$  усиливается возбуждающая нейротрансмиссия, после чего следуют нейродегенеративные повреждения, характерные для болезни Альцгеймера, Паркинсона, старения и других отклонений, связанных со стрессом.

Согласно представленным в таблице 18 результатам исследования, при ОСА в коре больших полушарий 18-месячных крыс происходит накопление ТБК-реактивных продуктов и снижение активности ферментов антиоксидантной системы защиты: супероксиддисмутазы и каталазы относительно контрольной группы крыс.

Аналогичные изменения происходили и в стволовых структурах крыс в

модели двухсторонней ОСА: возрастание содержания ТБК-реактивных продуктов сопровождалось снижением активности антиоксидантных ферментов.

Таблица 18

**Содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазной активности в мозге 18-месячных крыс ( $M \pm m$ )**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
ТБК-РП (нмоль/г белка)		
л/о	26,22±0,89	27,49±1,43
ОСА	49,46±1,24*	47,62±2,25*
СОД (ммоль/мин.г белка)		
1-я группа (л/о)	54,60±4,41	48,26±1,64
2-я группа (ОСА)	32,56±1,26*	29,94±1,17*
Каталазная активность (ед.акт-ти/г белка/10 мин.)		
1-я группа (л/о)	4,25±0,17	4,04±0,15
2-я группа (ОСА)	1,86±0,27*	2,34±0,09*

**Примечание:** \* – данные статистически значимы по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$ ; л/о – ложнооперированные крысы; ОСА – окклюзия сонных артерий.

Поскольку стадия ингибирования свободнорадикального окисления липидов соответствует срочной адаптации к стрессу и предшествует последующей активации ПОЛ (Гуляева, 1988), результаты исследования уровня ТБК-РП в мозге 18-месячных крыс могут свидетельствовать об увеличении при ОСА чувствительности ЦНС к кислородному голоданию и уменьшении мощности антиоксидантных систем.

Известно, что любой процесс адаптации к стрессу сопровождается накоплением активных форм кислорода, в частности супероксид-аниона, который в присутствии СОД диспропорционирует на кислород и перекись водорода. В свою очередь, перекись водорода вступает в реакцию со свободными ионами железа и меди, что сопровождается образованием высокотоксичных гидроксильных радикалов, мишенями для которых

являются полиненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран и молекула ДНК. Повреждение последней приводит к клеточной гибели, индукторами которой служат ряд ферментов, в том числе семейство каспаз (Скулачев, 2001).

Действительно, накопление ТБК-реактивных продуктов и снижение активности антиоксидантных ферментов в мозгу крыс в модели двухсторонней ОСА и ОГГ сопровождается значительным возрастанием активности каспазы-3. Внутренним сигналом к активации семейства каспаз, в частности каспазы-3, является цитохром с, тогда как среди внешних сигналов наиболее исследованными являются активация глутаматных рецепторов и  $\beta$ 2-адренорецепторов. Но поскольку установлено, что при ОСА происходит снижение содержания норадреналина и дофамина, можно предположить, что проапоптотические процессы (интенсификация свободнорадикальных процессов и активация каспазы-3) в мозге этих животных запускаются через активацию NMDA-, AMPA-рецепторов.

Это согласуется с данными, что в процессе старения проявляются признаки нейродегенерации, в том числе нарушение функций обучения и памяти (Bishop et al., 2010; Park, Reuter-Lorenz, 2009; и др.). Для коррекции этих возрастных изменений в настоящее время разработано множество препаратов, применение которых, тем не менее, не решает проблемы нарушений в когнитивной сфере у людей пожилого и старческого возраста (Танашян и др., 2011; Бархатов и др., 2011).

В этом плане перспективным является изучение процессов, связанных с программированной гибелью клеток и пластическими процессами. В современной нейробиологии проблема пластичности нервной системы занимает особое место, поскольку механизмы функциональной и структурной пластичности, одним из компонентов которой являются процессы апоптоза, лежат в основе адаптационных процессов и компенсации нервных функций, нарушенных вследствие экстремальных или патологических состояний (Кудряшова, Гуляева, 2010).

Пластические процессы в нервной ткани обеспечиваются несколькими механизмами. В первую очередь это экспрессия генома, направленная на активацию ряда каскадных процессов, прежде всего системы протеолитических ферментов. К подобным системам относится и система каспаз, основной функцией которых является запуск апоптотических процессов. В частности, изменение активности семейства каспаз (которые традиционно рассматривают в качестве факторов гибели клетки) может наблюдаться и в нормально функционирующем нейроне, что связывают с пластическими процессами (Гуляева, 2004; Mattson, Duan, 2002; Tomimatsu et al., 2002). Поскольку в настоящее время выявлены не только апоптотические функции каспазы-3 (Algeciras-Schimmich, 2002; Los et al., 2001), поиск связи между обучением и активностью данной протеазы представляет большой интерес.

У крыс в модели острой гипоксической гипоксии время поиска скрытой платформы было достоверно выше, чем в контрольной группе животных (рис. 13).

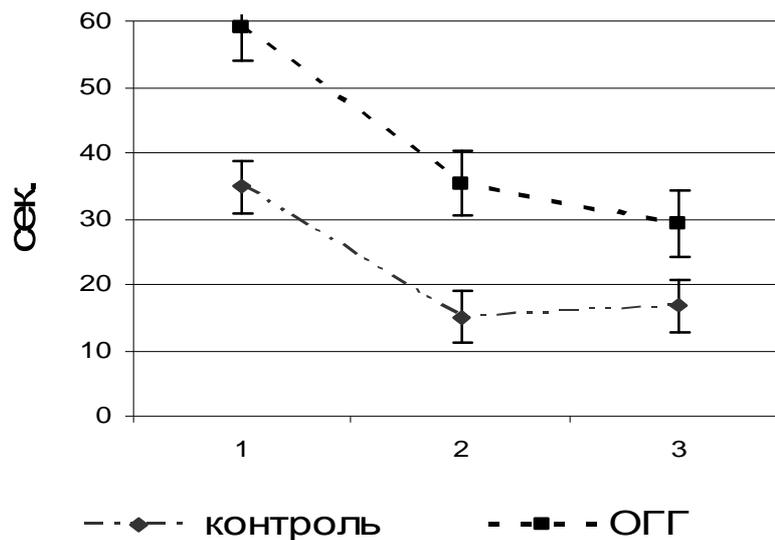


Рис. 13. Влияние острой гипоксической гипоксии на время поиска скрытой платформы в водном лабиринте Морриса у 18-месячных крыс

При этом после острой гипоксической гипоксии у крыс значительно возрастает активность каспазы-3 и в коре больших полушарий и в стволовых структурах, в то же время содержание данной протеазы не изменилось относительно контроля (табл. 19-20).

Таблица 19

**Содержание каспазы-3 (нг/г ткани) в структурах мозга 18-месячных крыс, подвергнутых острой гипоксической гипоксии ( $M \pm m$ )**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
Контроль ( $n = 8$ )	$8,75 \pm 0,34$	$8,93 \pm 0,37$
Острая гипоксическая гипоксия ( $n = 8$ )	$8,50 \pm 0,41$	$9,37 \pm 0,45$

**Примечание:** \* – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при  $p < 0,05$ .

Различие в изменении содержания и активности каспазы-3 по сравнению с контролем можно объяснить тем, в цитозоле уровень активности данного фермента может изменяться под влиянием различных факторов. Например, максимум активности каспазы-3 достигает при близких к нейтральным значениях pH (Benson et al., 1999), однако определенный уровень активности данная протеаза проявляет при кислых значениях pH (Onufriev et al., 2009; Yakovlev et al., 2008). Это может быть связано со способностью каспаз к быстрой активации в большом количестве в ответ на слабое воздействие подходящих индуцирующих сигналов (Kanamori et al., 2010).

Кроме того в условиях ишемии/гипоксии в результате ауторегуляторных процессов активность каспазы-3 повышается в геометрической прогрессии, что приводит к гибели клетки (Su et al., 2012). Результатом деструктивных изменений в структурах мозга после перенесенной гипоксической гипоксии является снижение способности животных к обучению в лабиринте Морриса.

Поскольку известно, что у старых животных при стрессе может развиваться и нейровоспалительный процесс, мы исследовали содержание отдельных интерлейкинов в сыворотке крови (как косвенный показатель воспалительных процессов в мозге).

**Активность каспазы-3 (пмоль/мин./мг белка) в структурах мозга 18-  
месячных крыс ( $M \pm m$ )**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
Контроль, физ. р-р ( $n = 8$ )	0,82±0,04	1,03±0,14
Физ. р-р + гипоксическая гипоксия ( $n = 8$ )	1,89±0,06*	1,87±0,31*

**Примечание:** \* – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при  $p < 0,05$ .

При изучении содержания цитокинов в сыворотке крови 18-месячных крыс показано повышение содержания ИЛ-6 при ОГГ (в 36 раз) по сравнению с контролем (табл. 21).

**Влияние окклюзии сонных артерий на содержание ИЛ-6 и TNF- $\alpha$  в  
сыворотке крови старых крыс ( $M \pm m$ )**

Группа	ИЛ-6, пк/мл	TNF- $\alpha$ , пк/мл
л/о	27,17±1,06	90,89±3,57
ОСА	990,46±43,17*	103,61±4,36

**Примечание:** \* – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при  $p < 0,05$ .

Известно, что ИЛ-6 в мозге может индуцировать каскад нейродегенеративных изменений (Li et al., 2000). Можно предположить, что при ОСА происходит активация нейровоспаления.

Исходя из анализа данных исследования эффектов гипоксии/ишемии мозга на функциональные показатели крыс разного возраста можно сделать следующие заключения. Было установлено, что уровень обучения животных зависит от эффектов гипоксии/ишемии на активность каспазы-3 в мозге. Пренатальная гипоксическая гипоксия (13-20 сутки гестации) оказала наиболее неблагоприятное воздействие на обучение 21-дневных животных, возможно, по причине того, что в пренатальном периоде происходит формирование нейрональных систем, которые в постнатальном периоде

являются морфологическим субстратом адаптационных реакций к изменяющимся условиям среды. Окислительный стресс в мозге в условиях пренатальной гипоксии потенцирует процесс чрезмерного метилирования ДНК и, таким образом, играет трагическую роль в созревании функциональных систем мозга: снижается способность к изменению программы адаптации.

Снижение способности к обучению 18-месячных крыс относительно 3-4-месячных, также является результатом возрастных изменений в работе функциональных систем, в том числе, нейрохимических. С возрастом происходит снижение метаболических процессов, что в условиях стрессового воздействия способствует развитию окислительного стресса и других патологических процессов в мозге, что снижает адаптационный потенциал организма.

### **3.3. Роль функциональной межполушарной асимметрии мозга в устойчивости организма к ишемическим/гипоксическим воздействиям**

#### **3.3.1. Влияние окклюзии средней мозговой артерии на выживаемость, объем инфаркта и неврологический статус крыс с разным латеральным профилем**

При изучении устойчивости к ишемии мозга крыс с разным латеральным профилем использовали модель окклюзии средней мозговой артерии. Согласно результатам исследования % гибели животных в модели окклюзии левой средней мозговой артерии (ОСМА (Л)) различался на 1-й день после моделирования ишемии мозга: выживаемость крыс с леволатеральным профилем была выше относительно животных с ПЛП (рис. 14А). В модели окклюзии правой средней мозговой артерии (ОСМА (П)) достоверных различий показателя смертности между животными с разным латеральным профилем не обнаружено в разные сроки ОСМА (рис. 14Б).

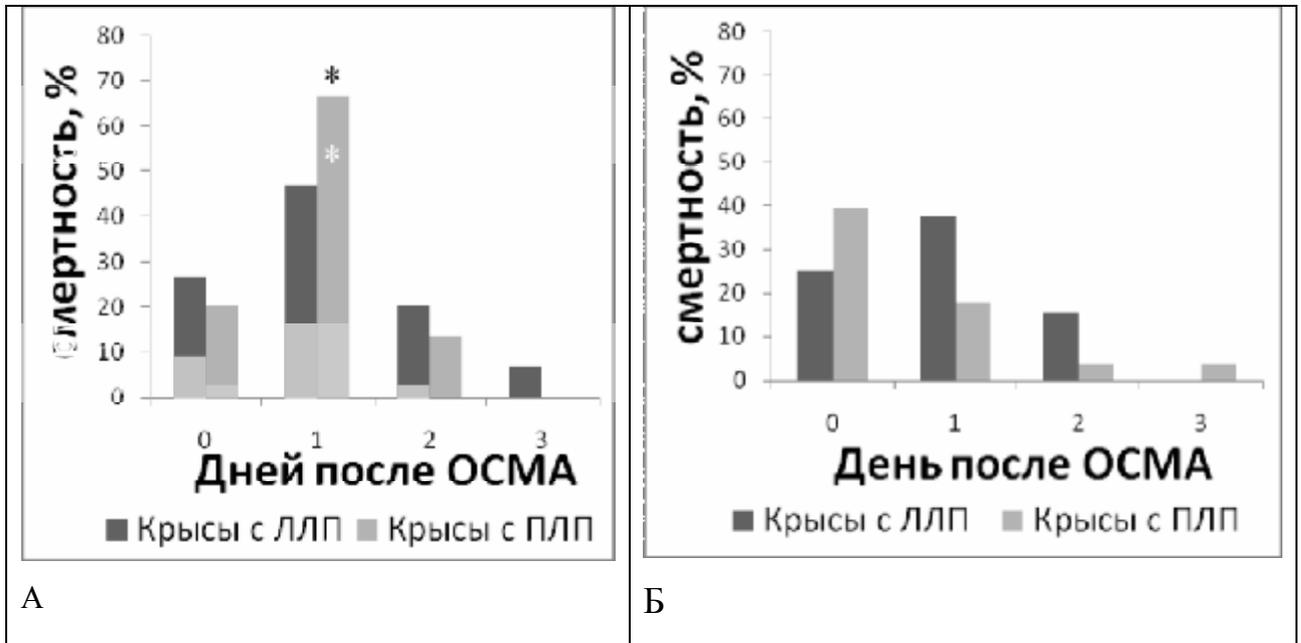


Рис. 14. Процент смертности у крыс с разным латеральным профилем в постишемический период в модели ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

\* - достоверные различия при  $p < 0,05$  между группами крыс

У крыс с ПЛП показатель смертности на 1-е сутки моделирования ОПСМА значительно выше относительно группы, которым моделировали ОЛСМА. Различий в уровне смертности на протяжении всего периода наблюдения у крыс с ЛЛП в моделях ОСМА(Л) и ОСМА(П) не выявлено.

Также установлено, что после моделирования ОСМА происходило снижение веса животных. На 1-й день после ОСМА (Л) процент снижения веса был выше у крыс с леволатеральным профилем, но в последующие дни исследования различий данного показателя у животных с разным ЛП не установлено: снижение веса составляло в пределах 12-14% от исходного (рис. 15А). Тогда как в модели ОСМА (П) достоверные различия показаны только на 7-й день после окклюзии средней мозговой артерии (рис. 15Б).

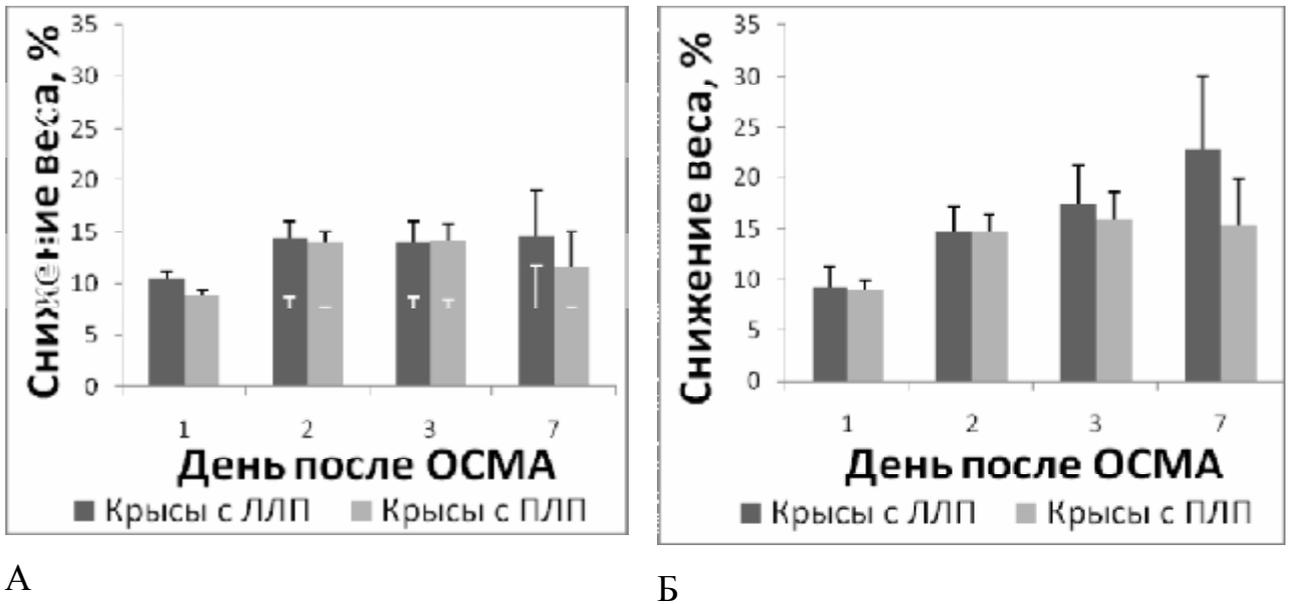


Рис. 15. Изменение веса крыс с разным латеральным профилем после моделирования ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

ЛЛП – крысы с леволатеральным профилем; ПЛП – крысы с праволатеральным профилем

После перенесенной ОСМА (Л) крысы с ЛЛП демонстрировали менее выраженный неврологический дефицит относительно животных с ПЛП (по общей неврологической шкале). К 7-м суткам после ОСМА (Л) степень неврологического дефицита у крыс с ЛЛП была снижена по сравнению с предыдущими сроками наблюдения. Тогда как у крыс с ПЛП понижение уровня неврологического дефицита не выявлено (рис. 16А).

В условиях ОСМА (П) более выраженный неврологический дефицит (общая неврологическая шкала) испытывали животные с ЛЛП относительно крыс с ПЛП на 1-е, 3-и и 7-е сутки после окклюзии средней мозговой артерии (рис. 16Б). Тем не менее, в данной модели окклюзии средней мозговой артерии у животных с разным латеральным профилем на 2-е, 3-и сутки ОСМА (П) показатель неврологического дефицита был выше, чем при ОСМА (Л). Также у крыс с ЛЛП на 7-е сутки ОСМА (П) показатель

неврологического дефицита значительно превышал данный показатель животных с ЛЛП в модели ОСМА (Л) (рис. 16А-Б).

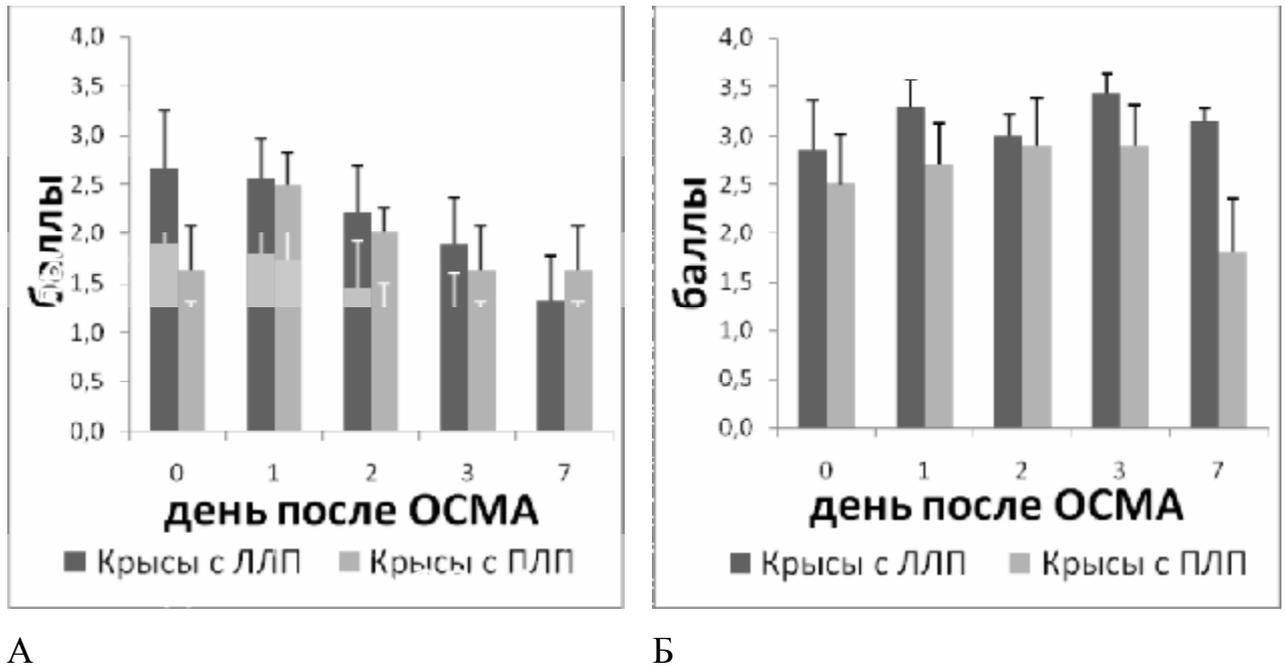
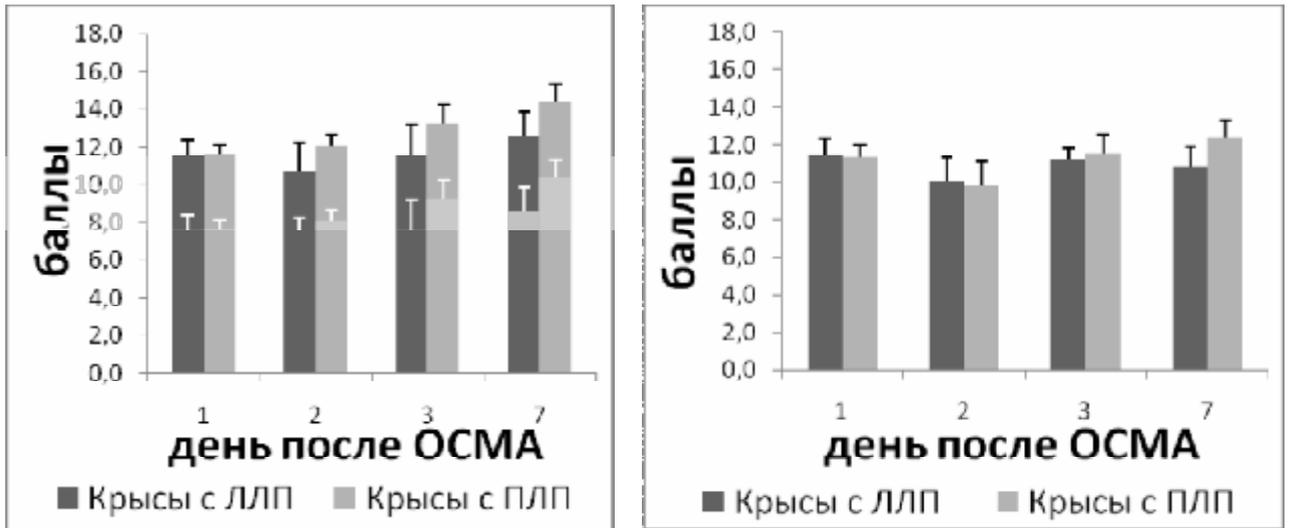


Рис. 16. Неврологический дефицит (общая неврологическая шкала) у крыс с разным латеральным профилем после моделирования ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

ЛЛП – крысы с леволатеральным профилем; ПЛП – крысы с праволатеральным профилем

При анализе результатов исследования влияния ФМА на устойчивость к ОСМА по развернутой неврологической шкале установлено следующее. У крыс с ЛЛП в модели ОСМА (Л) уровень неврологического дефицита не изменялся на протяжении всего периода наблюдения, а у животных с праволатеральным профилем на 3-и и 7-е сутки после МСАО степень неврологического дефицита возросла относительно 1-х суток эксперимента (рис. 17А). При моделировании ОСМА (П) у крыс с ЛЛП уровень неврологического дефицита не изменялся в течение всего периода наблюдения после окклюзии средней мозговой артерии. У животных с ПЛП снижение неврологического дефицита ко 2-у дню сменялось его

возрастанием к 7-у дню после ОСМА (П) (рис. 17Б). При этом по данной неврологической шкале достоверные различия установлены только между крысами с ПЛП в обеих моделях ОСМА (рис. 17А-Б).



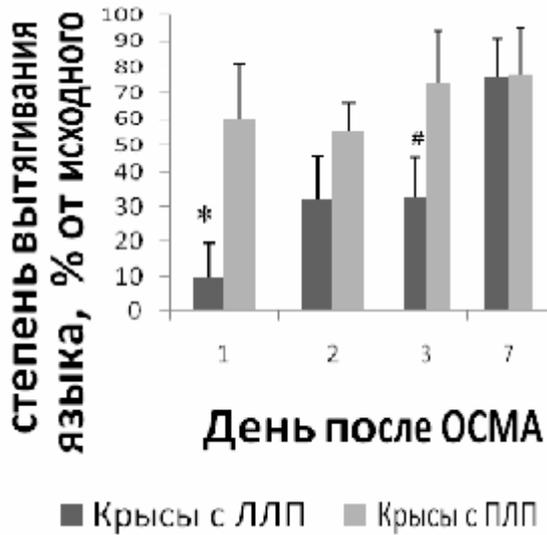
А

Б

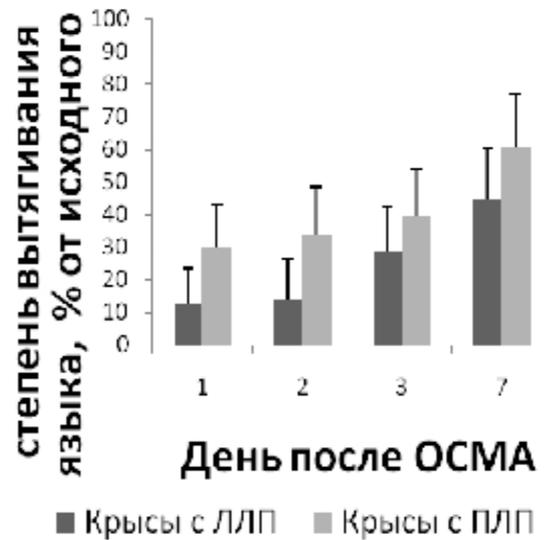
Рис. 17. Неврологический дефицит (развернутая неврологическая шкала) у крыс с разным латеральным профилем после моделирования ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

ЛЛП – крысы с леволатеральным профилем; ПЛП – крысы с праволатеральным профилем

По результатам тестирования животных на вытягивание языка выявлены значительные различия данного показателя в модели ОСМА (Л) у животных с разным латеральным профилем на 1-й и 3-й день эксперимента. У крыс с ЛЛП увеличение показателя вытягивания языка наблюдали к 7-у дню моделирования ОСМА (Л) (рис. 18А). В модели ЛПСМА данный показатель был выше у крыс с ЛЛП относительно группы крыс, которым моделировали ОСМА (П). При ОСМА (П) у животных с ЛЛП показатель вытягивания языка повышался к 7-у дню по сравнению с 1-м днем после окклюзии средней мозговой артерии (рис. 18Б).



А



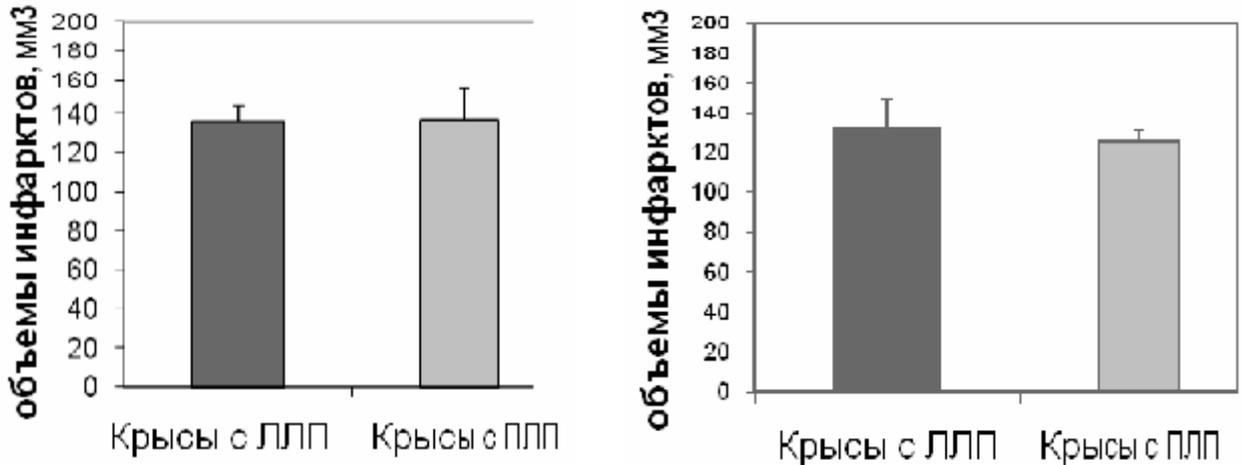
Б

Рис. 18. Изменение степени вытягивания языка в постиншемический период у крыс с разным латеральным профилем после моделирования ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

ЛЛП – крысы с леволатеральным профилем; ПЛП – крысы с праволатеральным профилем; \* - достоверные различия показателей между крысами с разным латеральным профилем; # - достоверные различия между показателями крыс с ЛЛП на 3-й день эксперимента в модели ОСМА (Л); α – достоверные различия между показателями у крыс с ЛЛП на 7-й день относительно 1-о дня ОСМА (П)

Таким образом, на 1-й день после моделирования МСАО выживаемость крыс с ЛЛП была выше, хотя вес животных в этот период был статистически ниже крыс с ПЛП. Также нужно отметить, что степень неврологического дефицита по общей неврологической шкале у крыс с ЛЛП ниже относительно животных с ПЛП, а по развернутой шкале – выше у животных с ПЛП по сравнению с крысами с ЛЛП. Тем не менее, показатель вытягивания языка в течение первых 3-х дней после МСАО был ниже в группе крыс с ЛЛП.

Объем инфарктов мозга крыс, перенесших ОСМА (Л) и ОСМА (П), не различался (рис. 19А-Б).



А

Б

Рис. 17. Объемы инфарктов (мм<sup>3</sup>) у животных с разным латеральным профилем на 7 день после моделирования ОСМА (А – окклюзия левой средней мозговой артерии; Б – окклюзия правой средней мозговой артерии)

ЛЛП – крысы с леволатеральным профилем; ПЛП – крысы с праволатеральным профилем

На рисунках 21А и 21Б представлены примеры гистологических срезов мозга крыс в разных моделях ОСМА.

При этом после ОСМА (Л) у крыс с ЛЛП между объемами инфарктов мозга выявлена корреляционная зависимость с показателем по общей неврологической шкале: -  $r=0,74$ ,  $p<0,05$  (в день операции). Также установлена корреляционная связь между объемами инфарктов мозга и весом животных у крыс с ПЛП на 2 день после ОСМА (Л) ( $-r=0,73$ ,  $p<0,05$ ). На 7-е сутки после ОСМА (Л) показана положительная связь между изменением показателей веса животного и тестирования по общей неврологической шкале у животных с ЛЛП ( $r=0,67$ ,  $p<0,05$ ). В модели ОСМА (П) у крыс с ПЛП установлены прямые корреляционные связи между показателями неврологического дефицита (по общей неврологической шкале) и весом животных на 3-и ( $r=0,73$ ,  $p<0,05$ ) и 4-е сутки ( $r=0,77$ ,  $p<0,05$ ) после ОСМА.

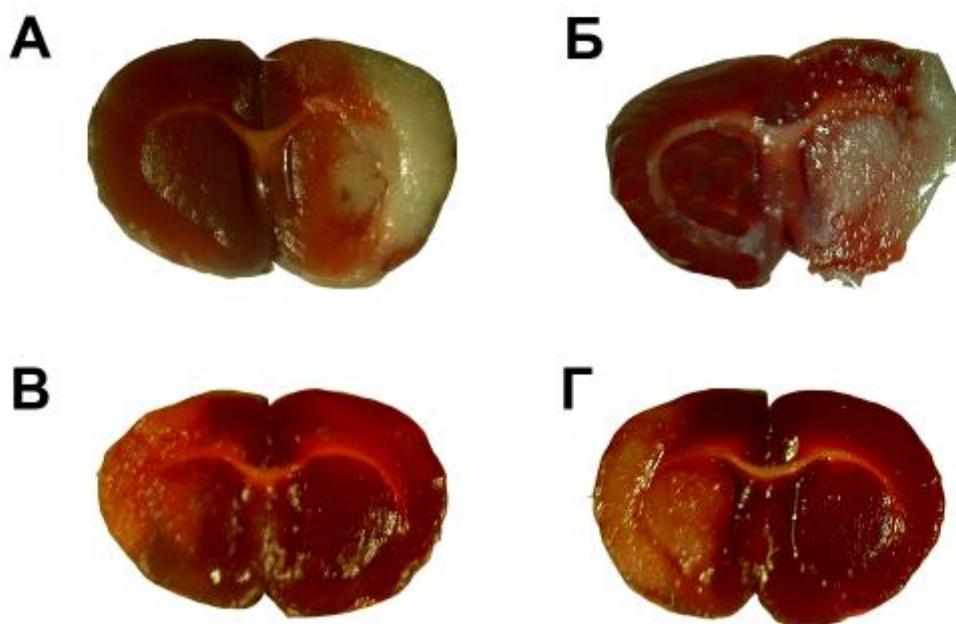


Рис. 21А. Влияние фокальной ишемии, вызванной ОСМА справа (А, Б) или слева (В, Г) у крыс с леволатеральным (А, В) и праволатеральным профилем моторной (Б, Г) асимметрии. Срезы мозга (2 мм) окрашены ТТС. Неокрашенные участки мозга соответствуют зоне инфаркта.

Это также подтверждено данными корреляционного анализа при сравнении показателей веса крыс с ПЛП и показателями по развернутой неврологической шкале.

Необходимо отметить, что у крыс с ЛЛП корреляционных связей между показателями неврологического дефицита и данными развернутой неврологической шкалы не обнаружено в отличие от животных с ПЛП, у которых показаны отрицательные корреляционные взаимосвязи между данными показателями в течение всего периода наблюдения после ОСМА (П). Тем не менее, у крыс с ЛЛП установлена взаимосвязь между показателями неврологического дефицита (по развернутой неврологической шкале) и вытягиванием языка на 7-е сутки после ОСМА (П) ( $r=0,92$ ,  $p<0,01$ ) относительно животных с ПЛП ( $r=0,77$ ,  $p<0,05$ ).

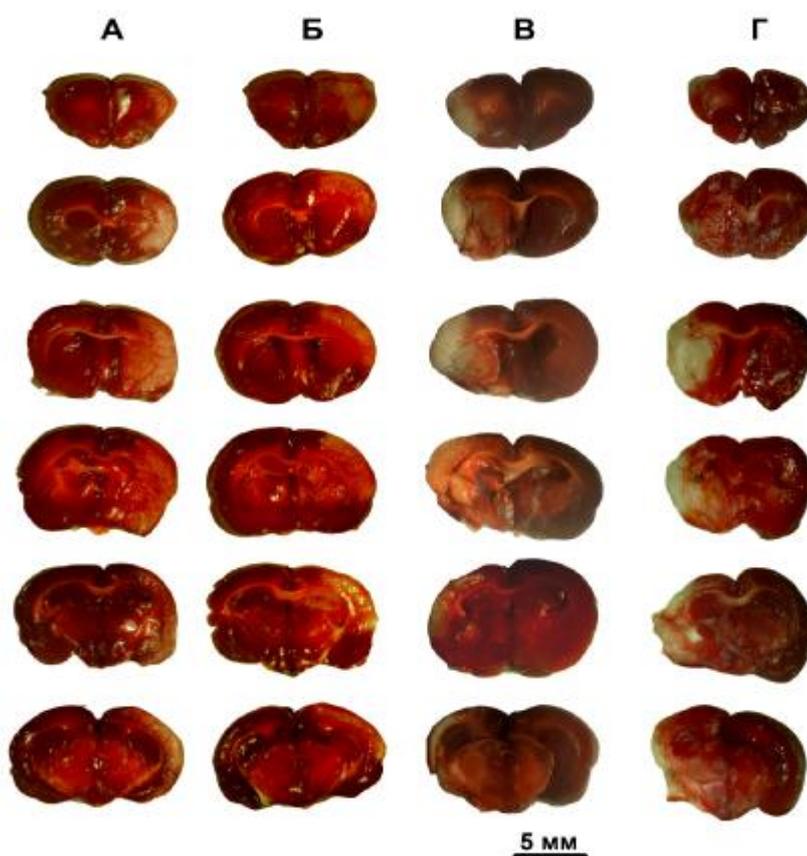


Рис. 21Б. Срезы мозга крыс, подвергнутых фокальной ишемии. А, В, животные с леволатеральным профилем; Б, Г, животные с праволатеральным профилем. А, Б, ишемия в левом полушарии; В, Г, ишемия в правом полушарии. Окраска ТТС. Шкала – 5 мм.

Сходные результаты корреляционного анализа (отрицательные взаимосвязи) показаны между показателями высывания языка и весом крыс с разным латеральным профилем на 3-и и 7-е сутки после ОСМА (П). Также у животных с ПЛП установлены обратные взаимосвязи между неврологическим дефицитом по общей неврологической шкале и показателями вытягивания языка на 1-е, 2-е, 3-и и 7-е сутки после ОСМА (П).

В настоящее время известно, что существуют межполушарные различия в регуляции вегетативных функций. Предполагают, что правое полушарие

оказывает более значительное влияние на иммунитет и деятельность эндокринных желез (Gerendai, Halasz, 1997). Поэтому считают, что возможности правого полушария определяют эффективность мозговой гемодинамики. Возможно, именно с этим связан тот факт, что процент смертности крыс с ПЛП был выше в день моделирования ОСМА (П), а не ОСМА (Л), тогда как на 1-е сутки после ОСМА наблюдали больший процент гибели животных с ПЛП в модели ОСМА (Л). Незначительные различия данного показателя у крыс с ЛЛП в день моделирования ОСМА и спустя сутки можно объяснить тем, что нарушение гемодинамики преимущественно с левой стороны снижает в целом резистентность организма, а с правой стороны – регуляторные механизмы гемодинамики мозга. Действительно, к настоящему времени накоплено достаточное количество фактов, подтверждающих тот факт, что феномен резистентности к гипоксии мозга и другим стрессовым воздействиям связан с межполушарной асимметрией мозга (Михеев и др., 2011, Черноситов, 2011 и др.). Возможно, это обусловлено, в т.ч. асимметричным распределением дофамина в ядрах солитарного тракта (Ведясова и др., 2003; Меркулова Н.А. и др., 1992). Не исключено, что важную роль в неравнозначном ответе полушарий на гипоксию играет эндотелиальный релаксирующий фактор, каковым является оксид азота (Манухина и др., 2002).

Возможны и другие предположения, в частности, различие полушарий в активности антиокислительных систем (Зарубина и др., 2003; Бахшалиева, 2010). В том числе, нами было показано, что существует выраженная асимметрия в распределении ферментов глутатионовой системы в мозге крыс с разным латеральным профилем, что коррелировало и со степенью их устойчивости к окклюзии сонных артерий (Менджеричкий, 2008). В этом же исследовании были получены и результаты, подтверждающие многочисленные данные, свидетельствующие о роли NO в патогенезе ишемии мозга (Bonnin et al., 2012; Mohammadi et al., 2012; Peng et al., 2012; Vaibhav et al., 2012 a, b). В том числе, было показано, что в условиях

введения AR-R 17477 (ингибитор индуцибельной и нейрональной NOS) перед ОСА значительно возрастает процент выживаемости животных с разным латеральным профилем, у которых повышается функциональная активность антиоксидантной системы защиты, особенно у крыс с ЛЛП. Предположительно, более высокая устойчивость организма крыс к ОСА относительно ОСМА связана с сохранением при окклюзии сонных артерий оптимального функционирования антиоксидантных систем защиты между структурами мозга, что возможно при базальном относительно низком уровне метаболических реакций, особенно в доминирующей полушарии (Косенко, 2007). Также в работах P.I. Kudrina et al., (2012) установлено, что в условиях ишемии/гипоксии мозга изменяется функциональная активность систем регуляции мозгового кровотока и снижаются резервы коллатерального кровообращения мозга. Это происходит, в том числе, по причине нарушения эндотелийзависимой системы регуляции тонуса брахиоцефальных сосудов (Ефимова и др., 2002). Предполагают, что диффундируя к сосудам, высокие концентрации оксида азота, образованного при участии nNOS и iNOS, при ишемии головного мозга оказывают на них повреждающее действие, приводят к формированию отека сосудистой стенки, повышению ее проницаемости, сгущению крови, повышению ее вязкости, а также увеличению агрегационных свойств форменных элементов.

Таким образом, при окклюзии средней мозговой артерии развитие некротических нарушений ткани мозга снижает роль межполушарной асимметрии в устойчивости организма к ишемии мозга. При менее значительных повреждениях функционирования мозга (при окклюзии сонных артерий) данное свойство сохраняется, что отражается на поведенческих и метаболических особенностях реагирования на стресс животных с разным латеральным профилем.

Далее представлены результаты исследования роли ФМА на выработку и сохранность УРАИ у крыс с разным латеральным профилем в модели окклюзии сонных артерий.

### 3.3.2. Влияние окклюзии сонных артерий на условно-рефлекторную реакцию активного избегания крыс с разным латеральным профилем

Данными ряда авторов показано, что существует тесная взаимосвязь между функциональной межполушарной асимметрией и такими фенотипическими признаками, как тип нервной системы, эмоциональность, двигательная активность, способность к обучению и закреплению информации, помехоустойчивость и т.д. (Кураев и др., 1996, 2004; Черноситов, 2000, 2011 и др.).

Для эксперимента отбирали животных с разным латеральным профилем, уровень латерализации полушарий головного мозга до и после выработки условной реакции активного избегания которых представлен в таблице 22.

Таблица 22

#### Уровень латерализации полушарий мозга экспериментальных крыс

Группа	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
Контроль	$0,64 \pm 0,02$	$-0,58 \pm 0,03$
2-я группа (до выработки УРАИ)	$0,71 \pm 0,03$	$-0,64 \pm 0,02$
2-я группа (после выработки УРАИ)	$0,69 \pm 0,04$	$-0,60 \pm 0,04$

Перед проведением и непосредственно в условиях эксперимента было отмечено, что среди крыс с ПЛП количество животных с высоким уровнем тревожности было значительно выше по сравнению с леволатеральными.

Электрокожная стимуляция (в ходе выработки УРАИ) способствовала усилению тревожных реакций, а впоследствии – невротизации отдельных животных, в большей степени с леволатеральным профилем. Тогда как у крыс с ПЛП появились депрессивные проявления («угнетенное поведение»). Вследствие этого крысы с праволатеральным профилем в процессе выработки УРАИ демонстрировали преимущественно толерантный тип поведения. У крыс же с леволатеральным профилем процент выработанных условных реакций был выше на протяжении всего эксперимента (рис. 22).

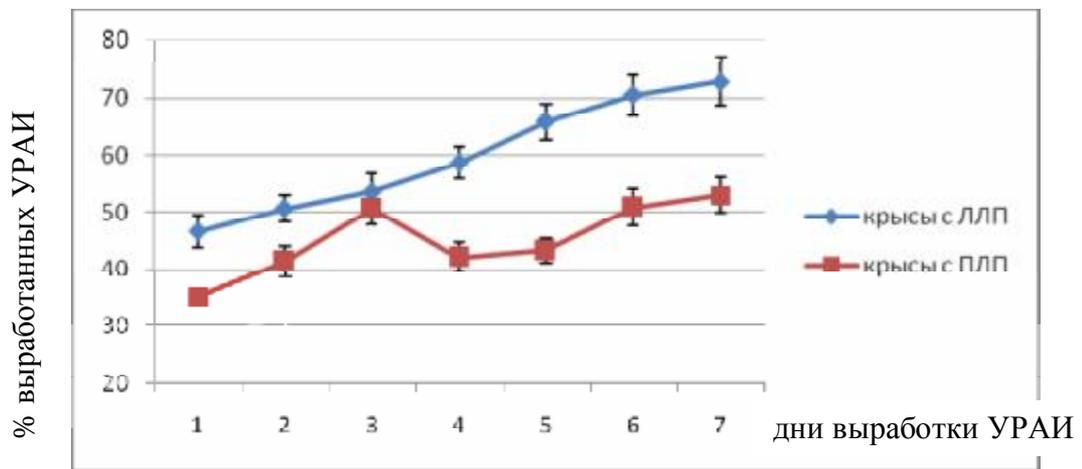


Рис. 22. Скорость выработки УРАИ в течение недели у крыс с разным латеральным профилем

Скорость выработки условной реакции активного избегания отличалась в группах животных с ЛЛП и ПЛП (табл. 23). При этом количество выработанных УР-реакций у животных было взаимосвязано с уровнем латерализации коры больших полушарий.

На первый день эксперимента у крыс с ЛЛП отмечали следующую реакцию: к 7–9-й минутам электрокожной стимуляции животные после светового сигнала готовились к спуску на нижнюю полку, а через несколько секунд возвращались на верхнюю, а показатель уровня выработки условного рефлекса составлял 47% от предъявляемых стимулов. Необходимо отметить, что в поведении крыс не отмечено признаков высокого уровня тревожности.

Среди крыс с доминированием правого полушария количество адекватных реакций на стимул в первый день было достоверно ниже по сравнению с животными 1-й группы и составляло 35% от предъявляемых стимулов. При этом крысы с праволатеральным профилем демонстрировали большие нарушения в поведении (тревога, агрессия) по сравнению с леволатеральными животными.

На вторые и третьи сутки выработки УРАИ как у лево-, так и у праволатеральных животных обнаружено возрастание процента условных

реакций. Однако у крыс с леволатеральным профилем этот показатель возрастал быстрее относительно животных 2-й группы.

Таблица 23

**Степень выработки УРАИ в ходе эксперимента у крыс с ЛЛП и ПЛП**

День выработки УРАИ	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
1	46,64±2,75	35,16±1,23*
2	50,66±2,35	41,5±2,67*
3	53,66±3,21	50,66±2,86
4	58,66±2,78	42,16±2,56*
5	65,83±3,13	43,33±2,17*
6	70,50±3,54	50,83±3,24*
7	72,83±4,21	53,00±3,17*

**Примечание:** \* – достоверные отличия от показателей у животных с леволатеральным профилем (при  $p < 0,05$ ).

Тревожность особей с преимущественным доминированием левого полушария стабилизировалась на одном уровне, тогда как у крыс с ПЛП тревожные и агрессивные проявления в поведении нарастали.

На четвертые и пятые сутки эксперимента у крыс с ЛЛП наблюдали дальнейшее повышение количества условно-рефлекторных реакций. У крыс с праволатеральным профилем, напротив, происходило некоторое снижение этого показателя, животные обнаруживали в большинстве случаев толерантный тип поведения: в ответ на световой стимул не происходило реакции, крысы оставались на нижней полке (условная реакция пассивного избегания).

На 6-е-7-е сутки эксперимента в обеих группах отмечено повышение количества выработанных условно-рефлекторных реакций: в группе с леволатеральным профилем этот показатель составил 73%, тогда как у особей с ПЛП – 53%.

Таким образом, нарушения в поведении в результате электрокожной стимуляции у крыс с ПЛП отразились на скорости и степени выработанного навыка в большей степени по сравнению с леволатеральными животными. Это свидетельствует о том, что функциональная межполушарная асимметрия является одним из факторов, определяющих способность к обучению. Кроме того, ФМА определяет особенности адаптированности к новым условиям. В нашем эксперименте было показано, что более высокие адаптационные возможности продемонстрированы крысами с леволатеральным профилем. Последнее согласуется с данными литературы о том, что латеральный профиль является одним из неспецифических «субстратов», отвечающих за резистентность организма к стрессовым воздействиям (Черноситов, 2000).

При анализе результатов тестирования на выявление уровня латерализации больших полушарий мозга показано, что выработка условной реакции способствовала незначительному изменению этого показателя после эксперимента. Однако у животных с праволатеральным профилем изменение данного значения от контрольного уровня было выше, чем у крыс с ЛЛП.

Тестирование в экспериментальной камере после окклюзии сонных артерий показало резкое снижение условно-рефлекторных реакций у крыс по сравнению с седьмым днем эксперимента. Причем у животных с леволатеральным профилем эти нарушения были менее выражены по сравнению с праволатеральными крысами, как в модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА, так и в модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА. Однако при перевязке сонной артерии на 24 часа со стороны доминирующего полушария происходило более значительное снижение показателя УРАИ по сравнению с седьмым днем эксперимента у крыс как с лево-, так и с праволатеральным профилем. Наиболее негативное влияние окклюзия оказала на сохранности УРАИ у крыс с ПЛП (табл. 24).

**Степень выработки и сохранности УРАИ в ходе эксперимента и после окклюзии сонных артерий у крыс с разным латеральным профилем**

Группа	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
7-й день эксперимента	72,83±4,21	53,00±3,17**
спустя сутки после 3-минутной окклюзии ПСА + 24-часовой окклюзии ЛСА	20,75±1,75*	10,25±0,78*
спустя сутки после 3-минутной окклюзии ЛСА + 24-часовой окклюзии ПСА	35,78±1,37*	5,38±0,21* **

*Примечание:* \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от показателя УРАИ на 7-й день эксперимента; \*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от показателей у животных с леволатеральным профилем.

Следовательно, 24-часовое нарушение кровоснабжения доминирующего полушария является патогенным фактором более высокой интенсивности по сравнению с 3-минутной окклюзией с последующей 24-часовой реоксигенацией. Приведенные данные подтверждают клинические наблюдения, согласно которым ранняя и стойкая реперфузия снижает неврологическую симптоматику инсультного больного и повышает выживаемость (Кадыков, Шахпаронова, 2006).

Уровень выживаемости животных с разным латеральным профилем после окклюзии сонных артерий достоверно различался в группах крыс с ЛЛП и ПЛП (табл. 25).

Снижение уровня латерализации полушарий у животных с леволатеральным профилем при 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА было не столь значительным (на 64%) по сравнению с крысами с ЛЛП, которым моделировали 24-часовое лигирование ЛСА.

**Процент выживаемости крыс с разным латеральным профилем через сутки после окклюзии сонных артерий**

Группы/модели ОСА	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
3-минутная окклюзия ПСА + 24- часовая окклюзия ЛСА	62,5	44
3-минутная окклюзия ЛСА + 24- часовая окклюзия ПСА	66	33

Тогда как у крыс с ПЛП этот показатель понизился до уровня амбилатеральности. Вероятно, с этим связано то, что процент выживаемости среди животных с леволатеральным профилем был выше относительно крыс с ПЛП.

**3.3.3. Влияние окклюзии сонных артерий на нейрохимические показатели крыс с разным латеральным профилем, которым вырабатывали условную реакцию активного избегания**

Экспериментальные исследования, представленные в данном разделе, посвящены изучению роли окислительного стресса в патогенезе ишемических нарушений деятельности мозга у животных с разным латеральным профилем. Для реализации поставленных задач сопоставляли интенсивность отдельных звеньев свободнорадикальных процессов в коре и стволовых структурах левой и правой половины мозга лево- и праволатеральных крыс с целью выявления условий, при которых в мозге может наблюдаться чрезмерная активация СРП.

Сравнивая показатели суммарной пероксидазной активности (СПА) у контрольных животных с разным латеральным профилем, обнаружили, что в правой коре больших полушарий СПА превышала тот же показатель в левой коре больших полушарий. В стволовых же структурах крыс с ПЛП и ЛЛП значения СПА не различались (табл. 26).

**Изменение показателей суммарной пероксидазной активности (е.о.п./мл)  
и ТБК-РП в мозге (нМоль/г) крыс**

Группа	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
СПА, крысы с ЛЛП				
контроль	4,50±0,11	6,01±0,12	3,25±0,09	3,40±0,12
УРАИ	3,82±0,14	5,35±0,11	3,75±0,16	4,05±0,18
СПА, крысы с ПЛП				
контроль	3,50±0,13	6,50±0,16	3,65±0,14	3,61±0,11
УРАИ	4,38±0,16*	4,90±0,20*	4,76±0,21** **	5,18±0,23** **
ТБК-РП, крысы с ЛЛП				
контроль	20,09±1,04	21,02±0,94	25,45±1,67	28,40±1,21
УРАИ	25,28±1,06*	29,81±1,82*	37,53±1,34 *	43,35±2,03*
ТБК-РП, крысы с ПЛП				
контроль	26,33±1,20	26,22±0,89	24,32±1,15	27,49±1,43
УРАИ	38,77±1,65** **	32,79±1,64*	35,37±2,01 *	40,78±1,95*

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от контроля; \*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей у животных с ПЛП от крыс с ЛЛП.

После выработки условной реакции активного избегания у животных с леволатеральным профилем показатели СПА в структурах мозга не изменились относительно контроля. У крыс с ПЛП были обнаружены следующие изменения: в левой коре больших полушарий СПА была повышена, в правой коре больших полушарий, напротив, снижена. В стволовых структурах обнаружено повышение СПА.

Сравнительный анализ показателей СПА после выработки УРАИ показал, что у животных с праволатеральным профилем эти значения значительно превышали СПА крыс с ЛЛП в стволовых структурах.

При изучении показателей содержания ТБК-реактивных продуктов до и после выработки УРАИ были получены следующие результаты (табл. 26). В контрольной группе крыс с ЛЛП выявлены отличия в содержании ТБК-РП в

коре больших полушарий по сравнению с крысами с праволатеральным профилем. В стволовых структурах значения ТБК-РП достоверно не различались.

После выработки УРАИ у животных с ЛЛП значительно было повышено содержание ТБК-РП в коре больших полушарий, а также в левых стволовых структурах по сравнению с контрольными значениями животных с леволатеральным профилем.

У животных с праволатеральным профилем после выработки УРАИ обнаружено более значительное повышение уровня ТБК-реактивных продуктов в левой коре больших полушарий, и не столь выраженное изменение ТБК-РП в правой коре больших полушарий относительно контроля. Вероятно, при выработке УРАИ происходит интенсификация метаболических процессов в недоминирующей полушарии. Как результат, у и крыс с ПЛП и ЛЛП произошло снижение уровня латерализации полушарий ( $0,05 < p < 0,1$ ).

В левых и правых стволовых структурах мозга крыс с ПЛП после выработки УРАИ было повышено содержание ТБК-РП. Кроме того, во 2-й группе содержание ТБК-РП в левой коре больших полушарий было выше у крыс с ПЛП относительно животных с леволатеральным профилем.

После выработки УРАИ у крыс с ЛЛП было обнаружено возрастание высоты быстрой вспышки в коре больших полушарий. Увеличение же светосуммы обнаружено не только в коре больших полушарий, но и правых стволовых структурах (табл. 27).

Таким образом, выработка УРАИ у животных с ЛЛП способствовала интенсификации свободнорадикальных процессов преимущественно в коре больших полушарий. Достоверных отличий между этими значениями у контрольных животных с разным латеральным профилем не обнаружено.

У животных с праволатеральным профилем после выработки УРАИ наблюдали увеличение высоты быстрой вспышки в коре больших полушарий.

**Показатели хемилюминесценции в мозге крыс до и после выработки условной реакции активного избегания (УРАИ), ( $M \pm m$ )**

Группа	$H$ , мм	$Sm$ , кол-во импульсов $\times 10^4$
Крысы с ЛЛП, правая кора больших полушарий		
контроль	69,70 $\pm$ 3,25	67,43 $\pm$ 3,68
УРАИ	107,55 $\pm$ 7,03 *	253,78 $\pm$ 9,63 *
Крысы с ЛЛП, левая кора больших полушарий		
контроль	66,38 $\pm$ 2,27	68,78 $\pm$ 2,32
УРАИ	97,53 $\pm$ 4,97 *	221,38 $\pm$ 10,06 *
Крысы с ЛЛП, правые стволовые структуры		
контроль	65,73 $\pm$ 1,88	67,31 $\pm$ 2,19
УРАИ	75,49 $\pm$ 2,64	145,34 $\pm$ 5,40 *
Крысы с ЛЛП, левые стволовые структуры		
контроль	69,35 $\pm$ 2,18	71,35 $\pm$ 3,56
УРАИ	72,34 $\pm$ 2,76	70,55 $\pm$ 2,33
Крысы с ПЛП, правая кора больших полушарий		
контроль	72,89 $\pm$ 2,95	72,32 $\pm$ 3,18
УРАИ	98,35 $\pm$ 3,83 *	232,55 $\pm$ 10,66 *
Крысы с ПЛП, левая кора больших полушарий		
контроль	62,31 $\pm$ 2,97	74,37 $\pm$ 3,38
УРАИ	85,30 $\pm$ 4,50 *	185,46 $\pm$ 6,26 *
Крысы с ПЛП, правые стволовые структуры		
контроль	72,31 $\pm$ 2,08	74,52 $\pm$ 3,59
УРАИ	74,39 $\pm$ 3,68	163,70 $\pm$ 7,42 *
Крысы с ПЛП, левые стволовые структуры		
контроль	75,71 $\pm$ 2,30	78,59 $\pm$ 3,06
УРАИ	76,54 $\pm$ 3,72	89,53 $\pm$ 4,36

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от уровня контроля.

ПСА – правая сонная артерий; ЛСА – левая сонная артерия

Повышение светосуммы обнаружено в коре больших полушарий и правых стволовых структурах. Таким образом, у животных с праволатеральным профилем произошло менее выраженное накопление липоперекисей и количества свободных радикалов в структурах мозга после выработки УРАИ.

В модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» у животных с леволатеральным профилем наблюдали более значительные сдвиги показателей свободнорадикальных процессов по сравнению с праволатеральными (табл. 28).

Таблица 28

**Изменение показателей суммарной пероксидазной активности (СПА, е.о.п./мл) и ТБК-РП (нМоль/г) в мозге крыс в модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА**

Показатель	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
Животные с ЛЛП				
СПА	2,33±0,11*	3,23±0,13*	3,38±0,16	2,00±0,09*
ТБК-РП	34,84±1,76*	27,03±1,02*	39,13±1,43*	30,62±1,87
Животные с ПЛП				
СПА	1,15±0,03* **	2,80±0,11*	5,55±0,21* **	1,55±0,05* **
ТБК-РП	66,43±3,12*	64,31±3,26*	34,09±1,26*	29,54±1,61

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от уровня контроля; \*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от показателей животных с леволатеральным профилем.

ПСА – правая сонная артерий; ЛСА – левая сонная артерия

Так, у крыс с ЛЛП в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» отмечено достоверное снижение СПА в коре больших полушарий и правых стволовых структурах относительно контрольной группы, а также по сравнению с группой в модели «УРАИ». У животных с ПЛП в коре больших полушарий и правых стволовых структурах также выявлено снижение СПА, тогда как в левых стволовых структурах, напротив, увеличился относительно контрольных значений.

По сравнению с группой крыс, которым вырабатывали УРАИ в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» у крыс с ПЛП значение СПА изменилось следующим образом: снизилось в коре больших полушарий и правых стволовых структурах.

При сравнении показателей животных в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» показано, что у крыс с праволатеральным профилем СПА была ниже в левой коре больших полушарий и в правых стволовых структурах, а в левых стволовых структурах, напротив, выше по сравнению с животными с ЛЛП этой же группы. У крыс с ЛЛП в коре больших полушарий и левых стволовых структурах уровень ТБК-РП был выше контроля, а в правых стволовых структурах - снижен.

У животных с ЛЛП возрастание уровня ТБК-РП наблюдали в коре больших полушарий и левых стволовых структурах по сравнению с контролем. По сравнению с группой в модели «УРАИ» у животных в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» с ЛЛП содержание ТБК-РП в коре больших полушарий был выше контроля, а также в правых стволовых структурах - ниже.

Таким образом, 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА способствовали интенсификации свободнорадикальных процессов преимущественно в коре больших полушарий, особенно у животных с праволатеральным профилем.

Также установлено, что в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» у крыс с праволатеральным профилем содержание ТБК-РП достоверно превышало этот же показатель в коре больших полушарий по сравнению с животными с ЛЛП.

При сравнении показателей хемилюминесценции групп животных с ЛЛП было выявлено, что после ОСА происходило более выраженное накопление липоперекисей и количества свободных радикалов во всех исследуемых образцах относительно крыс в модели «УРАИ».

При этом на фоне более выраженного накопления свободных радикалов и липоперекисей в левой половине мозга (со стороны 3-минутной окклюзии с последующей 24-часовой реперфузией) (табл. 29) здесь же обнаружено и более значительное увеличение содержания ТБК-РП.

**Показатели хемилюминесценции в мозге крыс в модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА ( $M \pm m$ )**

Группа	$h$ , мм	$Sm$ , кол-во импульсов $\times 10^4$
Крысы с ЛЛП	Правая кора больших полушарий	
	159,35 $\pm$ 7,43 * **	607,31 $\pm$ 18,68 * **
	Левая кора больших полушарий	
	164,77 $\pm$ 4,39 * **	653,44 $\pm$ 23,67 * **
	Правые стволовые структуры	
	148,53 $\pm$ 5,12 * **	563,51 $\pm$ 17,62 * **
	Левые стволовые структуры	
	179,44 $\pm$ 6,74 * **	538,51 $\pm$ 16,51 * **
Крысы с ПЛП	Правая кора больших полушарий	
	131,77 $\pm$ 5,42 * **	597,72 $\pm$ 21,28 * **
	Левая кора больших полушарий	
	115,85 $\pm$ 5,89 * **	505,72 $\pm$ 16,37 * **
	Правые стволовые структуры	
	131,72 $\pm$ 6,15 * **	490,72 $\pm$ 19,63 * **
	Левые стволовые структуры	
	123,40 $\pm$ 4,78 * **	497,84 $\pm$ 18,53 * **

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от уровня контроля; \*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) 3-й группы относительно 2-й группы; ПСА – правая сонная артерий; ЛСА – левая сонная артерия.

У крыс с ПЛП обнаружено не столь выраженное накопление липоперекисей и количества свободных радикалов по сравнению с животными с ЛЛП. У животных в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» также обнаружены изменения показателей хемилюминесценции по отношению ко 2-й, особенно в стволовых структурах.

В модели «3-минутной окклюзии ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовой окклюзии ПСА», так же как и в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА», обнаружены выраженные нарушения в протекании СРП в мозге животных. При этом относительно контроля изменения показателей СПА и содержания ТБК-РП были не столь значительными, как в 3-й группе (табл. 30).

**Изменение содержания суммарной пероксидазной активности (е.о.п./мл) и ТБК-РП (нМоль/г) в мозге крыс в модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА**

Показатель	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
<b>Животные с ЛЛП</b>				
СПА	1,98±0,04* **	2,23±0,10* **	3,38±0,14	3,83±0,21
ТБК-РП	29,31±1,46*	36,07±2,12* **	33,07±1,47*	48,43±2,32*
<b>Животные с ПЛП</b>				
СПА	2,00±0,06* **	3,25±0,12* ** * **	2,70±0,12*, **, ***	2,25±0,09* ** * **
ТБК-РП	36,31±1,76* ** *	46,07±2,51*, **, ***	33,07±1,23*	48,43±2,27*, **

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от уровня контроля; \*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) 3-й группы относительно 2-й группы; \*\*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) от показателей животных с леволатеральным профилем; ПСА – правая сонная артерий; ЛСА – левая сонная артерия.

При сравнении с группой животных в модели «УРАИ» при моделировании 3-минутной окклюзии ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовой окклюзии ПСА у животных с ЛЛП обнаружено снижение СПА только в коре больших полушарий, а у крыс с ПЛП – во всех исследованных структурах мозга. Также обнаружено, что в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» у животных с ПЛП в правой коре больших полушарий СПА выше, а в стволовых структурах – ниже относительно крыс с ЛЛП.

У животных с ЛЛП содержание ТБК-реактивных продуктов в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» по сравнению с крысами в модели «УРАИ» было выше только в правой коре больших полушарий. У животных 4-й группы с ПЛП возрос уровень ТБК-РП относительно контрольных значений во всех

структурах мозга. Относительно группы животных с ПЛП в модели «УРАИ» повышение содержания ТБК-РП произошло только в правой половине мозга.

Достоверные отличия между животными с разным латеральным профилем в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» обнаружены лишь в коре больших полушарий: более интенсивное накопление ТБК-реактивных продуктов выявлено у крыс с ПЛП. Таким образом, 24-часовая окклюзия со стороны доминирующего полушария (в данном случае у животных с праволатеральным профилем) оказывает более негативное влияние на показатели свободнорадикальных процессов.

Также показано возрастание показателей хемилюминесценции в структурах мозга животных с ЛЛП в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» относительно контроля (табл. 31).

При этом в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» накопление липоперекисей и количества свободных радикалов было значительно выше по сравнению с группой в модели «УРАИ». Также установлено, что в модели «3-минутная окклюзия ЛСА с последующей реперфузией и 24-часовая окклюзия ПСА» показатели хемилюминесценции у крыс с ПЛП были выше по сравнению с леволатеральными.

Таким образом, одновременно с нарушением сохранности выработанного УРАИ после ОСА обнаружена значительная интенсификация свободнорадикальных процессов в структурах мозга экспериментальных животных.

Животные с леволатеральным профилем обладают более высокой устойчивостью к стрессу, в том числе к нарушению мозгового кровотока, о чем свидетельствуют данные влияния окклюзии сонных артерий на выживаемость, сохранность выработанных условно-рефлекторных реакций.

Из выше приведенных результатов исследования можно заключить, что одними из важнейших нейрохимических субстратов функциональной межполушарной асимметрии являются показатели свободнорадикального окисления, которые могут рассматриваться как посредники, реализующие защитные потенции асимметрично организованных центров регуляции в конкретных компенсаторно-адаптационных механизмах.

Таблица 31

**Показатели хемилюминесценции в мозге крыс с разным латеральным профилем ( $M \pm m$ )**

Группа	$h$ , мм	$Sm$ , кол-во импульсов $\times 10^4$
Крысы с ЛЛП	Правая кора больших полушарий	
	128,72 $\pm$ 5,77 * **	553,76 $\pm$ 12,24 * **
	Левая кора больших полушарий	
	138,73 $\pm$ 7,51 * **	547,71 $\pm$ 19,26 * **
	Правые стволовые структуры	
	125,34 $\pm$ 4,74 * **	507,53 $\pm$ 17,82 * **
	Левые стволовые структуры	
	155,71 $\pm$ 5,38 * **	483,46 $\pm$ 14,39 * **
Крысы с ПЛП	Правая кора больших полушарий	
	157,38 $\pm$ 5,37 * ** ***	672,34 $\pm$ 22,29 * ** ***
	Левая кора больших полушарий	
	156,92 $\pm$ 6,59 * **	695,43 $\pm$ 28,26 * ** ***
	Правые стволовые структуры	
	143,59 $\pm$ 6,74 * **	605,34 $\pm$ 23,80 * ** ***
	Левые стволовые структуры	
	195,34 $\pm$ 7,32 * ** ***	632,72 $\pm$ 19,09 * ** ***

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей от уровня контроля; \*\* – достоверные (при  $p < 0,05$ ) отличия показателей 4-й группы относительно 2-й группы; \*\*\* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) относительно показателей животных с леволатеральным профилем.

Поскольку известно, что реактивность свободнорадикальных процессов в мозгу определяет, в том числе, процессы рецепторного связывания (Гусев, Скворцова, 2001; Vilenko, 2001). Кроме того, к механизмам, приводящим к формированию очагов атрофии мозга, относятся активация свободнорадикальных процессов, нарушение выработки

простагландинов, выделение избыточных количеств возбуждающих аминокислот, медиаторный дисбаланс (Викторов, 2000; Гомазков, 2003).

Поэтому далее проводили исследование нейромедиаторного баланса у 3-4-мес. крыс с разным латеральным профилем в модели ОСА.

### **3.3.4. Изменение нейромедиаторного баланса в мозге 3-4-месячных крыс с разным латеральным профилем при окклюзии сонных артерий**

Известно, что соотношение медиаторов в структурах мозга определяет устойчивость организма к стрессу, а также характер стрессорной реакции организма (Исмайлова и др., 2007).

В модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА у животных с ЛЛП обнаружены следующие изменения в содержании нейромедиаторов (табл. 32).

В правой коре больших полушарий крыс с ЛЛП снизилось содержание серотонина и увеличились соотношения НА/ДА НА/серотонин и по сравнению с контрольной группой. Таким образом, в коре правых больших полушарий произошло смещение баланса нейромедиаторов в сторону активации норадренергической системы. Вероятно, снижение уровня серотонина происходило за счет увеличения активности MAO-A относительно контроля (табл. 33-34).

В правых стволовых структурах наблюдали истощение медиаторов в условиях резкого возрастания активности моноаминоксидазы типа А (+221%) (табл. 34). При этом отмечали некоторое смещение баланса медиаторов в сторону большей активности серотонинергической системы: соотношение НА/серотонин было ниже уровня контроля ( $0,1 < p < 0,05$ ).

В правой коре больших полушарий крыс с ЛЛП снизилось содержание серотонина и увеличились соотношения НА/ДА НА/серотонин и по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, в коре правых больших полушарий произошло смещение баланса нейромедиаторов в сторону активации

норадренергической системы. Вероятно, снижение уровня серотонина происходило за счет увеличения активности МАО-А относительно контроля (табл. 34).

Таблица 32

**Содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина в мозге крыс при окклюзии сонных артерий ( $M \pm m$ )**

Группа	Исследуемые структуры	Содержание моноаминов в мозге (мкг/г)		
		НА	ДА	серотонин
Контроль	Правая кора больших полушарий	0,54±0,02	1,19±0,05	0,49±0,02
	Левая кора больших полушарий	0,19±0,01	0,74±0,03	0,54±0,01
	Правые стволовые структуры	0,61±0,02	1,26±0,04	0,76±0,03
	Левые стволовые структуры	0,26±0,01	1,11±0,06	0,37±0,01
3-минутная окклюзия ПСА + 24-часовая окклюзия ЛСА	Правая кора больших полушарий	0,61±0,04	1,09±0,04	0,37±0,01*
	Левая кора больших полушарий	0,41±0,02*	0,73±0,02*	0,28±0,007*
	Правые стволовые структуры	0,20±0,01*	0,35±0,004*	0,30±0,01*
	Левые стволовые структуры	0,20±0,009*	0,67±0,02*	0,32±0,007
3-минутная окклюзия ЛСА + 24-часовая окклюзия ПСА	Правая кора больших полушарий	0,60±0,02	0,87±0,04*	0,44±0,02
	Левая кора больших полушарий	0,57±0,003*	0,38±0,02*	0,49±0,025
	Правые стволовые структуры	0,24±0,01*	0,64±0,03*	0,41±0,021*
	Левые стволовые структуры	0,19±0,004*	0,28±0,01*	0,37±0,012

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей относительно животных контрольной группы; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

**Изменение соотношений НА/ДА и НА/серотонин в мозге крыс при  
окклюзии сонных артерий ( $M \pm m$ )**

Группа	Исследуемые структуры	Соотношение аминов в мозге	
		НА/ДА	НА/серотонин
Контроль	Правая кора больших полушарий	0,45±0,021	1,10±0,06
	Левая кора больших полушарий	0,26±0,01	0,35±0,02
	Правые стволовые структуры	0,48±0,016	0,80±0,03
	Левые стволовые структуры	0,23±0,013	0,70±0,032
3-минутная окклюзия ПСА + 24-часовая окклюзия ЛСА	Правая кора больших полушарий	0,56±0,02*	1,65±0,07*
	Левая кора больших полушарий	0,58±0,03*	1,46±0,09*
	Правые стволовые структуры	0,57±0,021*	0,67±0,03
	Левые стволовые структуры	0,30±0,01*	0,63±0,02*
3-минутная окклюзия ЛСА + 24-часовая окклюзия ПСА	Правая кора больших полушарий	0,69±0,03*	1,36±0,06
	Левая кора больших полушарий	1,50±0,05*	1,16±0,04*
	Правые стволовые структуры	0,38±0,01*	0,58±0,02*
	Левые стволовые структуры	0,68±0,03*	0,51±0,023*

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей по сравнению с животными контрольной группы; НА/ДА – соотношение норадреналин/дофамин; НА/серотонин – соотношение норадреналин/серотонин; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

В правых стволовых структурах наблюдали истощение медиаторов в условиях резкого возрастания активности моноаминоксидазы типа А (на 221%) (табл. 34). При этом отмечали некоторое смещение баланса медиаторов в сторону большей активности серотонинергической системы: соотношение НА/серотонин было ниже уровня контроля ( $0,1 < p < 0,05$ ).

Со стороны 24-часовой окклюзии ЛСА у животных с ЛЛП отмечали более выраженные изменения в балансе медиаторов. В левой коре больших

полушарий резкое возрастание уровня норадреналина происходило одновременно со значительным снижением содержания серотонина.

Таблица 34

**Активность моноаминоксидазы-А (МАО-А) в мозге крыс при окклюзии сонных артерий ( $M \pm m$ )**

Исследованные структуры	Активность МАО-А в мозге (пмоль/мин./мг белка)		
	контроль	3-мин. окклюзия ПСА и 24-час. окклюзия ЛСА	3-мин. окклюзия ЛСА и 24-час. окклюзия ПСА
Правая кора больших полушарий	0,97±0,02	1,30±0,04*	0,86±0,03
Левая кора больших полушарий	0,72±0,03	1,05±0,02*	1,36±0,08*
Правые стволовые структуры	0,45±0,01	1,45±0,06*	0,93±0,04*
Левые стволовые структуры	1,07±0,04	1,13±0,05	0,98±0,02

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей по сравнению с животными контрольной группы; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

В результате смещение баланса нейромедиаторов было направлено в сторону активации норадренергической системы: повысились соотношения НА/ДА и НА/серотонин. Изменения уровней медиаторов в коре левых больших полушарий сопровождались возрастанием активности МАО-А по сравнению с контрольным значением (табл. 34).

В левых стволовых структурах, как и в правых, происходило истощение медиаторов, хотя активность МАО-А не изменилась относительно контроля. Это можно объяснить наличием более выраженных компенсаторных механизмов в левых стволовых структурах по сравнению с правыми у животных с ЛПП. В результате снижение уровней медиаторов в левых стволовых структурах (по сравнению с правыми) было менее значимым. Кроме того, в ЛСС произошло повышение соотношения НА/ДА. Таким

образом, значительного смещения баланса нейромедиаторов в левых стволовых структурах данной группы животных не происходило.

В модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА в правой коре больших полушарий крыс с ЛЛП обнаружено значительное снижение уровня дофамина относительно контроля (табл. 32). При этом изменения в активности МАО-А не происходило (табл. 34), что может объяснить отсутствие достоверных отклонений в содержании норадреналина и серотонина. В результате наблюдали смещение баланса нейромедиаторов в сторону активации норадренергической системы: повысились соотношения НА/ДА и НА/серотонин относительно контроля (табл. 33).

В правых стволовых структурах молодых крыс с ЛЛП в модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА в условиях резкого повышения активности моноаминоксидазы А обнаружено и истощение исследованных медиаторов, а баланс медиаторов сместился в сторону преобладания дофаминергической системы.

В коре левых больших полушарий на фоне увеличения активности МАО-А отмечали значительное возрастание содержания норадреналина, сопровождаемое снижением уровня дофамина. Поэтому, как и в коре правых больших полушарий, происходило значительное смещение баланса медиаторов в сторону большей активности норадренергической системы.

В то же время в левых стволовых структурах обнаружено истощение только норадреналина и дофамина относительно контроля. В связи с этим баланс нейромедиаторов в левых стволовых структурах в данной модели сместился в сторону серотонинергической системы.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что более высокий уровень выживаемости крыс с ЛЛП при 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА наблюдается в результате следующих причин. Во-первых, в стволовых структурах животных в модели 3-мин. окклюзии ЛСА и 24-час. окклюзии ПСА происходило не столь значительное смещение баланса нейромедиаторов в сторону активации серотонинергической системы, как у

животных другой группы. В правых стволовых структурах молодых крыс в модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА отмечали повышенную активность дофаминергической (стресс-лимитирующей) системы относительно других медиаторных систем. В-третьих, в коре больших полушарий мозга молодых животных при 3-мин. окклюзии ПСА и 24-час. окклюзии ЛСА на фоне относительного преобладания норадренергической медиации снижалась активация серотонинергической системы, что может отражать снижение компенсаторных механизмов по увеличению артериального давления в сосудах коры больших полушарий в условиях окклюзии сонных артерий животных данной группы.

Анализ полученных результатов показал, что баланс нейромедиаторов в условиях окклюзии сонных артерий у 3-4-месячных крыс с ЛЛП смещается преимущественно в сторону преобладания норадренергической системы. Это может быть принципиальным фактором, определяющим особенность адаптационной стратегии животных с леволатеральным профилем в условиях нарушения мозгового кровообращения.

У животных с праволатеральным профилем в обеих моделях окклюзии сонных артерий снижение уровней медиаторов в исследованных структурах мозга (табл. 35). Особое внимание обращают на себя следующие факты: при 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА у крыс с ПЛП наибольшее снижение содержания норадреналина выявлено в структурах левой половины мозга, а дофамина и серотонина в большей степени – в стволовых структурах.

В результате в данной модели эксперимента в коре больших полушарий животных наблюдали смещение медиаторного баланса в сторону преобладания дофамина, который при интенсификации свободнорадикальных процессов может проявлять цитотоксические свойства (Stokes et al., 1999; Asanuma et al., 2003; Miyazaki et al., 2009, 2011). В стволовых структурах происходило смещение медиаторного баланса в сторону активации норадренергической системы (табл. 36).

**Содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина в мозге крыс с праволатеральным профилем при окклюзии сонных артерий**

**( $M \pm m$ )**

Группа	Исследуемые структуры	Содержание моноаминов в мозге (мкг/г)		
		НА	ДА	серотонин
Контроль	Правая кора больших полушарий	0,51±0,02	1,08±0,04	0,42±0,02
	Левая кора больших полушарий	0,23±0,01	0,69±0,02	0,49±0,01
	Правые стволые структуры	0,56±0,02	1,16±0,03	0,69±0,03
	Левые стволые структуры	0,29±0,01	1,03±0,05	0,41±0,02
3-минутная окклюзия ПСА + 24- часовая окклюзия ЛСА	Правая кора больших полушарий	0,21±0,04*	0,69±0,03*	0,32±0,01*
	Левая кора больших полушарий	0,11±0,02*	0,43±0,02*	0,28±0,007*
	Правые стволые структуры	0,20±0,01*	0,35±0,004*	0,30±0,01*
	Левые стволые структуры	0,12±0,005*	0,37±0,02*	0,22±0,007*
3-минутная окклюзия ЛСА + 24- часовая окклюзия ПСА	Правая кора больших полушарий	0,22±0,01*	0,37±0,01*	0,31±0,01*
	Левая кора больших полушарий	0,17±0,004*	0,38±0,02*	0,29±0,01*
	Правые стволые структуры	0,19±0,008*	0,44±0,02*	0,31±0,01*
	Левые стволые структуры	0,21±0,005*	0,38±0,01*	0,35±0,009*

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей по сравнению с животными контрольной группы; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

Данные изменения содержания нейромедиаторов установлены на фоне значительного возрастания активности MAO-A в структурах мозга крыс (табл. 37).

**Изменение соотношений НА/ДА и НА/серотонин в мозге крыс с  
праволатеральным профилем при окклюзии сонных артерий ( $M \pm m$ )**

Группа	Исследуемые структуры	Соотношение аминов в мозге	
		НА/ДА	НА/серотонин
Контроль	Правая кора больших полушарий	0,47±0,02	1,21±0,06
	Левая кора больших полушарий	0,33±0,01	0,47±0,02
	Правые стволовые структуры	0,48±0,02	0,81±0,03
	Левые стволовые структуры	0,28±0,009	0,70±0,02
3-минутная окклюзия ПСА + 24-часовая окклюзия ЛСА	Правая кора больших полушарий	0,30±0,01*	0,65±0,03*
	Левая кора больших полушарий	0,25±0,008*	0,39±0,02*
	Правые стволовые структуры	0,57±0,02*	0,67±0,01*
	Левые стволовые структуры	0,25±0,007	0,54±0,02*
3-минутная окклюзия ЛСА + 24-часовая окклюзия ПСА	Правая кора больших полушарий	0,59±0,009*	0,71±0,03*
	Левая кора больших полушарий	0,45±0,02*	0,59±0,02*
	Правые стволовые структуры	0,43±0,01	0,61±0,03*
	Левые стволовые структуры	0,55±0,02*	0,60±0,01*

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей по сравнению с животными контрольной группы; НА/ДА – соотношение норадреналин/дофамин; НА/серотонин – соотношение норадреналин/серотонин; ПСА – правая сонная артерия; ЛСА – левая сонная артерия.

В модели 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА у крыс с ПЛП установлено значительное снижение уровня норадреналина, особенно, в структурах правой половины мозга. Содержание дофамина и серотонина также было достоверно ниже контрольного уровня. При этом следует обратить внимание на снижение асимметрии в распределении данных медиаторов в структурах мозга.

Как ранее было указано, у крыс после моделирования ОСА проявляются амбилатеральные признаки в локомоторном поведении, особенно, у крыс с ПЛП в модели 3-минутной окклюзии ЛСА + 24-часовой окклюзии ПСА.

**Активность моноаминоксидазы-А (МАО-А) в мозге крыс с  
праволатеральным профилем при окклюзии сонных артерий ( $M \pm m$ )**

Исследованные структуры	Активность МАО-А в мозге (пмоль/мин./мг белка)		
	контроль	3-минутная окклюзия ПСА + 24-часовая окклюзия ЛСА	3-минутная окклюзия ЛСА + 24-часовая окклюзия ПСА
Правая кора больших полушарий	0,77±0,02	1,75±0,06*	2,38±0,09*
Левая кора больших полушарий	0,42±0,03	1,53±0,07*	1,62±0,05*
Правые стволовые структуры	0,34±0,01	1,98±0,08*	2,23±0,10*
Левые стволовые структуры	0,86±0,04	1,59±0,04	1,65±0,06*

**Примечание:** \* – достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) показателей относительно животных контрольной группы.

Также показано, что изменение соотношений медиаторов в данной модели стресса свидетельствует о смещении медиаторного баланса во всех структурах мозга в сторону активации серотонинергической системы (табл. 30).

Вероятно, одним из механизмов, лежащих в основе столь значительного снижения уровней медиаторов при 3-минутной окклюзии ЛСА + 24-часовой окклюзии ПСА у крыс с ПЛП, является повышение активности МАО-А, особенно в структурах правой половины мозга животных, где наблюдали и более выраженное снижение уровня норадреналина.

Эти изменения происходят на фоне повышения уровня апоптотических процессов в мозге крыс (рис. 23).

Таким образом, исходя из полученных результатов исследования эффектов фокальной ишемии (окклюзии средней мозговой артерии) и гипоксических/ишемических повреждений мозга (двусторонней окклюзии сонных артерий) можно сделать следующие заключения.

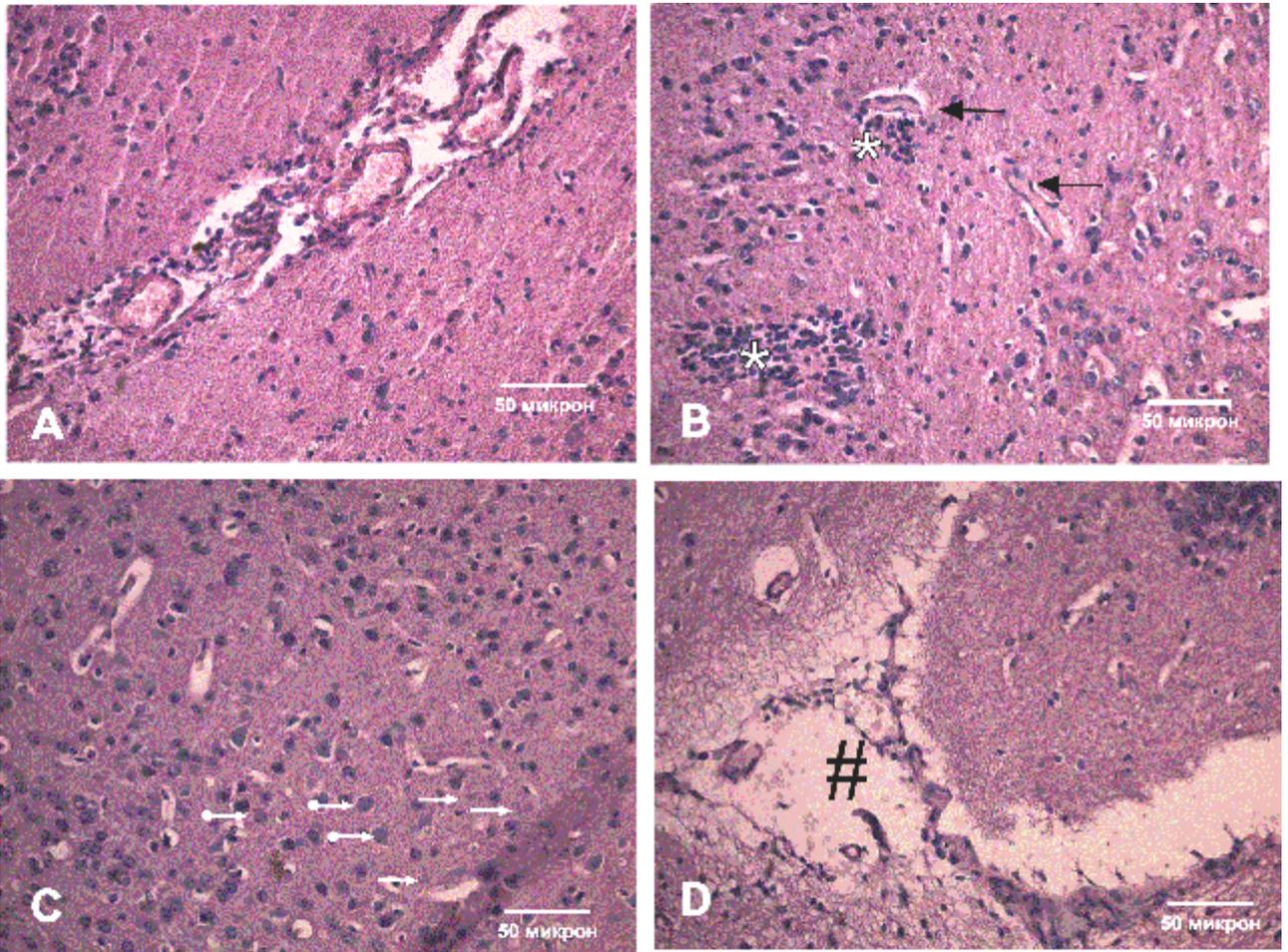


Рис.23. А: Фронтальный срез коры больших полушарий крыс через 24 часа после проведения ложной операции. В: Фронтальный срез коры больших полушарий крыс через 24 часа после двухсторонней окклюзии сонных артерий (со стороны 24-часового лигирования сонной артерии). Очаги глиальной инфильтрации (звездочки). Сосуды мозга (черные стрелки), периваскулярное пространство расширено, сосуды заполнены плазмой. С: Через 24 часа после окклюзии в пирамидном слое коры больших полушарий (со стороны 24-часового лигирования сонной артерии) наблюдается значительное количество измененных гиперхромных пирамидных нейронов (стрелки с основанием). Часть нейронов погибла, можно видеть «клетки-тени» (стрелки без основания). D: Отек гиппокампа (решетка).

Гипоксия/ишемия мозга является фактором, способствующим снижению моторной асимметрии животных, что проявляется в снижении резистентности организма к стрессовому воздействию. При окклюзии средней мозговой артерии роль моторной асимметрии минимальна: показатели выживаемости, неврологического статуса, а также объемов

инфарктов мозга у крыс с право- и леволатеральным профилем различаются незначительно.

В условиях окклюзии сонных артерий выживаемость 3-4- и 18-месячных крыс ниже, чем при острой гипоксической гипоксии. При ОСА в мозге происходит интенсификация апоптотических процессов, но некроз ткани мозга не обнаружен. Вероятно, это является причиной того, что у крыс с разным латеральным профилем в модели ОСА сохраняется латерализация функциональных систем. В результате крысы с леволатеральным профилем относительно животных с праволатеральным профилем более устойчивы к окклюзии сонных артерий вне зависимости от варианта двусторонней ОСА: 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА либо 3-минутная окклюзия ЛСА и 24-часовая окклюзия ПСА. Тем не менее, хроническое лигирование сонной артерии со стороны доминирующего полушария является фактором более высокой интенсивности относительно 24-часовой окклюзии со стороны ипсилатерального полушария у крыс с разным латеральным профилем.

Также установлены особенности поведенческого реагирования и ответа нейрохимических систем на ОСА в этих вариантах постановки эксперимента. У крыс с леволатеральным профилем лучше происходит выработка условной реакции активного избегания и сохраняются приобретенные навыки после ОСА относительно животных с праволатеральным профилем.

Одним из нейрохимических критериев успешности обучения крыс в модели УРАИ является активация свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий. Тогда как в основе резистентности мозга к ОСА лежат процессы, определяющие специфические изменения нейромедиаторного баланса не только в коре больших полушарий, но и стволовых структурах мозга крыс с разным латеральным профилем.

В настоящее время актуальным является изучение механизмов, лежащих в основе действия различных препаратов, повышающих

резистентность организма к стрессу. Одной из групп таких препаратов являются пептидные препараты, обладающие широким спектром действия.

В следующей главе представлены результаты исследования действия трех пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельтарана) на поведенческие и нейрохимические показатели крыс разного возраста.

## **ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОБУЧЕНИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ИШЕМИИ/ГИПОКСИИ МОЗГА**

### **4.1. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к пренатальному стрессу**

В настоящее время для разработки эффективных подходов к профилактике и терапии гипоксически-ишемических поражений мозга плода используют экспериментальные модели перинатальной церебральной ишемии, которые воспроизводят патологические процессы в ткани мозга животных, аналогичные таковым у человека (Володин и др., 2009; Михуткина и др., 2010). В экспериментальных моделях пренатальной гипоксии/ишемии у животных выявлено отставание в физиологическом развитии и формировании двигательных реакций, а также снижение способности к обучению (Yang et al., 2011; Kumral et al., 2004).

В последнее время в терапевтическую практику активно внедряют препараты пептидной природы, оказывающие нейропротективное действие, которые до сих пор использовали в основном в геронтологической практике для фармакотерапии нейродегенеративных, цереброваскулярных и других заболеваний ЦНС (Громова, 2007; Taylor et al., 1999). Это связано с обнаруженными сходными механизмами развития патологического состояния мозга на ранних этапах онтогенеза и в процессе старения организма (Болдырев и др., 2010).

Тем не менее, существует и ряд особенностей развития нейродегенеративных процессов на разных этапах онтогенеза. Известно, что в ходе раннего онтогенеза головной мозг млекопитающих в результате необходимого для его нормального развития апоптоза теряет большое количество избыточных клеток.

Кроме того, в последнее время изменение каспазной активности при гипоксии/ишемии мозга рассматривают с точки зрения не только нейродегенерации, но и пластических процессов (Rossiter et al., 2002).

В данном разделе описаны результаты исследования влияния гипоксии у белых беспородных крыс на последующее развитие их потомства, а также пептидной коррекции вызванных пренатальной гипоксией нарушений.

Как ранее было показано, наиболее высокий процент мертворожденных крыс (20%) выявлен в группе крыс, подвергнутых пренатальной гипоксической гипоксии в течение предплодного и плодного периодов с 13-х по 20-е сутки беременности (табл. 38). В связи с этим исследовали эффекты пептидных препаратов в данной модели пренатального стресса.

Таблица 38

**Показатель смертности 21-дневных крыс в модели введения пептидных препаратов и пренатального стресса**

Группы	Процент мертворожденных крыс, %
Контроль (n=40)	-
Гипоксическая Гипоксия с 13 по 20 день бер.+физ. р-р (n=40)	20
Гипоксическая Гипоксия с 13 по 20 день бер., предплодный и плодный периоды + Пинеалон (n=40)	6
Гипоксическая Гипоксия с 13 по 20 день бер., предплодный и плодный периоды+ Кортексин (n=48)	12,5
Гипоксическая Гипоксия с 13 по 20 день бер., предплодный и плодный периоды+ Дельтаран (n=50)	4

Согласно полученным результатам наиболее выраженный эффект на показатель выживаемости оказали дельтаран (96%) и пинеалон (94%). Тем не менее, процент гибели крыс после пренатального стресса был ниже и в группе животных, которым вводили кортексин (табл. 38).

При анализе когнитивной функции в водном лабиринте Морриса показано, что к 3-му дню тестирования снижение поиска скрытой платформы происходило в контрольной группе, у животных, которые в течение пренатального периода развития получали пептидные препараты, а также в модели введения пептидных препаратов и пренатальной ГГ 13–20-й день беременности (табл. 39).

**Результаты исследования когнитивной функции крыс в водном лабиринте Морриса при воздействии гипоксической гипоксии 13–20-й день беременности и введении пептидных препаратов (сек.,  $M \pm m$ )**

Сумма четыре х попыто к	Первый день тестирования	Второй день тестирования	Третий день тестирования
Контроль			
( $n = 72$ )	38,52±4,11	21,34±2,10	18,72±1,73*
ГГ 13–20-й день беременности + физ. р-р ( $n = 7$ )			
( $n = 28$ )	109,45±15,82#	106,41±15,73#	121,88±19,02 #
Кортексин ( $n = 8$ )			
( $n = 32$ )	42,46±3,75	24,63±2,18*	19,67±0,95*
ГГ 13–20-й день беременности + кортексин ( $n = 15$ )			
( $n = 60$ )	65,39±3,38# ●	34,17±2,96* # ●	22,04±1,86* ●
Пинеалон ( $n = 8$ )			
( $n = 32$ )	38,33±5,90	23,25±4,93*	13,72±1,84* #
ГГ 13–20-й день беременности + пинеалон ( $n = 20$ )			
( $n = 80$ )	41,83±3,18 ●	32,26±1,76 # ●	14,24±1,17* ●
Дельтаран ( $n = 15$ )			
( $n = 60$ )	34,25±3,27	31,27±2,10 #	14,53±1,06*
ГГ 13–20-й день беременности + дельтаран ( $n = 15$ )			
( $n = 60$ )	46,85±3,68 ●	19,59±1,43* ●	9,44±0,67* # ●

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение времени поиска платформы относительно 1-го дня тестирования, # - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно контроля; ● - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно группы крыс в модели пренатального стресса.

Введение кортексина не влияло на латентное обучение крыс, тогда как пинеалон и дельтаран способствовали снижению времени поиска скрытой платформы на 3-й день тестирования относительно контроля.

В группах животных, которым моделировали пренатальный стресс и вводили пренатально пептидные препараты, наблюдали следующие изменения в динамике латентного обучения:

- при введении кортексина время скрытой платформы было значительно выше на 1-2-й дни тестирования относительно контроля, однако, по

сравнению с группой крыс, которым моделировали пренатальный стресс и не вводили препарат, данный показатель был достоверно ниже.

- при введении пинеалона время поиска скрытой платформы было выше на 2-й день и ниже – на 3-й день тестирования относительно контроля; по сравнению с группой животных, которым моделировали пренатальный стресс и не вводили препарат, обучение обнаружению скрытой платформы происходило значительно быстрее.

- при введении дельтарана на 1-2-е сутки тестирования время поиска скрытой платформы не отличалось, а на 3-и сутки было ниже контрольных значений. И как при введении предыдущих двух групп, по сравнению с крысами в модели пренатального стресса без введения пептида, наблюдали снижение времени поиска скрытой платформы.

По возрастанию степени эффективности на латентное обучение в моделях «пренатальное введение препаратов» и «пренатальная гипоксическая гипоксия + введение пептида» данные препараты распределяются следующим образом:

кортексин - пинеалон - дельтаран.

Далее представлены результаты сравнительного анализа эффектов пептидных препаратов на латентное обучение в лабиринте Морриса и активность и содержание каспазы-3 в структурах мозга, как нейрохимического показателя пластичности нервной системы (табл. 40-41).

При введении кортексина и пинеалона беременным самкам у 3-недельного потомства происходит снижение активности каспазы-3, тогда как введение дельтарана не приводит к изменению активности данной протеазы относительно контроля. При этом содержание каспазы-3 в структурах мозга у животных, которым пренатально вводили пептидные препараты, было повышено относительно контроля.

Снижение активности каспазы-3 в структурах мозга крыс наблюдали в моделях пренатального стресса и введения кортексина и, в меньшей степени,

- пинеалона, а при введении дельтарана (модель «пренатальный стресс + дельтаран») активность каспазы-3 остается на уровне контрольных значений.

Таблица 40

**Активность каспазы-3 в структурах мозга крыс в моделях пренатальной гипоксической гипоксии 13–20-е сутки беременности и введения пептидных препаратов ( $M \pm m$ , процент отличия от контроля, степень достоверности отличий к контролю)**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
1-я группа – контроль	2,56±0,12	3,53±0,37
ГГ 13-20 сутки беременности	3,15±0,19*, +23%, p = 0,02	4,40±0,16, +25%, p = 0,05
Кортексин	1,02±0,04* -60%; p=0,00001	1,07±0,05* -70%; p=0,00001
ГГ 13–20-й день беременности + кортексин	0,95±0,03* -63%; p=0,00001	0,89±0,04* -75%; p=0,00001
Пинеалон	1,14±0,06*, -56%, p = 0,00001	1,73±0,12*, -51%, p = 0,005
ГГ 13–20-й день беременности + пинеалон	2,08±0,12*, -19%, p = 0,009	2,55±0,14*, -28%, p = 0,02
Дельтаран	2,31±0,09	3,06±0,14
ГГ 13–20-й день беременности + дельтаран	2,78±0,12	3,69±0,13

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение активности каспазы-3 относительно контроля.

Согласно результатам исследования содержания каспазы-3 в мозге крыс в этих же моделях эксперимента показано следующее:

- при введении кортексина в модели пренатального стресса содержание каспазы-3 значительно выше как относительно контроля, так и животных, которым не вводили пептидный препарат и моделировали пренатальную гипоксическую гипоксию (но в меньшей степени).

- при введении пинеалона в модели пренатального стресса уровень данной протеазы был выше контроля, а также группы животных в модели пренатального стресса без введения пептида только в коре больших полушарий.

- при введении дельтарана содержание каспазы-3 было выше уровня данной протеазы относительно групп крыс, которым вводили кортексин и

пинеалон. В модели «пренатальный стресс + дельтаран» содержание каспазы-3 было повышено как в коре больших полушарий, так и стволовых структурах относительно контроля и группы крыс в модели пренатального введения дельтарана.

Таблица 41

**Содержание каспазы-3 в структурах мозга крыс в моделях пренатальной гипоксической гипоксии 13–20-е сутки беременности и введения пептидных препаратов ( $M \pm m$ , процент отличия от контроля, степень достоверности отличий к контролю)**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
1-я группа – контроль	11,32±0,08	13,45±0,62
ГГ 13-20 сутки беременности	14,64±0,47 +29%; p = 0,01	16,48±0,59 +23%; p = 0,05
Кортексин	15,32±0,61 +35%; p = 0,01	14,90±0,64 +11%; p = 0,09
ГГ 13–20-й день беременности + кортексин	19,96±0,85 +76%; p = 0,008	22,06±0,99 +64%; p = 0,008
Пинеалон	17,27±0,70 +52%; p = 0,01	19,43±0,92 +44%; p = 0,01
ГГ 13–20-й день беременности + пинеалон	29,56±1,31 +161%; p = 0,0001	14,68±0,65 +9%; p = 0,2
Дельтаран	21,67±0,93 +91%; p = 0,0001	25,41±0,97 +88%; p = 0,004
ГГ 13–20-й день беременности + дельтаран	27,65±1,12 +144%; p = 0,0001	28,13±1,18 +109%; p = 0,0001

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение содержания каспазы-3 относительно контроля.

Таким образом, установлено, что чем выше была эффективность препарата на латентное обучение крыс, тем более высокий уровень каспазы-3 относительно контроля выявлен в структурах мозга этих животных.

Повышение активности каспазы-3 в мозге у животных, не подвергнутых стрессовому воздействию, связывают с обучением, в основе которого лежат пластические перестройки в структурах мозга (Chan, Mattson, 1999). В нашем исследовании была установлена взаимосвязь между уровнем обученности и показателями содержания и активности каспазы-3 в мозге крыс в модели пренатального стресса. Например, при введении кортексина коэффициент

корреляции ( $r_{\text{Кортексин}}$ ) между временем поиска скрытой платформы (на 3-й день эксперимента) и активностью каспазы-3 в коре больших полушарий составил 0,57 ( $p > 0,05$ ), при введении пинеалона ( $r_{\text{Пинеалон}}$ ) – +0,86 ( $p < 0,05$ ), при введении дельтарана ( $r_{\text{Дельтаран}}$ ) – +0,91 ( $p < 0,05$ ); в стволовых структурах, соответственно,  $r_{\text{Кортексин}} = 0,47$ ;  $r_{\text{Пинеалон}} = 0,75$  ( $p < 0,05$ );  $r_{\text{Дельтаран}} = 0,84$  ( $p < 0,05$ ). Также установлены корреляционные зависимости между показателем латентного обучения и экспрессией каспазы-3 в мозге животных, которым вводили пептидные препараты: в коре больших полушарий  $r_{\text{Кортексин}} = 0,52$  ( $p > 0,05$ );  $r_{\text{Пинеалон}} = 0,77$  ( $p < 0,05$ );  $r_{\text{Дельтаран}} = 0,88$  ( $p < 0,05$ ), в стволовых структурах  $r_{\text{Кортексин}} = 0,42$  ( $p > 0,05$ );  $r_{\text{Пинеалон}} = 0,81$  ( $p < 0,05$ );  $r_{\text{Дельтаран}} = 0,92$  ( $p < 0,05$ ). Таким образом, повышение показателей активности и содержания каспазы-3 в структурах мозга животных, которым вводили пептидные препараты, соответствующее возрастанию эффективности на латентное обучение: кортексин – пинеалон – дельтаран.

Такую взаимосвязь активности/содержания активной каспазы-3 и латентного обучения при введении данных пептидов и степени их эффективности на процесс обучения можно объяснить следующим. Согласно данным литературы (Сторожева и др., 2010) начальный этап формирования долговременной памяти инициирует значимое возрастание активности апоптоза в гиппокампе. Упрочение долговременной пространственной памяти ассоциировано с достоверными изменениями показателей дифференцировки и программированной гибели вновь образованных клеток в префронтальной коре. Также показано, что введение ингибитора каспазы-3 в мозг крысят в период ее естественной активации в гиппокампе (18-й день) приводит к отдаленным нарушениям обучения реакции активного избегания. Нарушения развития поведения могут быть связаны с изменениями синаптической пластичности в раннем онтогенезе в результате временного блокирования активности фермента.

С другой стороны известно, что церебральная ишемия стимулирует процессы нейрогенеза. Однако репаративный нейрогенез в патологических

условиях обычно не достаточен для морфофункциональной регенерации и нуждается в стимуляции (Ярыгин и др., 2012). Вероятно, в уже названном ряду пептидов дельтаран наиболее эффективен в плане морфофункциональной регенерации.

Далее представлены результаты исследования влияния пренатальной гипоксии и введения пептидных препаратов на поведение крыс в тесте «открытое поле» (табл. 42). Согласно полученным результатам в модели пренатального введения кортексина у 21-дневных крыс установлено снижение времени поведенческого сна, а также вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, что, вероятно, происходило за счет снижения представленности горизонтальной локомоции (количество горизонтальных локомоций было снижено относительно контроля), тогда как вертикальных, - напротив, - увеличено. Также показано повышение времени пищевого поведения и груминга по сравнению с контрольной группой. Введение кортексина оказало влияние на питьевое поведение (рис. 24).

В модели введения кортексина и пренатальной гипоксической гипоксии также наблюдали снижение горизонтальной и вертикальной локомоторной активности и повышения доли пищевого поведения. Однако в отличие от крыс в модели введения кортексина установлено увеличение времени поведенческого сна, релаксированного бодрствования, а также снижение мелкой двигательной активности (рис. 25).

Таким образом, в норме и в условиях пренатального стресса введение кортексина одинаково влияет на вертикальную и горизонтальную локомоторную активность и пищевое поведение, но по-разному на остальные формы поведения: после перенесенного стресса введение кортексина способствует снижению времени всех форм двигательной активности и увеличивает представленность поведенческого сна и релаксированного бодрствования.

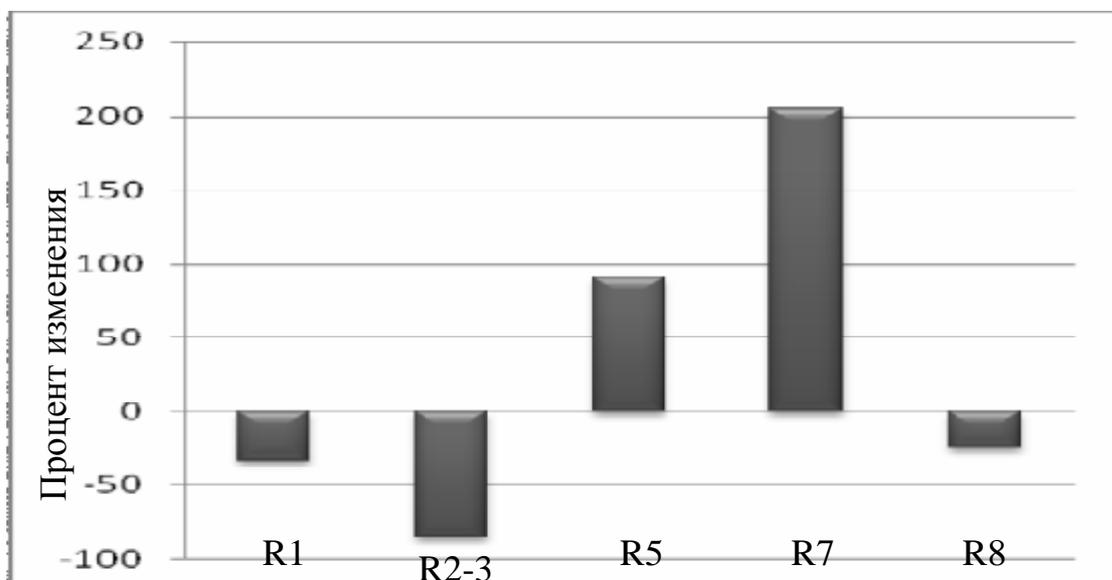


Рис. 24. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели пренатального введения кортексина относительно контроля

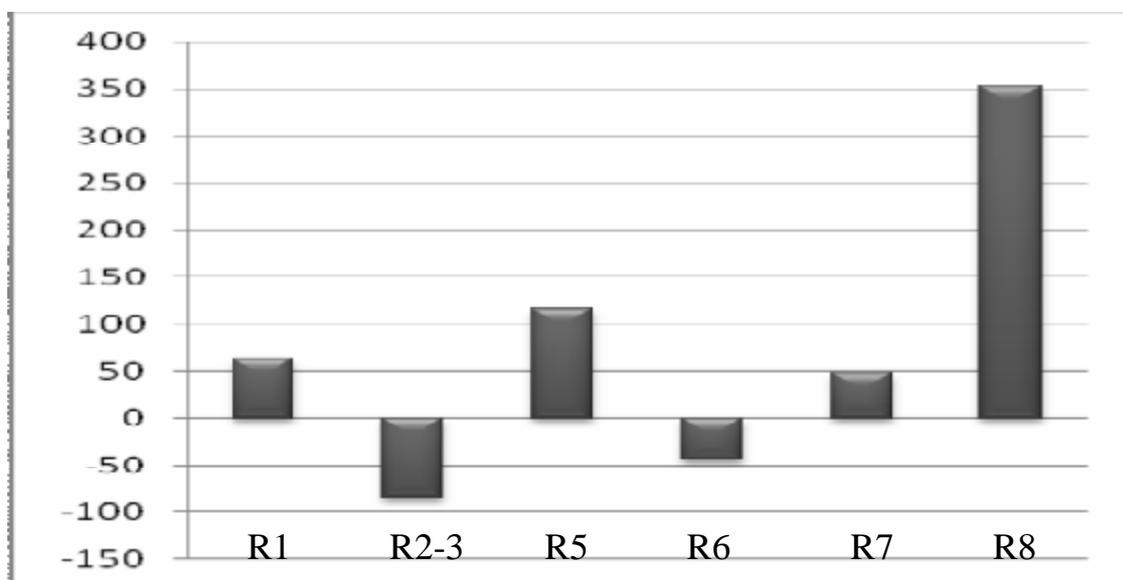


Рис. 25. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели введения кортексина и пренатальной гипоксической гипоксии относительно контроля

У крыс в модели пренатального введения пинеалона выявлено возрастание времени поведенческого сна и релаксированного бодрствования (рис. 26). Время ориентировочного и пищевого поведения, а также груминга у животных данной группы, напротив, было ниже контрольного уровня.

Таблица 42

**Изменение поведенческого континуума у 21-дневных крыс под влиянием пренатальной гипоксии 13-20 сутки пренатального развития и введения пептидных препаратов (расчет на 1 минуту,  $M \pm m$ )**

Группа	Формы поведения							
	R1, с	R2, кол-во	R3, кол-во	R4, с	R5, с	R6, с	R7, с	R8, с
		R2–R3, с						
контроль	16,01 ± 0,72	43,83±2,11	11,42±0,65	0	31,17±1,36	285,32±12,32	68,47±3,04	49,78±2,36
		109,25±4,27						
ГГ	9,98 ± 4,06	159,67±6,83	25,67±1,43	0	7,48±0,32	77,52±3,26	32,49±1,16	37,51±1,46
		435,02±21,33						
К	10,01 ± 2,31	15,33±1,47	18,32±2,11	5,01±0,36	55,83±4,91	255,45±18,53	202,52±10,33	37,54±2,95
		15,83±1,06						
К + ГГ	24,58 ± 2,67	10,25±0,96	18,03±1,25	0,83±0,07	63,33±4,17	158,33±8,76	99,17±6,41	225,48±10,72
		16,25±1,35						
П	114,56 ± 6,54	35,86±1,20	12,79±0,47	10,44±0,41	3,44±0,12	270,69±12,54	54,31±2,41	79,69±3,52
		66,87±2,54						
П + ГГ	112,51 ± 5,35	90,12±4,05	17,25±0,64	0	11,25±0,44	281,25±13,04	84,38±3,63	24,37±1,32
		86,24±3,36						
Д	53,24 ± 3,78	8,40±0,67	13,25±1,21	4,21±0,32	41,68±2,99	153,89±8,94	112,63±7,40	227,02±12,63
		7,33±0,64						
Д + ГГ	44,16 ± 2,85	4,08±0,67	17,11±1,53	3,33±0,22	47,92±3,53	172,23±8,15	126,94±7,32	201,25±9,67
		4,17±0,75						

**Примечание:** ГГ – пренатальная гипоксическая гипоксия (13-20 сут.); К – пренатальное введение кортексина; К+ГГ – модель «пренатальная гипоксическая гипоксия + кортексин»; П - пренатальное введение пинеалона; П + ГГ - модель «пренатальная гипоксическая гипоксия + пинеалон»; Д - пренатальное введение дельтарана; Д + ГГ - модель «пренатальная гипоксическая гипоксия + дельтаран».

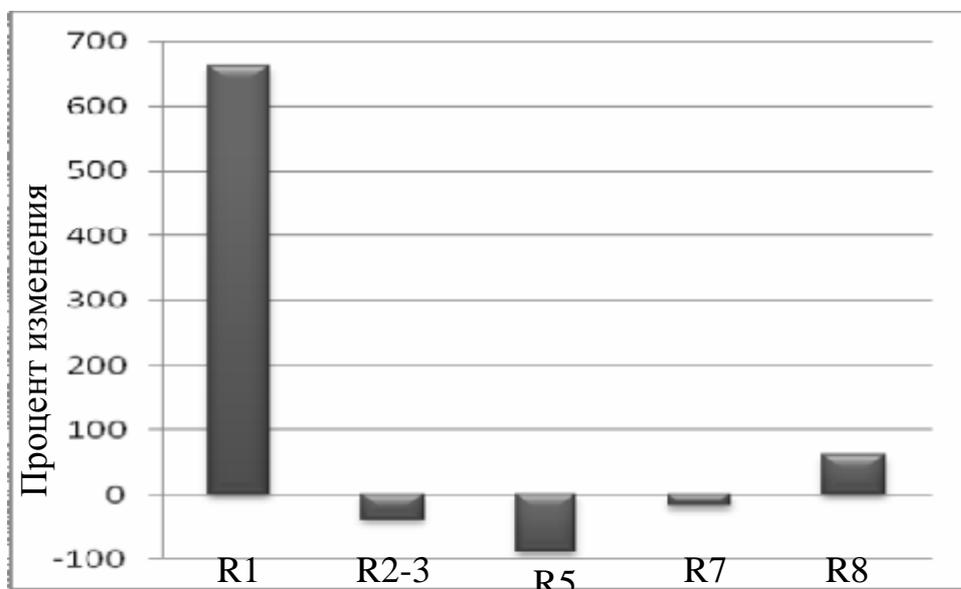


Рис. 26. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели пренатального введения пинеалона относительно контроля

В модели пренатальной гипоксической гипоксии и введения пинеалона у 21-дневных крыс в поведенческом континууме установлено повышение представленности поведенческого сна и груминга одновременно со снижением времени пищевого поведения и релаксированного бодрствования (рис. 27).

Таким образом, введение пинеалона в обеих моделях эксперимента происходило повышение времени поведенческого сна и снижение представленности пищевого поведения. Однако в модели пренатального стресса и введения пинеалона на протяжении всего периода пренатального развития приводило к разнонаправленным изменениям времени груминга и релаксированного бодрствования по сравнению с группой крыс, которым вводили пептид, но не моделировали стресс.

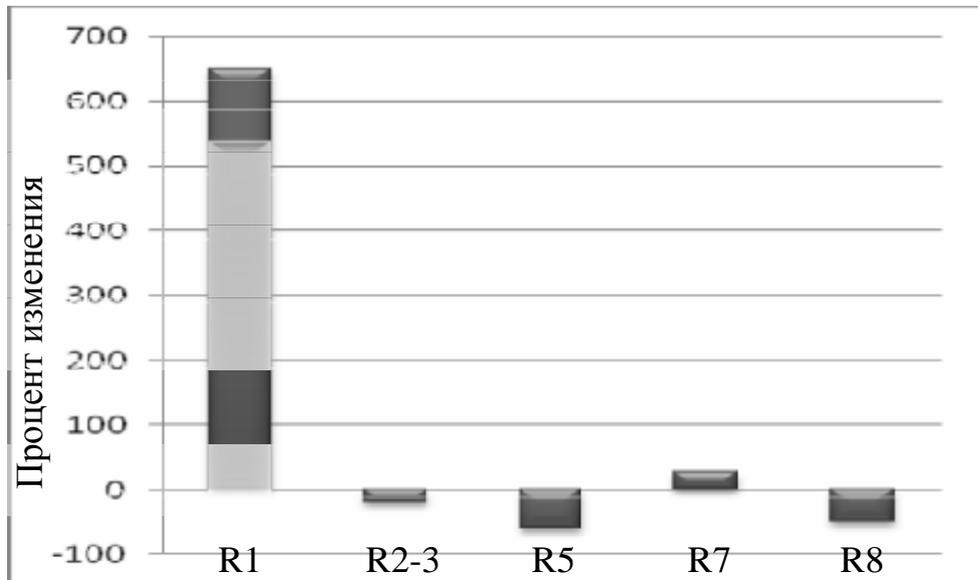


Рис. 27. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели введения пинеалона и пренатальной гипоксической гипоксии относительно контроля

Пренатальное введение дельтарана в обеих моделях эксперимента без пренатального стресса и в условиях моделирования гипоксической гипоксии способствовало сходным изменениям поведения 21-дневных крыс (рис. 28-29).

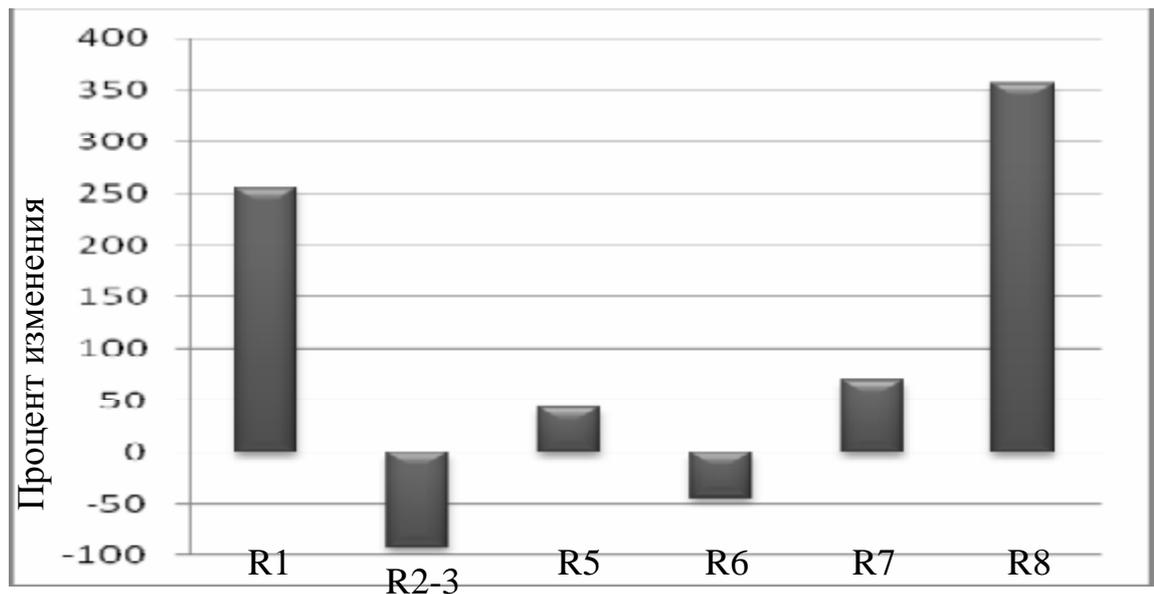


Рис. 28. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели пренатального введения дельтарана относительно контроля

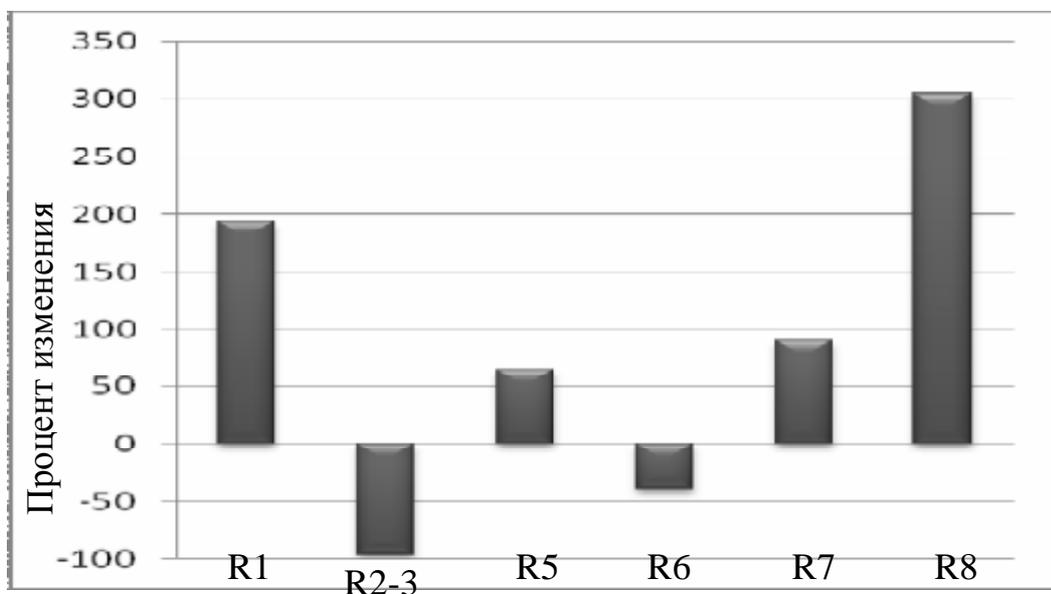


Рис. 29. Достоверные изменения (при  $p < 0,05$ ) в структуре поведения у крыс в модели введения дельтарана и пренатальной гипоксической гипоксии относительно контроля

В том числе, наблюдали повышение времени поведенческого сна, пищевого поведения, груминга и релаксированного бодрствования и снижение представленности всех форм локомоторной активности в данных группах крыс относительно контроля.

Дельта сон-индуцирующий пептид, входящий в состав дельтарана, является опиоидным пептидом, проявляющим гипногенные свойства и повышающий резистентность организма к стрессу (Боголепов, Доведова, 2010).

В связи с этим эффекты, оказываемые дельтараном на поведение 21-дневных крыс, направлены, преимущественно, на снижение двигательной активности, а также повышения представленности мотивационных форм поведения. Однако, обращает на себя внимание тот факт, что эффекты дельтарана на поведение сходны в обоих вариантах постановки эксперимента, тогда как введение кортексина и пинеалона в этих же экспериментальных моделях по-разному влияет на большинство форм поведения 21-дневных животных. Предположительно, пренатально вводимый дельтаран не только повышает способность к адаптивному и

репаративному нейрогенезу, но и устойчиво изменяет поведение экспериментальных животных в постнатальном периоде развития.

Это предположение косвенно подтверждается данными литературы, согласно которым пренатальное введение ДСИП на фоне эмоционального стресса сопровождается изменением уровня агрессивности у потомков мышей разных генетических линий, что автор объясняет влиянием пептида на активность МАО-А (Войтенко, 2008). Кроме того, одним из механизмов действия препаратов пептидной природы, является модуляция медиаторных систем мозга. Единое функционирование пептид-моноаминергических систем обеспечивает нормальные межклеточные коммуникации, передающие информацию от регуляторных клеточных элементов для поддержания гомеостаза нейрональной активности (Исмайлова и др., 2007).

Модулирующее действие пептидов на нейромедиаторные процессы мозга квалифицируют как некое регуляторное действие, которое опосредовано состоянием транмиттерной системы. Оно может не проявляться на фоне оптимального функционирования физиологической или биохимической системы, но может быть выражено при сдвигах функционального состояния этих систем. Поэтому эффект пептидов на уровне целого организма проявляется различными, а подчас противоположными изменениями поведения или регистрируемого физиологического процесса в зависимости от исходного состояния организма.

На рисунке 30 и в таблице 43 представлены результаты исследования эффектов пептидных препаратов на содержание моноаминов в мозге крыс в модели пренатального стресса. В группе животных, которым пренатально вводили кортексин, установлено накопление адреналина в коре больших полушарий, а также дофамина в столовых структурах.

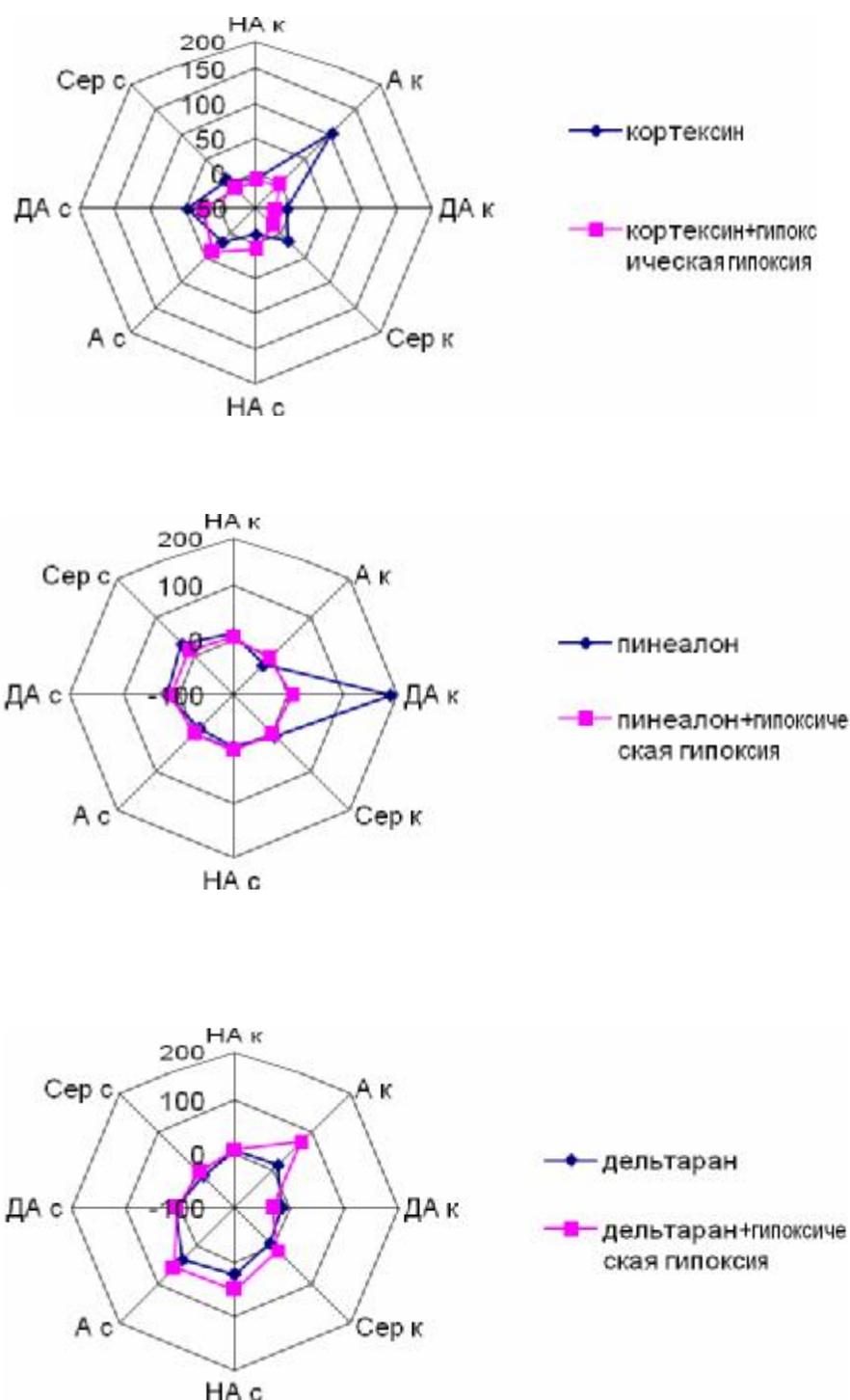


Рис. 30. Влияние пептидных препаратов на содержание моноаминов крыс в модели пренатального стресса.

Примечание:

1 – норадреналин, кора больших полушарий; 2 – адреналин, кора больших полушарий; 3 – дофамин, кора больших полушарий; 4 – серотонин, кора больших полушарий; 5 – норадреналин, стволые структуры; 6 – адреналин, стволые структуры; 7 – дофамин, стволые структуры; 8 – серотонин, стволые структуры

В модели введения кортексина и моделирования пренатального стресса у 21-дневных крыс выявлено снижение содержания дофамина и серотонина в коре больших полушарий, а также возрастание уровня адреналина и дофамина в стволовых структурах.

Относительно группы крыс в модели гипоксической гипоксии, при введении кортексина и моделирования пренатального стресса у животных в коре больших полушарий было снижено содержание адреналина, дофамина и серотонина, а в стволовых структурах – накопление норадреналина, адреналина и дофамина на фоне снижения уровня серотонина. Вероятно, такое перераспределение моноаминов в мозге у животных, которым вводили кортексин и моделировали пренатальную гипоксию, может лежать в основе изменений в их поведении и обучаемости относительно контрольной группы. По сравнению с контролем сдвиги в медиаторном балансе у этих животных происходили преимущественно в стволовых структурах, что, возможно отражает развитие у последних общих адаптационных перестроек в организме, и в меньшей степени, - изменения в структуре высших психических процессов.

У 3-недельного потомства самок, которым в течение всей беременности вводили пинеалон, выявлено накопление дофамина в коре больших полушарий, а в стволовых структурах – повышение содержания дофамина и серотонина относительно контрольной группы крыс. Интересно, что уровень повышения содержания серотонина был выше, чем в группе крыс, которым моделировали пренатальный стресс (на 13-20 сутки пренатального развития). Вероятно, введение пинеалона в пренатальный период может оказывать длительное влияние на активность гипоталамо-гипофизарной оси.

**Влияние пептидных препаратов на содержание моноаминов (пг/г сырого веса ткани мозга) в структурах мозга  
21-дневных крыс в модели пренатальной гипоксии ( $M \pm m$ )**

Серия	Кора больших полушарий				Стволовые структуры			
	НА	Адреналин	Дофамин	Серотонин	НА	Адреналин	Дофамин	Серотонин
Контроль, физ. р-р	704,11 ± 31,77	177,49 ± 83,24	90,96 ± 36,85	30,53 ± 1,23	2063,40 ± 97,42	99,44 ± 4,18	335,14 ± 13,64	209,47 ± 8,55
Гипоксическая гипоксия 13–20-й день беременности + физ. р-р	600,21 ± 24,67*	285,61 ± 12,71*	104,41 ± 4,68	37,11 ± 1,22	1790,63 ± 72,55*	86,56 ± 3,52	300,02 ± 12,32	268,93 ± 11,66*
Кортексин	652,67 ± 21,57	358,42 ± 14,38*	85,31 ± 37,59	35,08 ± 13,20	1794,39 ± 54,33	116,85 ± 5,15	492,45 ± 21,87*	227,13 ± 9,73
Гипоксическая гипоксия 13–20-й день беременности + кортексин	638,85 ± 27,55	172,64 ± 7,52	71,59 ± 3,40*	25,37 ± 1,21*	2235,04 ± 80,64	136,16 ± 5,49*	419,96 ± 18,26*	189,42 ± 8,53
Пинеалон	789,57 ± 35,72	138,13 ± 6,84*	263,23 ± 10,76*	32,88 ± 1,25	1953,03 ± 86,32	86,31 ± 3,86	401,52 ± 16,46*	278,23 ± 10,04*
Гипоксическая гипоксия 13–20-й день беременности + пинеалон	738,16 ± 31,70	166,45 ± 10,64	99,33 ± 3,39*	31,05 ± 0,95	2094,09 ± 84,36	99,17 ± 4,40	379,12 ± 16,29*	238,59 ± 9,21*
Дельтаран	739,92 ± 32,55	199,36 ± 4,31	78,45 ± 2,88	28,11 ± 2,12	2548,93 ± 117,63*	135,47 ± 5,42*	365,10 ± 17,07	173,85 ± 6,15
Гипоксическая гипоксия 13–20-й день беременности + дельтаран	757,56 ± 29,78	307,93 ± 12,76*	63,81 ± 3,06*	34,38 ± 2,78	3132,51 ± 139,36*	156,40 ± 6,59*	359,34 ± 14,26	194,13 ± 5,31

*Примечание:* \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение показателей относительно контроля.

У крыс в модели введения пинеалона моделирования гипоксической гипоксии на 13–20-е сутки пренатального развития наблюдали только повышение содержания серотонина в стволовых структурах относительно контроля. Тогда как по сравнению группой животных, которым моделировали пренатальный стресс без введения препарата, в коре больших полушарий животных выявлено повышение содержания норадреналина, снижение уровня адреналина и серотонина, а в стволовых структурах – повышение содержания норадреналина и дофамина.

Пренатальное введение дельтарана способствовало накоплению норадреналина и адреналина в стволовых структурах 21-дневных животных.

В модели пренатального стресса и введения дельтарана происходило накопление адреналина в структурах мозга, а также норадреналина в стволовых структурах, одновременно наблюдали снижение уровня дофамина в коре больших полушарий. Тем не менее, понижение содержания дофамина не сопровождалось накоплением здесь серотонина, что, вероятно, и способствовало наблюдаемым поведенческим изменениям относительно контроля: снижение всех форм локомоторной активности и повышения поведенческого сна, релаксированного бодрствования и мотивационного поведения.

Таким образом, в модели пренатальной гипоксической гипоксии выявлены специфические эффекты пептидных препаратов на поведенческие и нейрохимические показатели. Вероятно, это связано с особенностями их аминокислотного состава, что определяет характер действия пептидов на метаболические и морфофункциональные перестройки организма, находящегося в определенном функциональном состоянии.

Кроме того, было высказано предположение о том, что эффекты пептидов также могут различаться и при введении их на разных стадиях онтогенеза. В связи с этим далее представлены результаты исследования действия этих пептидов на изучаемые поведенческие и нейрохимические показатели у крыс 3-4-месячного и 18-месячного возраста.

#### 4.2. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга крыс 3-4 месяцев

Процент гибели у животных, подвергнутых предварительному введению пептидных препаратов перед окклюзией сонных артерий/острой гипоксической гипоксии, ниже, чем у крыс в моделях ОГГ и ОСА. Также следует отметить, что эффекты пептидов выше в модели острой гипоксической гипоксии, относительно двусторонней окклюзии сонных артерий (табл. 44).

Таблица 44

##### Влияние пептидных препаратов на выживаемость 3-4-месячных крыс в моделях острой гипоксической гипоксии и окклюзии сонных артерий (M±m)

Группы	Процент гибели крыс, %
ОГГ (n=40)	37,5
ОСА (n=45)	37,7
Кортексин + ОГГ (n=47)	10,6
Кортексин +ОСА (n=50)	22
Пинеалон +ОГГ (n=40)	10
Пинеалон + ОСА (n=44)	13,6
Дельтаран + ОГГ (n=42)	7,1
Дельтаран +ОСА (n=40)	10

Повышение эффективности препаратов по показателю выживаемости наблюдали в ряду: кортексин – пинеалон – дельтаран.

##### 4.2.1. Влияние пептидных препаратов на свободнорадикальные процессы в мозге крыс в модели окклюзии сонных артерий

Эффекты пептидных препаратов на показатели свободнорадикальных процессов изучали в модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии левой сонной артерии.

При введении кортексина наблюдали понижение содержания ТБК-реактивных продуктов в левой коре больших полушарий (на 21%;  $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. В то же время введение пинеалона способствовало

накоплению ТБК-РП в левых стволовых структурах относительно контрольных значений (табл. 45).

Таблица 45

**Влияние пептидных препаратов и ОСА на содержание ТБК-реактивных продуктов в структурах мозга (нМ/г) 3-4-мес. крыс, (M±m)**

Группы / структуры мозга	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
Контроль	41,12±2,04	38,47±2,02	30,47±1,95	33,71±1,69
ОСА	125,33±6,21*	79,65±3,77*	189,13±5,73*	112,31±5,76*
Кортексин	32,37±1,13* **	39,24±1,76*	34,65±1,25*	39,36±2,03*
Кортексин + ОСА	37,45±1,75* **	42,58±2,33*	52,57±2,06* **	55,42±2,31* **
Пинеалон	36,42±1,53 * **	34,52±1,57* **	37,42±1,34*	39,64±2,26* **
Пинеалон + ОСА	42,55±1,24* **	32,57±1,03* **	38,43±1,41*	45,38±2,73* **
Дельтаран	37,27±2,32* **	31,88±2,01* **	31,94±1,12*	39,43±1,65* **
Дельтаран + ОСА	52,36±3,86*	37,71±2,18* **	75,96±4,69* **	46,73±3,42* **

**Примечание:** \* – достоверные изменения относительно контроля; \*\* - достоверные изменения относительно группы крыс модели ОСА.

В условиях окклюзии сонных артерий введение пептидных препаратов приводило к снижению эффектов стрессового воздействия, о чем судили по снижению содержания ТБК-РП в структурах мозга относительно крыс в модели «ОСА». Тем не менее, при введении кортексина и пинеалона уровень ТБК-РП оставался выше уровня контроля в стволовых структурах, а при введении дельтарана – в левой коре больших полушарий (на 27%;  $p < 0,05$ ), левых (на 149%;  $p < 0,01$ ) и правых стволовых структурах (на 39%;  $p < 0,05$ ).

В таблице 46 представлены результаты исследования эффектов пептидных препаратов на суммарную пероксидазную активность в модели ОСА.

**Влияние пептидных препаратов и ОСА на показатели суммарной пероксидазной активности в мозге (е.о.п./мл) 3-4-мес. животных, ( $M \pm m$ )**

Группы/ структуры мозга	Левая кора больших полушарий	Правая кора больших полушарий	Левые стволовые структуры	Правые стволовые структуры
контроль	5,00±0,13	4,70±0,16	3,10±0,19	3,40±0,15
ОСА	6,50±0,21 *	7,90±0,34*	5,60±0,17*	7,50±0,37*
Кортексин	2,78±0,13* **	5,79±0,15**	4,11±0,19*	3,25±0,08**
Кортексин + ОСА	2,16±0,09*	4,39±0,20* **	2,97±0,10**	4,88±0,23* **
Пинеалон	3,54±1,12**	6,14±0,23**	3,56±0,12**	2,73±0,05* **
Пинеалон + ОСА	3,79±1,25**	5,67±0,18**	3,24±0,08**	4,17±0,21* **
Дельтаран	4,84±0,76**	4,79±0,20* **	3,75±0,11	2,93±0,12**
Дельтаран + ОСА	4,21±0,17**	4,34±0,21* **	3,18±0,13**	4,33±0,19* **

**Примечание:** \* – достоверные изменения показателей (при  $p < 0,05$ ) относительно контроля; \*\* - достоверные изменения показателей (при  $p < 0,05$ ) относительно группы крыс в модели ОСА.

При введении кортексина наблюдали снижение СПА в левой коре больших полушарий и повышение данного показателя в правой коре больших полушарий и левых стволовых структурах относительно контроля. Эффекты пинеалона на СПА были сходными с таковыми при действии кортексина. В то же время введение дельтарана не приводило к значимым изменениям СПА в структурах мозга крыс относительно контроля.

Поскольку главный вклад в СПА вносят свободный гемоглобин и миелопероксидаза лейкоцитов, можно предположить, что введение дельтарана не приводит к нарушению, как гематоэнцефалического барьера, так и структуры мембран клеток крови.

В условиях предварительного введения кортексина наблюдали снижение СПА в левой коре больших полушарий (на 57%;  $p < 0,05$ ) и повышение данного показателя в правых стволовых структурах (на 44%,  $p < 0,05$ ). Введение пинеалона перед ОСА способствовало снижению СПА в левой коре больших полушарий (на 24%;  $p < 0,05$ ), а также накоплению данного показателя в правой коре больших полушарий и правых стволовых

структурах относительно контроля. При введении дельтарана перед ОСА выявлено повышение СПА только в правых стволовых структурах (на 27%;  $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Тем не менее, следует отметить, что все исследованные препараты снижали показатель СПА относительно группы крыс, которым моделировали ОСА без предварительного введения пептидных препаратов.

Согласно результатам исследования показателей хемиллюминесценции введение пептидных препаратов неодинаково отразилось на изменении высоты быстрой вспышки и светосуммы в структурах мозга 3-4-месячных крыс (табл. 46). Так, введение кортексина способствовало повышению высоты быстрой вспышки в левой коре больших полушарий (на 40%,  $p < 0,05$ ), правых (на 84%,  $p < 0,01$ ) и левых стволовых структурах (на 81%,  $p < 0,01$ ). При введении пинеалона повышение данного показателя наблюдали в правой (на 28%,  $p < 0,05$ ) и левой коре больших полушарий (на 32%,  $p < 0,05$ ), а также правых стволовых структурах (на 34%,  $p < 0,05$ ). При введении дельтарана высота быстрой вспышки была выше уровня контроля в левой коре больших полушарий (на 27%,  $p < 0,05$ ) и правых стволовых структурах (на 44%,  $p < 0,05$ ). Таким образом, выявлена специфическая восприимчивость структур мозга к введению данных пептидных препаратов по показателю высоты быстрой вспышки. Также показано, что введение кортексина в большей степени относительно других исследованных препаратов стимулирует процессы, приводящие к повышению высоты быстрой вспышки в мозге крыс.

Это подтверждают и данные исследования эффектов пептидных препаратов на показатель светосуммы (табл. 47). Наиболее выраженное повышение  $S_m$  показано при введении кортексина: в правой коре больших полушарий установлено увеличение светосуммы на 242% ( $p < 0,001$ ), в левой коре больших полушарий – на 221% ( $p < 0,001$ ), а в правых и левых стволовых структурах, соответственно, на 252% ( $p < 0,001$ ) и 268% ( $p < 0,001$ ) относительно контроля.

**Влияние пептидных препаратов и ОСА на показатели  
хемилюминесценции (h, мм; Sm, кол-во импульсов\*10<sup>4</sup>) в мозге 3-4-  
месячных крыс, (M±m)**

Группы / показатели	h, мм	Sm за 100`
	<b>Правая кора больших полушарий</b>	
контроль	71,90±3,20	69,50±2,64
ОСА	78,32±2,77*	613,66±17,21*
Кортексин	85,46±3,65**	237,54±11,54* **
Кортексин + ОСА	107,34±4,95* **	379,54±13,42* **
Пинеалон	92,07±3,68 **	178,64±7,96* **
Пинеалон + ОСА	96,28±4,15* **	303,75±12,07* **
Дельтаран	74,66±1,34**	104,33±4,65**
Дельтаран + ОСА	99,51±4,36* **	356,15±18,62* **
	<b>Левая кора больших полушарий</b>	
контроль	65,98±2,97	71,48±2,92
ОСА	86,34±3,53*	614,27±21,29*
Кортексин	92,53±4,22* **	229,47±10,85* **
Кортексин + ОСА	132,64±5,81*	296,57±11,76* **
Пинеалон	87,03±2,59**	190,27±8,53* **
Пинеалон + ОСА	117,58±4,60* **	175,82±5,48**
Дельтаран	84,01±2,05**	170,04±7,94**
Дельтаран + ОСА	110,33±5,37* **	467,84±21,46* **
	<b>Правые стволовые структуры</b>	
контроль	68,75±2,98	72,31±3,19
ОСА	126,06±6,04*	613,33±21,46*
Кортексин	126,64±4,27*	254,75±9,83* **
Кортексин + ОСА	140,27±6,97* **	305,43±13,46* **
Пинеалон	92,41±4,36* **	231,94±10,06* **
Пинеалон + ОСА	138,54±5,72*	202,74±9,74* **
Дельтаран	99,33±1,54* **	174,23±7,38** **
Дельтаран + ОСА	135,56±6,13*	499,88±22,65* **
	<b>Левые стволовые структуры</b>	
контроль	73,45±2,98	75,37±2,54
ОСА	107,33±4,78*	566,33±18,35*
Кортексин	132,58±4,48*	277,19±12,43* **
Кортексин + ОСА	147,22±6,91*	314,38±11,74* **
Пинеалон	81,39±3,29**	188,64±7,81* **
Пинеалон + ОСА	117,64±4,98* **	184,78±7,22* **
Дельтаран	77,03±1,71**	125,66±12,90**
Дельтаран + ОСА	99,65±4,23**	421,41±19,94* **

**Примечание:** \* - отличия достоверны (при p<0,05) по отношению к контролю; \*\* - достоверные изменения (при p<0,05) показателей относительно группы крыс в модели ОСА.

Введение пептидных препаратов перед окклюзией сонных артерий способствовало значительному снижению светосуммы во всех структурах мозга, тогда как показатель высоты быстрой вспышки оставался выше уровня контроля (табл. 47). Наиболее выраженное влияние на значения светосуммы в структурах мозга в модели окклюзии сонных артерий оказал пинеалон.

Таким образом, пептидные препараты оказывают эффекты на разные звенья свободнорадикальных процессов. Причем их эффекты по-разному проявляются в коре больших полушарий и стволовых структурах правой и левой половин мозга. Это может свидетельствовать о возможных их неспецифических эффектах на метаболические процессы в данных структурах мозга.

#### **4.2.2. Влияние пептидных препаратов на латентное обучение 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии**

Согласно полученным результатам исследования введение пептидных препаратов в первый день тестирования в лабиринте Морриса время поиска скрытой платформы не отличалось от контрольных значений (табл. 48). На второй день тестирования время поиска скрытой платформы было выше в группах животных, которым вводили кортексин и дельтаран, относительно 1-й группы. К третьему дню тестирования установлено, что лучший показатель обучаемости был в группе крыс, которым вводили пинеалон. При введении дельтарана время скрытой платформы не отличалось от контрольных значений, а при введении кортексина на третий день тестирования время скрытой платформы было достоверно выше значений у животных контрольной группы.

В модели острой гипоксической гипоксии введение пептидных препаратов значительно улучшало показатель обучаемости крыс относительно животных, которым не вводили препараты до моделирования ОГГ.

Таблица 48

**Результаты исследования когнитивной функции 3-4-мес. крыс в водном лабиринте Морриса при воздействии острой гипоксической гипоксии и введении пептидных препаратов с, ( $M \pm m$ )**

Сумма четырех попыток	Первый день тестирования	Второй день тестирования	Третий день тестирования
Контроль			
(n = 72)	28,53±1,09	11,63±0,27*	8,49±0,31*
ОГГ + физ. р-р (n = 7)			
(n = 28)	37,52±1,49#	24,54±0,10*#	17,83±0,65*#
Кортексин (n = 8)			
(n = 32)	26,63±0,93●	18,49±0,67*#●	12,26±0,40*#●
ОГГ + кортексин (n = 15)			
(n = 60)	31,83±1,26	25,38±0,18#	11,52±0,37*#●
Пинеалон (n = 8)			
(n = 32)	23,51±1,08●	9,33±0,42*	5,81±0,21*#●
ОГГ + пинеалон (n = 20)			
(n = 80)	26,39±1,24●	28,07±1,75#	9,22±0,46*●
Дельтаран n = 8)			
(n = 60)	26,07±1,31●	19,37±0,63*#●	7,42±0,33*●
ОГГ + дельтаран (n = 15)			
(n = 60)	29,48±1,43●	15,48±0,70*#●	8,21±0,39*●

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение времени поиска платформы относительно 1-го дня тестирования, # - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно контроля; ● - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно группы крыс в модели ОГГ.

На первый день тестирования время скрытой платформы у животных, которым вводили пинеалон или дельтаран было ниже, чем у крыс в модели «ОГГ». Ко второму дню у животных, которым вводили пинеалон перед ОГГ, показатель обучаемости не изменился по сравнению с первым днем тестирования. В то же время при введении дельтарана перед ОГГ на второй день тестирования время поиска скрытой платформы снизилось по сравнению с первым днем и было ниже значений животных в модели «ОГГ» на 37% ( $p < 0,05$ ). К третьему дню эксперимента самое низкое значение времени поиска скрытой платформы было в группе крыс, которым вводили дельтаран перед острой гипоксической гипоксией. Показатель обучаемости у

животных, которым вводили кортексин, был значительно хуже, чем у крыс контрольной группы.

Таким образом, введение пинеалона интактным 3-4-месячным крысам в отличие от других исследованных пептидных препаратов способствует повышению обучаемости животных. Но наиболее эффективным препаратом в условиях ОГГ является дельтаран.

#### **4.2.3. Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 у 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии**

Пептидные препараты в условиях физиологической нормы способствуют возрастанию интенсивности свободнорадикальных процессов (СРП), что связывают с их эффектом преадаптации (Лысенко и др., 1999). Но введение пептидов на фоне стрессорного воздействия, напротив, способствует снижению интенсификации СРП за счет повышения антиоксидантного статуса в организме (Козина, 2007). Также установлены эффекты ряда пептидов на репликацию генома (Хавинсон и др., 2003), протеолитическую активность в мозге (Mendzheritskii et al., 1997). При сопоставлении этих фактов, можно предположить, что действие пептидов направлено на изменение активности репликационных процессов, уровня протеолитических и свободнорадикальных реакций таким образом, чтобы в условиях стрессового воздействия изменить «программу работы внутри- и межклеточной сигнализации» в сторону наиболее благоприятного исхода для всей клеточной популяции. В том числе, изменение активности протеолитических ферментов (в частности, каспазы-3, кальпаинов), а также в структуре цитоскелета в нейронах под действием пептидов в норме и при патологическом воздействии (Менджеричкий и др., 1994) может являться отражением адаптивных перестроек в сетях нейронов, ответственных за «приспособление» к новым условиям.

Известно, что субстратом для каспазы-3 служит множество белков цитоскелета (ламинин, G-актин, фодрин, пресенилин), ферменты репарации

ДНК и регуляторы клеточного цикла (PARP, pRb), протеинкиназы (MEKK 1, FAK, PAK 2) – так называемые "субстраты смерти" (Takahashi et al., 2006).

При анализе результатов исследования эффектов пептидных препаратов на активность и содержание активной каспазы-3 в структурах мозга 3-4-месячных крыс установлено следующее (табл. 49-50).

Таблица 49

**Активность каспазы-3 в структурах мозга 3-4-мес. крыс в модели ОГГ и введения пептидных препаратов ( $M \pm m$ , процент отличия от контроля, степень достоверности отличий к контролю)**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
1-я группа – контроль	3,95±0,31	2,85±0,16
ОГГ	4,31±0,29	4,52±0,24*
Кортексин	4,76±0,24	4,59±0,21*
ОГГ + кортексин	4,02±0,15	3,28±0,13
Пинеалон	3,79±0,13	3,68±0,14*
ОГГ + пинеалон	3,22±0,16	2,58±0,11
Дельтаран	3,62±0,28	4,65±0,38*
ОГГ + дельтаран	4,03±0,21	4,89±0,32*

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение активности каспазы-3 относительно контроля.

Таблица 50

**Содержание каспазы-3 в структурах мозга крыс в модели ОГГ и введения пептидных препаратов ( $M \pm m$ , процент отличия от контроля, степень достоверности отличий к контролю)**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
1-я группа – контроль	10,10±0,42	12,03±0,46
ОГГ	11,75±0,51	12,04±0,56
Кортексин	12,28±0,57	8,47±0,32*
ОГГ + кортексин	11,75±0,42	12,11±0,59
Пинеалон	13,45±0,61*	16,73±0,72*
ОГГ + пинеалон	12,04±0,54	15,51±0,69
Дельтаран	17,54±7,53*	19,34±0,75*
ОГГ + дельтаран	16,73±0,69*	20,66±0,96*

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) изменение содержания каспазы-3 относительно контроля.

Как и при острой гипоксической гипоксии при введении пептидов в стволовых структурах интактных животных происходило повышение

активности каспазы-3. Также и в столовых структурах мозга крыс, которым вводили дельтаран перед моделированием ОГГ, обнаружено повышение активности данной протеазы относительно контроля.

Одновременно изменилось и содержание активной каспазы-3 в стволовых структурах этих же групп крыс по сравнению с контролем. При введении кортексина интактным животным содержание активной каспазы-3 было ниже, а при введении пинеалона и дельтарана, а также в модели «дельтаран + ОГГ» - выше уровня контроля.

Это дает основание предполагать, что в стволовых структурах молодых животных под действием кортексина снижается синтез каспазы-3 на фоне создания благоприятных условий для проявления повышения активности соответствующего фермента. Возможно, кортексин влияет на RGD-последовательность (аргинин-глицин-аспартат), придающей молекуле профермента такую конформацию, при которой протеазная активность может не проявиться (Gulyaeva et al., 2003), либо способствует созданию определенного диапазона значений pH, при котором активность каспазы-3 наиболее высока и т.д. Так, максимум активности каспазы-3 достигает при близких к нейтральным значениям pH (Benson et al., 1999), однако определенный уровень активности данная протеаза проявляет при кислых значениях pH (Onufriev et al., 2009; Yakovlev et al., 2008).

При введении пинеалона и дельтарана интактным животным, а также дельтарана перед моделированием ОГГ, в коре больших полушарий крыс наблюдали возрастание содержания активной каспазы-3. Таким образом, введение дельтарана в большей степени влияет на активность и содержание активной каспазы-3 в мозге 3-4-месячных как интактных животных, и, особенно, в модели острой гипоксической гипоксии. Введение пинеалона влияет не столь выражено на функциональное состояние данной протеазы: в модели «ОГГ» введение трипептида способствует сохранению активности и содержания активной каспазы-3 на контрольном уровне. Тем не менее, это

сопровождается менее значительным его влиянием на латентное обучение относительно дельтарана.

#### 4.2.4. Влияние пептидных препаратов на поведение 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии

При анализе результатов исследования поведения установлено, что в отличие от 21-дневных крыс у животных 3-4-месячного возраста контрольной группы в структуре поведения преобладает груминг, мелкая двигательная активность и релаксированное бодрствование. Тогда как у 21-дневных животных преобладают такие формы поведения, как мелкая двигательная активности вертикальная и горизонтальная локомоторная активность (табл. 51, рис. 31-32).

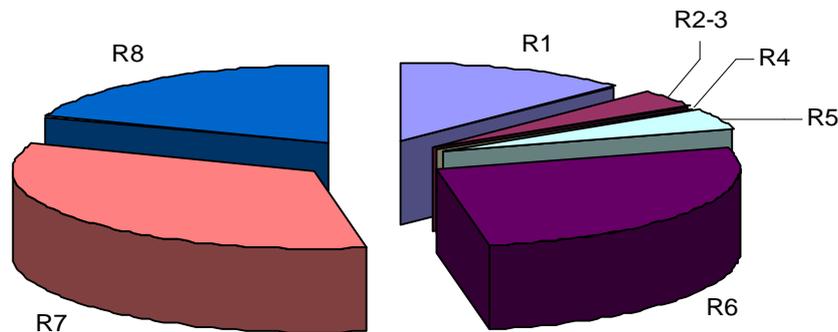


Рис. 31. Поведенческий континуум 3-4-месячных крыс контрольной группы

После моделирования острой гипоксической гипоксии у 3-4-месячных крыс происходит снижение времени поведенческого сна, вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, груминга, потребления пищи и одновременно возрастает время релаксированного бодрствования (рис. 31).

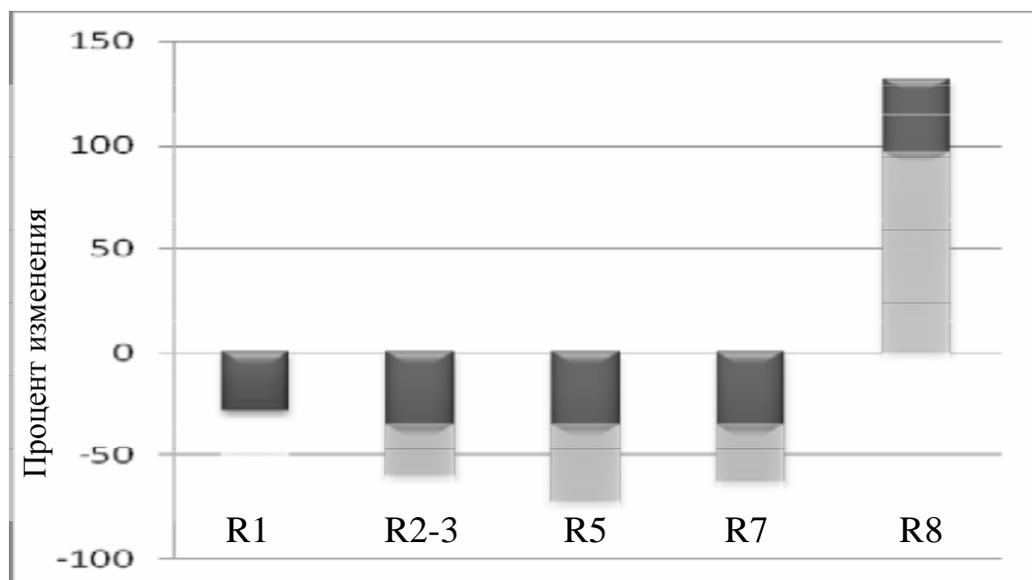


Рис. 32. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) у 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии относительно контроля

Нужно отметить, что у животных, перенесших пренатальную гипоксическую гипоксию в 3-недельном возрасте, напротив, резко увеличивается представленность вертикальной и горизонтальной локомоторной активности относительно контроля.

Такие отличия в поведении крыс в разных моделях гипоксической гипоксии дают основание предполагать, что и введение пептидов также по-разному может отражаться на поведении крыс в данных моделях гипоксической гипоксии.

При анализе эффектов кортексина на поведение крыс 3-4-месячного возраста (рис. 33) показано повышение времени поведенческого сна, релаксированного бодрствования, а также пищевого поведения на фоне понижения представленности вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, мелкой двигательной активности и груминга относительно контрольной группы.

В отличие от 3-4-месячных крыс, которым вводили кортексин, пренатальное введение данного пептида способствовало снижению у 21-

дневных животных времени вертикальной и горизонтальной локомоторной активности и повышению времени груминга.

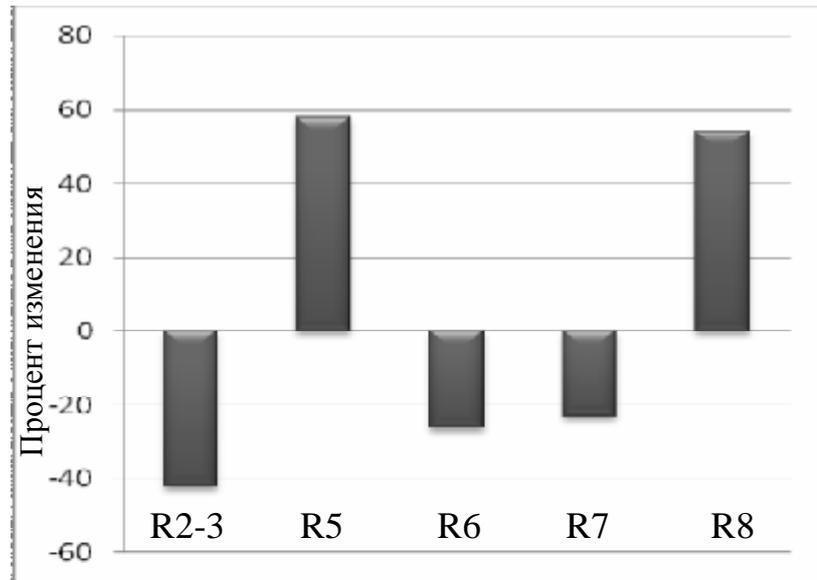


Рис. 33. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) у 3-4-месячных крыс при введении кортексина относительно контроля

Также показаны различия эффектов пинеалона на поведение крыс разного возраста. Так, у 3-4-месячных животных введение пинеалона приводило к понижению времени поведенческого сна и повышению представленности вертикальной, горизонтальной локомоторной активности и пищевого поведения по сравнению с контролем (рис. 34).

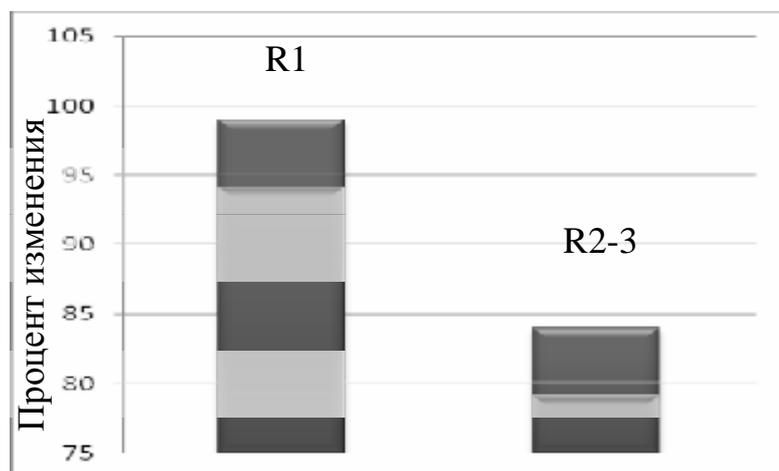


Рис. 34. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) у 3-4-месячных крыс при введении пинеалона относительно контроля

В тоже время в группе 21-дневных крыс, которым вводили пептид пренатально, наблюдали обратные эффекты на время данных форм поведения по сравнению с 21-дневными животными контрольной группы. Однако, установлено выраженное влияние пинеалона на питьевое поведение: в обеих возрастных группах введение пептида способствовало наиболее значительному по времени потреблению воды животными относительно остальных групп крыс того же возраста.

Введение дельтарана животным как пренатально (21-дневные крысы), так и 3-4-месячным крысам способствовало повышению представленности у них поведенческого сна и релаксированного бодрствования за счет понижения горизонтальной и вертикальной локомоторной активности, а также мелкой двигательной активности по сравнению с контролем. Разнонаправленные эффекты дельтарана в этих группах крыс показаны только на время груминга (рис. 28, 35).

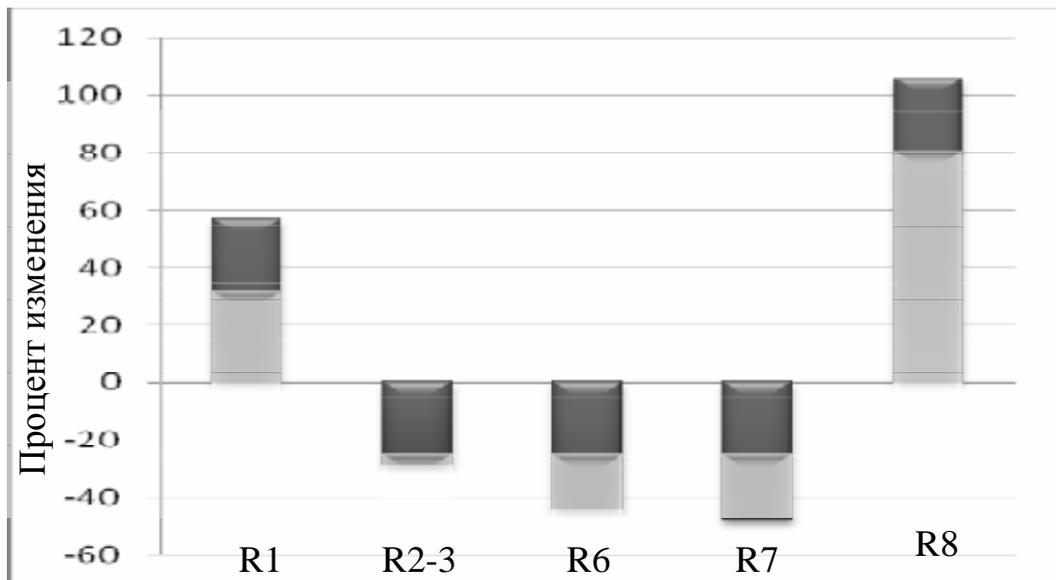


Рис. 35. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) у 3-4-месячных крыс при введении дельтарана относительно контроля

Таким образом, введение пептидов в разных экспериментальных моделях, в данном случае, в разные сроки онтогенеза, по-разному отражается на поведенческих реакциях животных, что может быть связано с особенностями метаболизма в данные периоды развития.

Далее проводили анализ эффектов пептидных препаратов на поведение 3-4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии.

Как, введение кортексина перед моделированием ОГГ значительно снизило эффект острой гипоксической гипоксии на поведенческий сон, пищевое поведение, груминг и релаксированное бодрствование. Тем не менее, представленность груминга и релаксированного бодрствования не соответствовала контрольному уровню. Также, в условиях введения кортексина и моделирования ОГГ еще больше происходило снижение времени горизонтальной и вертикальной локомоторной активности, чем у животных, которым моделировали данный вид стресса без введения препарата (рис. 36). Также установлено различие в поведении крыс в модели пренатального введения кортексина и моделирования гипоксической гипоксии и модели введения данного пептида 3-4-месячным животным до моделирования ОГГ. В том числе, в данных моделях эксперимента по-разному происходило изменение времени мелкой двигательной активности и груминга относительно контрольных групп.

По данным литературы груминг является сложной формой поведения, изменение которого как в сторону увеличения, так и снижения можно интерпретировать как адаптивную реакцию (Калуев, 2002). Кроме того, авторы предполагают наличие разновидностей аутогруминга, которые в одних случаях могут быть реакцией на стресс, в других случаях, - проявлением комфортного поведения.

Кроме того, несмотря на то, что значение времени груминга у 3-4-месячных крыс в модели введения кортексина и моделирования ОГГ было снижено относительно контроля, по сравнению с группой животных, которым не вводили препарат до острой гипоксической гипоксии, время данной формы поведения было повышено.

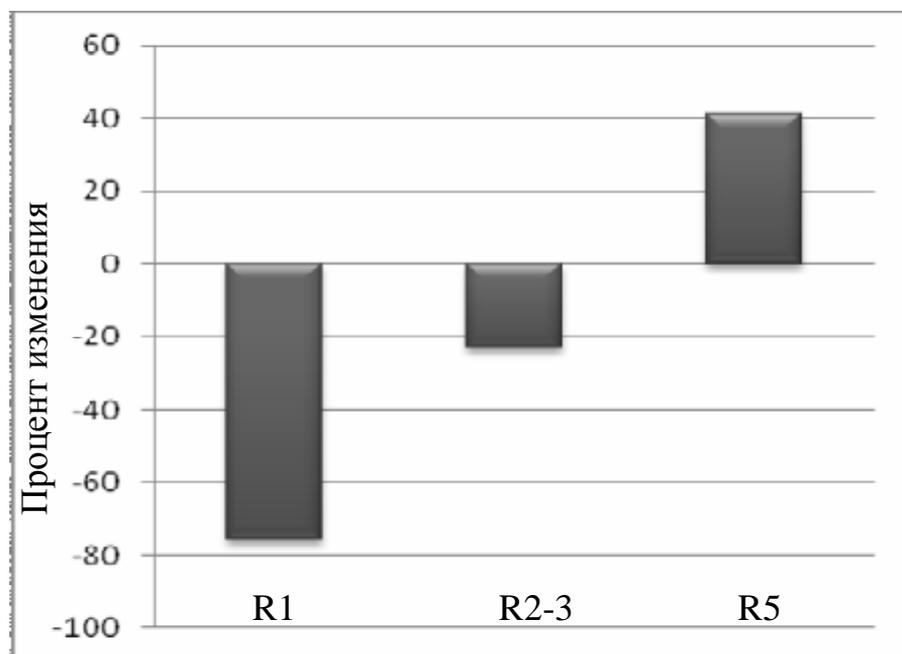


Рис. 36. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) при введении кортексина 3-4-месячным крысам в модели острой гипоксической гипоксии относительно контроля

В условиях введения пинеалона 3-4-месячным крысам перед моделированием острой гипоксической гипоксии установлено повышение времени поведенческого сна и релаксированного бодрствования, а также снижение горизонтальной и вертикальной локомоторной активности и груминга относительно контрольной группы крыс. Также у животных в модели «пинеалон+ОГГ» наблюдали питьевое поведение. Нужно отметить, что введение пинеалона способствовало однонаправленным изменениям в структуре поведения крыс в моделях «пренатальное введение пинеалона + пренатальная гипоксическая гипоксия» и «пинеалон + острая гипоксическая гипоксия у 3-4-месячных крыс» на поведенческий сон, питьевое поведение и релаксированное бодрствование (рис. 37).

Введение дельтарана 3-4-месячным крысам до острой гипоксической гипоксии приводило к повышению времени поведенческого сна и релаксированного бодрствования и снижению представленности вертикальной и горизонтальной локомоторной активности. По сравнению с 21-дневными крысами у 3-4-месячных животных в модели «дельтаран +

гипоксическая гипоксия» не выявлены изменения представленности таких форм поведения, как питьевое и пищевое поведение, мелкая двигательная активность и груминг (рис. 38).

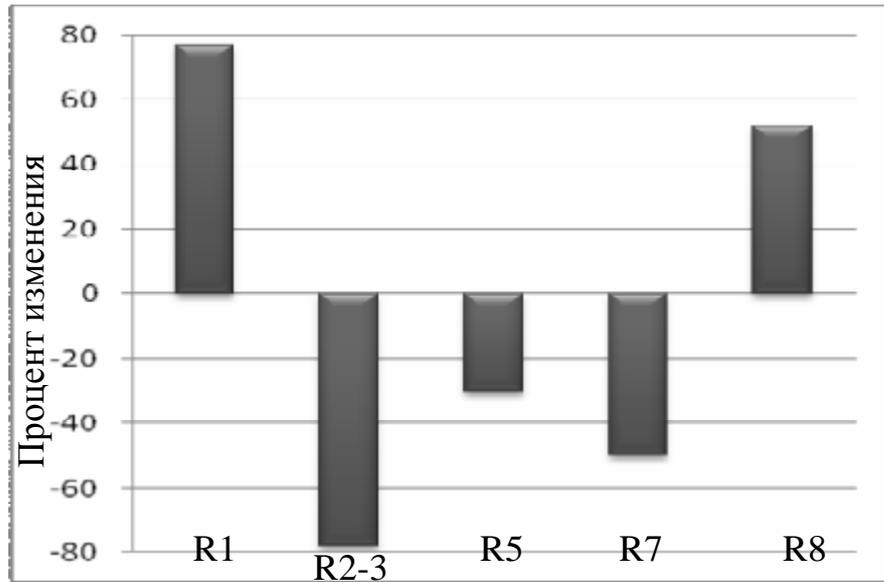


Рис. 37. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) при введении пинеалона 3-4-месячным крысам в модели острой гипоксической гипоксии относительно контроля

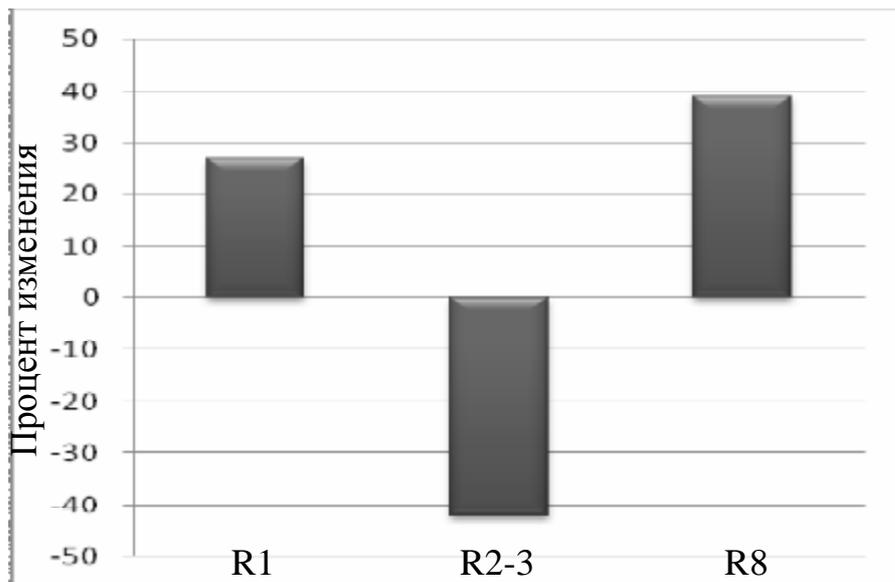


Рис. 38. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) при введении дельтараана 3-4-месячным крысам в модели острой гипоксической гипоксии относительно контроля

Таблица 51

**Влияние острой гипоксической гипоксии и пептидных препаратов на представленность основных форм поведения 3-4-месячных крыс (в сек.,  $M \pm m$ )**

Формы повед./ Серии	R1 Повед. сон	R2 Гор. лок.	R3 Верт. лок.	R4 Потр. воды	R5 Потр. пищи	R6 Мелкая двиг. акт.	R7 Груминг	R8 Релакс. бодр.
контроль	75,29±3,25	29,72±1,24	15,03±0,71	0	26,75±1,28	159,35±6,55	201,08±9,36	116,25±5,22
		21,28±1,21						
ОГГ	54,42±2,17*	8,97±0,42	11,37±0,45	0,51±0,02	7,49±0,34*	182,34±7,29	76,66±3,27*	270,0±11,93*
		8,58±0,38*						
Кортексин	92,39±4,80	18,63±0,85	10,25±0,57	1,45±0,04	42,33±1,98*	118,37±5,31*	154,24±6,52*	178,79±9,42*
		12,43±0,53*						
Пинеалон	55,32±2,11	46,53±1,37	21,51±0,83	5,94±0,17	49,28±2,28*	143,86±6,95	179,39±7,06	123,82±6,28
		42,39±1,49*						
Дельтаран	118,42±5,73*	12,34±0,55	7,42±0,32	1,28±0,04	31,26±1,52	89,79±4,33*	105,28±4,37*	238,95±10,69*
		15,02±0,61*						
Кортексин +ОГГ	63,33±2,51	5,25±0,20	10,30±0,46	0,83±0,03	24,44±1,07	187,50±8,54	155,10±7,17*	163,89±7,20*
		5,00±0,24*						
Пинеалон + ОГГ	132,92±5,38*	2,34±0,11	9,88±0,39	1,25±0,05	18,62±0,78*	164,30±7,04	101,25±5,73*	177,08±8,94*
		4,58±0,22*						
Дельтаран + ОГГ	95,29±5,10*	13,53±0,59	9,64±0,47	0	32,47±0,95	133,92±6,92	164,38±7,38	161,54±6,47*
		12,40±0,58*						

**Примечание:** \*- достоверные отличия показателей относительно контроля (при  $p < 0,05$ ).

Следовательно, хроническое введение дельтарана в пренатальном периоде в большей мере влияет на структуру поведения крыс. В пренатальном периоде под влиянием экзогенных влияний, в том числе, введения препаратов, может изменяться морфофункциональная организация мозга в результате влияний на процесс нейрогенеза. Менее длительное курсовое введение дельтарана перед стрессовым воздействием способствует менее значительным перестройкам в структуре поведения животных по сравнению с контролем, в основном компенсируя эффекты гипоксической гипоксии на поведение.

Далее представлены эффекты пептидных препаратов на медиаторный баланс крыс в модели окклюзии сонных артерий.

#### **4.2.5. Влияние пептидных препаратов на медиаторный баланс в мозге 3-4 месячных крыс при острой гипоксической гипоксии**

При введении кортексина и дельтарана 3-4-месячным крысам наблюдали однонаправленные изменения норадреналина в структурах мозга крыс. Так, в коре больших полушарий после введения данных пептидных препаратов происходило снижение содержания норадреналина, но в стволовых структурах уровень НА увеличивался (табл. 52) относительно контроля. Вероятно, за счет этого данные пептидные препараты имеют сходные эффекты на поведенческий сон, увеличивая его представленность в структуре поведенческого континуума.

Кроме того, введение кортексина способствует повышению содержания адреналина в коре больших полушарий и стволовых структурах по сравнению с контролем. Нужно отметить, что и у 21-дневных крыс, которым пренатально вводили кортексин, как ранее было отмечено, также обнаружено повышение уровня адреналина в коре больших полушарий. Следовательно, введение данного пептидного препарата влияет на содержание адреналина в коре больших полушарий, что связывают с увеличением энергообеспечения ткани. В данном случае можно предположить, что кортексин способствует

повышению энергообеспечения коры больших полушарий. Смещение баланса медиаторов, таким образом, происходит в сторону норадреналина, адреналина и серотонина, о чем свидетельствует повышение соотношений НА/ДА, НА/серотонин и серотонин/5-ОИУК относительно контроля (табл. 53).

Таблица 52

**Влияние пептидных препаратов и ОГГ на содержание адреналина, норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) (мкг/мл) в мозге 3-4-месячных крыс, ( $M \pm m$ )**

группы	НА	ДА	серотонин	5-ОИУК	адреналин
	Кора больших полушарий				
контроль	0,18±0,006	0,76±0,02	0,26±0,004	0,25±0,006	0,072±0,003
ОГГ	0,12±0,04*	0,34±0,01*	0,60±0,02*	0,56±0,02*	0,134±0,05*
Кортексин	0,08±0,003*	0,84±0,04	Не исследовано		0,094±0,003*
Кортексин + ОГГ	0,23±0,01	1,75±0,06*			0,096±0,004*
Пинеалон	0,26±0,009*	0,84±0,03			0,109±0,005*
Пинеалон + ОГГ	0,28±0,01*	0,70±0,02			0,107±0,004*
Дельтаран	0,10±0,009*	0,29±0,005*	0,59±0,017*	0,27±0,006*	0,084±0,002
Дельтаран + ОГГ	0,11±0,04*	0,35±0,02*	0,88±0,03*	0,37±0,01*	0,088±0,003*
	Стволовые структуры				
контроль	0,18±0,005	0,75±0,04	0,28±0,005	0,22±0,005	0,083±0,003
ОГГ	0,11±0,03*	0,44±0,02*	0,45±0,02*	0,09±0,002*	0,142±0,06*
Кортексин	0,23±0,01*	0,88±0,03	Не исследовано		0,109±0,004*
Кортексин + ОГГ	0,23±0,008*	0,84±0,04			0,113±0,005*
Пинеалон	0,21±0,09	0,85±0,03			0,119±0,004*
Пинеалон + ОГГ	0,25±0,01*	0,68±0,02			0,121±0,006*
Дельтаран	0,26±0,013*	0,53±0,03*	0,38±0,019*	0,10±0,003*	0,072±0,002
	**				
Дельтаран + ОГГ	0,23±0,01	0,65±0,02	0,43±0,01*	0,24±0,01	0,076±0,003

**Примечание:** \*- достоверные отличия показателей относительно контроля (при  $p < 0,05$ )

При введении пинеалона наблюдали возрастание содержания норадреналина на 44% ( $p < 0,05$ ) и адреналина на 51% ( $p < 0,05$ ) в коре больших

полушарий, а также адреналина в стволовых структурах на 43% ( $p < 0,05$ ). У 21-дневных крыс в модели пренатального введения трипептида выявлены другие изменения в нейромедиаторном балансе (см. п. 4.1.). Таким образом, введение пинеалона на разных сроках онтогенеза по-разному отражается на нейромедиаторном балансе животных, что нужно учитывать и при введении данного пептидного препарата в преclinical испытаниях.

Таблица 53

**Показатели соотношений норадреналин/дофамин (НА/ДА),  
норадреналин/серотонин (НА/серотонин) и серотонин/5-  
оксииндолуксусная кислота (серотонин/5-ОИУК) в мозге 3-4-месячных  
крыс в модели введения коротких пептидов и острой гипоксической  
гипоксии, (M±m)**

группы	НА/ДА	НА/серотонин	Серотонин/5-ОИУК
Кора больших полушарий			
контроль	0,24±0,01	0,24±0,009	1,04±0,04
ОГГ	0,35±0,01	0,20±0,008	1,11±0,05
Кортексин	0,09±0,004*	Не исследовано	
Кортексин + ОГГ	0,13±0,005*		
Пинеалон	0,31±0,011		
Пинеалон + ОГГ	0,40±0,015*		
Дельтаран	0,34±0,01 *	0,49±0,006 *	1,68±0,05 *
Дельтаран + ОГГ	0,31±0,02	0,35±0,01	2,91±0,09
Стволовые структуры			
контроль	0,24±0,01	0,63±0,02	1,30±0,04
ОГГ	0,25±0,01	0,24±0,009*	1,22±0,07
Кортексин	0,26±0,008	Не исследовано	
Кортексин + ОГГ	0,27±0,009		
Пинеалон	0,25±0,01		
Пинеалон + ОГГ	0,37±0,013*		
Дельтаран	0,50±0,02 *	0,90±0,04 *	2,82±0,08 *
Дельтаран + ОГГ	0,31±0,01*	0,45±0,02	6,26±0,23

**Примечание:** \*- достоверные отличия показателей относительно контроля (при  $p < 0,05$ )

При исследовании влияния дельтарана на баланс моноаминов у интактных 3-4-месячных крыс было показано, что после инъекции этого препарата в коре больших полушарий (табл. 52) происходит снижение

содержания норадреналина и дофамина на фоне повышения уровня серотонина. К тому же в коре больших полушарий имело место повышение соотношений НА/ДА и НА/серотонин относительно контроля. Изменение в обмене серотонина проявилось в возрастании соотношения серотонин/5-ОИУК (табл. 53). В столовых структурах крыс, которым вводили дельтаран, наблюдали накопление норадреналина (на 44%;  $p < 0,05$ ) и серотонина (на 36%;  $p < 0,05$ ), тогда как уровень дофамина (на -29%;  $p < 0,05$ ) и 5-ОИУК (на -55%;  $p < 0,05$ ) снизился относительно контроля.

Согласно анализу результатов исследования эффектов острой гипоксической гипоксии на нейромедиаторный баланс, в коре больших полушарий 3-4-месячных крыс происходило снижение уровня норадреналина, дофамина и накопление серотонина, 5-ОИУК и адреналина относительно контрольных значений. В стволовых структурах наблюдали аналогичные изменения за исключением снижения содержания 5-ОИУК по сравнению с контролем. Однако в коре больших полушарий и стволовых структурах соотношения серотонин/5-ОИУК не отличались от контрольных значений. Таким образом, в условиях ОГГ в мозге 3-4-месячных крыс происходит истощение норадреналина и дофамина, накопление адреналина и разнонаправленные изменения в содержании серотонина в коре больших полушарий и стволовых структурах.

В условиях острой гипоксической гипоксии предварительное введение кортексина способствует накоплению адреналина на 33% ( $p < 0,05$ ) и дофамина на 130% ( $p < 0,01$ ), а также адреналина в стволовых структурах на 31% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля. По сравнению с крысами в модели острой гипоксической гипоксии, в условиях предварительного введения кортексина перед ОГГ наблюдали повышение уровня норадреналина и дофамина и снижение содержания адреналина, как в коре больших полушарий, так и стволовых структурах.

У животных, которым до ОГГ вводили пинеалон, обнаружено возрастание содержания норадреналина и адреналина в исследуемых

структурах мозга относительно контроля. При сравнении с группой животных, которым моделировали острую гипоксическую гипоксию, предварительное введение пинелона до ОГГ способствовало снижению эффектов гипоксического воздействия на содержание нейромедиаторов, особенно, на изменение уровня адреналина (табл. 53). Введение пинеалона в разных моделях гипоксической гипоксии (модели «пренатальное введение+ пренатальная гипоксическая гипоксия» и «пинеалон+острая гипоксическая гипоксия у 3-4-месячных крыс») оказывает разные эффекты на нейромедиаторный баланс 21-дневных животных (см. п. 4.1.).

В условиях введения дельтарана перед острой гипоксической гипоксией выявлено снижение содержания норадреналина, дофамина и накопление адреналина, серотонина и 5-ОИУК в коре больших полушарий относительно контроля ( $p < 0,05$ ). Таким образом, введение данного пептидного препарата интактным 3-4-месячным животным, а также крысам того же возраста в модели ОГГ одинаково влияет на изменение норадреналина и дофамина, а также серотонина и 5-ОИУК в данной структуре мозга. В стволовых структурах у крыс в модели предварительного введения дельтарана перед острой гипоксической гипоксией обнаружено изменение содержания только серотонина, уровень которого повысился относительно контроля на 54% ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в условиях острой гипоксической гипоксии у 3-4-месячных крыс наиболее эффективным препаратом является дельтаран, который предотвращает нарушение медиаторного баланса, тем самым, снижая эффект стрессового воздействия. Нужно отметить тот факт, что в модели пренатальной гипоксической гипоксии (13-20 сутки беременности) в условиях введения данного препарата показаны более значительные отклонения в значениях содержания нейромедиаторов.

Таким образом, исследуемые препараты имеют специфические эффекты в разных моделях ишемии/гипоксии мозга на нейромедиаторный баланс, что, вероятно, имеет отражение и на поведенческие реакции организма животных, находящихся на разных этапах онтогенетического развития.

В следующем разделе представлены результаты исследования эффектов пептидов на поведенческие и нейрохимические показатели устойчивости 18-месячных крыс к ишемии/гипоксии мозга.

#### **4.3. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга крыс 18 месяцев**

Процент выживаемости 18-месячных крыс при введении пептидных препаратов и моделировании ишемии/гипоксии мозга был выше, чем в моделях окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии (табл. 54). Наименьший процент гибели крыс при ОГГ был в условиях предварительного введения кортексина, наиболее высокий – при введении пинеалона. Процент гибели 18-месячных крыс при окклюзии сонных артерий в условиях введения кортексина/пинеалона составил 33,3%, а при введении дельтарана – 30%. Столь незначительная разница в показателях гибели крыс в этих группах дает основание утверждать, что данные пептидные препараты имеют сходную эффективность на показатель выживаемости при ишемии/гипоксии мозга животных.

Таблица 54

#### **Влияние пептидных препаратов на выживаемость 18-месячных крыс в моделях острой гипоксической гипоксии и окклюзии сонных артерий (M±m)**

Группы	Процент гибели крыс, %
ОГГ (n=30)	43,3
ОСА (n=30)	60
Кортексин + ОГГ (n=30)	20
Кортексин +ОСА (n=30)	33,3
Пинеалон +ОГГ (n=30)	26,6
Пинеалон + ОСА (n=30)	33,3
Дельтаран + ОГГ (n=30)	23,3
Дельтаран +ОСА (n=30)	30

У выживших после ОСА старых крыс оценивали влияние операции и

предварительного введения препаратов на поведенческие показатели в тесте «открытое поле».

### **4.3. Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга крыс 18 месяцев**

#### **4.3.1. Влияние кортексина и пинеалона на поведение 18-месячных крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий**

В группе животных, подвергнутых окклюзии сонных артерий, наблюдали значительное снижение времени на потребление пищи (на 86%) и мелкую двигательную активность (на 30%) относительно ложноперирированных крыс.

При подсчете количества горизонтальных и вертикальных локомоций было установлено, что у животных, подвергнутых окклюзии сонных артерий, происходило значительное снижение количества вертикальных стоек (на 70%;  $p < 0,05$ ) по сравнению с группой ложноперирированных крыс.

Для оценки влияния пептидов, введенных перед окклюзией сонных артерий, на поведение крыс исследовали их эффекты на поведение ложноперирированных животных (табл. 55, рис. 39). Нужно отметить, что характер поведенческих реакций у ложноперирированных животных был сходным с интактными животными.

Введение кортексина ложноперирированным крысам способствовало снижению времени на груминг (на 55%) относительно контроля. Еще более выраженное изменение времени на груминг выявлено при введении пинеалона ложноперирированным животным (табл. 55).

Понижение времени на груминг при введении пептида можно объяснить повышением стрессустойчивости животных. Известно, что именно у грызунов груминг специфически активизируется при действии стресса, и поэтому считается одним из его поведенческих маркеров (Celis, Torre, 1993). Биологический смысл этого не совсем ясен, поскольку при стрессе, обычно наблюдают общий двигательный дефицит, реакцию «затаивания».

Предполагают, что при стрессе у животных снижается мотивация взаимодействия с окружающим миром, приводя к чрезмерной самоакцентированности животного (Stone et al., 1995 a, b, c).

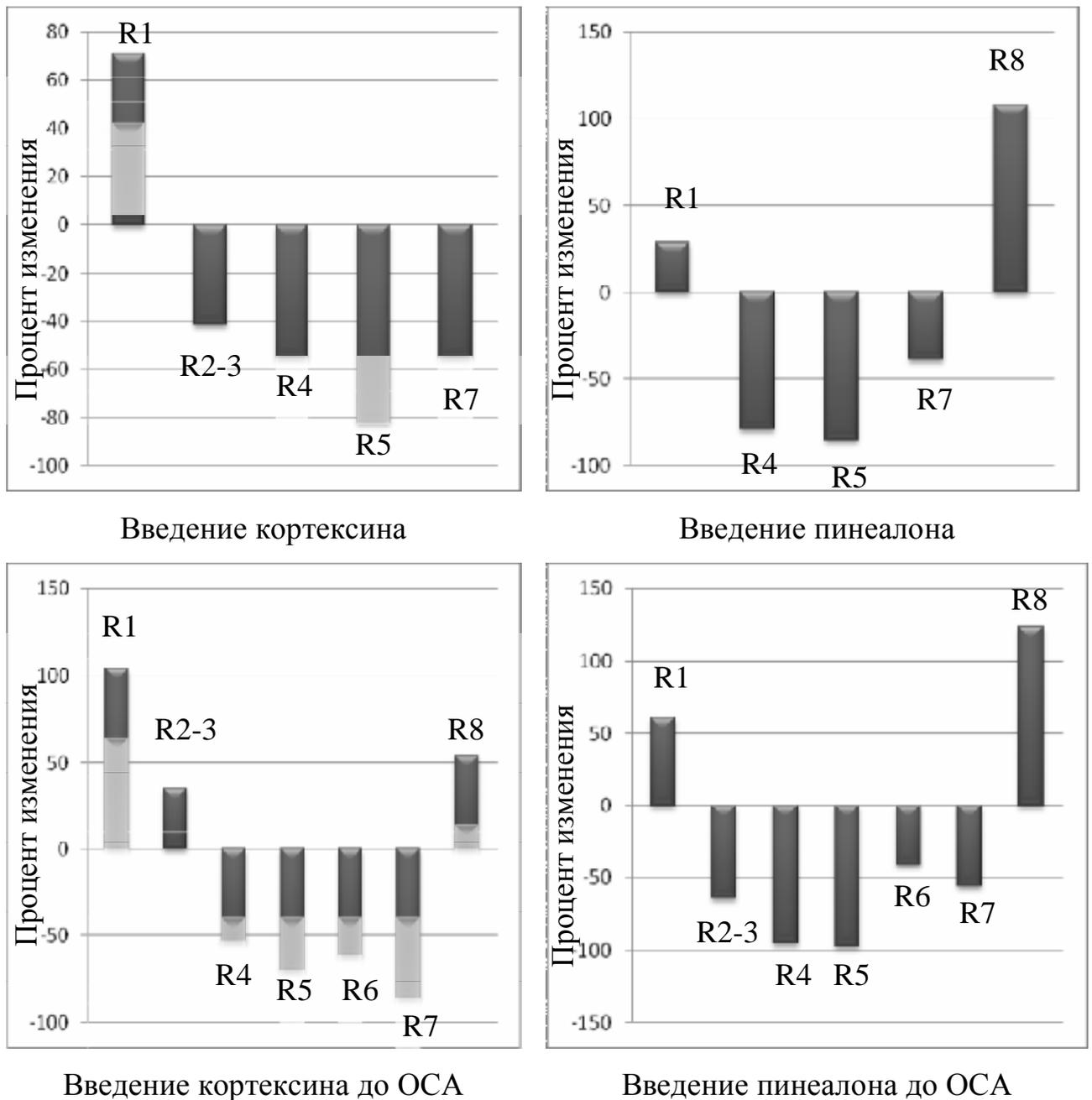


Рис. 39. Достоверные изменения в структуре поведения (при  $p < 0,05$ ) при введении пептидных препаратов у 18-месячным крысам в модели острой гипоксической гипоксии относительно контроля

Поэтому можно было бы ожидать, что на фоне снижения времени груминга под воздействием введения препаратов произойдет увеличение

исследовательской активности. Тем не менее, количество вертикальных и горизонтальных, так и время, затраченное на реализацию данных форм поведения, при введении кортексина и пинеалона не отличалось от контрольного уровня.

При введении пинеалона выявлено увеличение времени релаксированного бодрствования (на 108%,  $0,05 < p < 0,1$ ) животных по сравнению с контрольной группой. Потребление воды и пищи, а также мелкая двигательная активность животных под влиянием препаратов значимо не изменялись. Тем не менее, необходимо отметить, что при введении пинеалона выявлена тенденция к достоверности снижения потребления пищи и воды.

При сравнении эффектов препаратов на поведение старых животных было показано следующее (рис. 40). У животных, которым вводили пинеалон, время, потраченное на потребление воды, было меньше на 54%, а на груминг и релаксированное бодрствование – выше, соответственно, на 37% и 119% относительно животных, которым вводили кортексин. На другие формы поведения введение препаратов повлияло сходным образом.

Далее представлены результаты исследования эффектов кортексина и пинеалона на поведение старых крыс, которым моделировали ОСА (табл. 55). При введении кортексина перед моделированием окклюзии сонных артерий происходило значительное увеличение поведенческого сна у животных относительно контрольной группы. Относительно второй группы животных (ОСА) у крыс, которым перед операцией вводили кортексин, наблюдали снижение времени исследовательского поведения по сравнению с контролем на 65% и относительно второй группы животных на 74%.

Также у крыс пятой группы (кортексин + ОСА) выявлено и уменьшение количества вертикальных (на 68%) и горизонтальных локомоций (на 73%), времени, затраченного на мелкую двигательную активность (на 60%) и груминг (на 86%). По сравнению со второй группой

животных у крыс пятой группы выявлено изменение времени, затраченного на поведенческий сон (+59%) и груминг (-80%).

У крыс, которым вводили пинеалон перед ОСА, время на поведенческий сон также изменилось по сравнению с ложнооперированными животными (на +61%), как и у пятой группе животных. Также возросло время релаксированного бодрствования относительно контрольной группы (на 126%). Время остальных форм поведения, напротив, снизилось относительно первой группы: время исследовательской активности – на 64%, потребления воды – на 95%, потребления пищи – на 97%, мелкой двигательной активности – на 41% и груминга – на 56%.

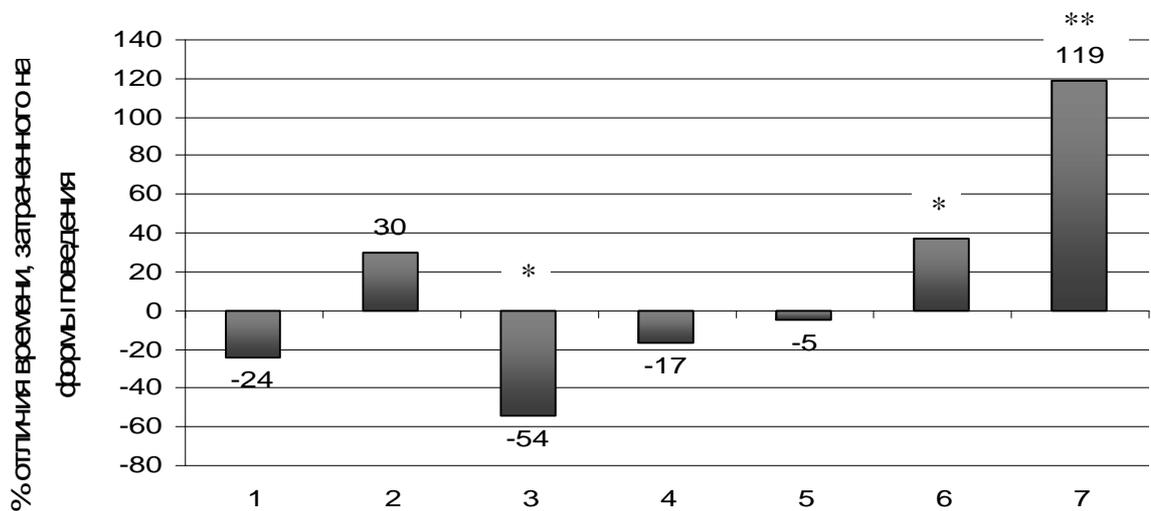


Рис. 40. Отличие эффектов пинеалона от кортексина на реализацию поведенческих реакций старых крыс

Обозначения: 1 - R1; 2 - R2-R3; 3 - R4; 4 - R5; 5 - R6; 6 - R7; 7 - R8

\* -  $0,1 < p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,05$ .

Также выявлено некоторое уменьшение количества вертикальных стоек у крыс шестой группы (пинеалон + ОСА) по сравнению с ложнооперированными животными.

**Влияние окклюзии сонных артерий и пептидных препаратов на представленность основных форм поведения 18-  
месячных крыс (расчет на 60 минут; в сек., М±m)**

Формы повед./ Серии	R1 Повед. сон	R2 Гор. лок.	R3 Верт. лок.	R4 Потр. воды	R5 Потр. пищи	R6 Мелкая двиг. акт.	R7 Грумминг	R8 Релакс. бодр.
Л/О, % от общего времени	1181,3±294,4 33%, p<0,05	190,0±60,9 5,3%		108,8±35,9 3%	252,5±97, 1 7%	838,0±39,5 23% p<0,05	654,0±3,6 18%	375,0±57,5 10%
ОСА, % от общего времени	1518±180 42%, p<0,05	252,0±87,8 7%		54,0±32,4 1,5%	36,0±22,1 1%	591,0±75,7 16%	438,0±105, 0 12%	711,0±288,6 20%
Кортексин +л/о, % от общего времени	2017,5±499,5 56%, p<0,05	112,5±37,5 3%		48,8±38,9 1,4%	45,0±28,7 1,3%	727,5±269,8 20%	292,5±140, 8 8%	356,3±141,3 10%
Пинеалон + л/о, % от общего времени	1522,5±289,1 42%, p<0,05	146,3±68,8 4%		22,5±17,9 0,6%	37,5±37,5 1%	690,0±162,6 19%	401,3±58,5 11%	780,0±192,4 22%, p<0,05
Кортексин +ОСА, % от общего времени	2412,0±109,5 67%, p<0,05	66,0±18,7 2%		51,0±29,9 1,4%	75,0±75,0 2%	330,0±99,6 9%	90,0±28,5 2,5%	576,0±192,4 16%
Пинеалон + ОСА, % от общего времени	1902±200,4 53%, p<0,05	67,5±17,6 2%		5,0±5,0 0,1%	7,5±7,5 0,2%	495,0±99,7 14%	287,5±82,6 8%	835,0±160,2 23%

При сравнении со второй группой животных у крыс, которым перед окклюзией сонных артерий вводили пинеалон, изменения изученных форм поведения были статистически недостоверными.

Интересно отметить, что у крыс шестой группы (пинеалон + ОСА) относительно животных пятой группы (кортексин + ОСА) было угнетено пищевое (на 90%) и питьевое поведение (на 90%). В последние два десятилетия появились исследования, показывающие роль ряда пептидов и медиаторов нервной системы в регуляции потребления пищи. В том числе, установлено, что при повышении активности катехоламинов в центральной нервной системе пищевое поведение снижается. На этом принципе построено применение анорексигенных препаратов, агонистов катехоламинов (Serrano et al., 2011).

Показано, что при повышении уровня серотонина в гипоталамических структурах возникает чувство сытости и пищевое поведение снижается, а при уменьшении – наоборот повышается. Наиболее отчетливо повышение уровня серотонина наблюдается после употребления пищи богатой углеводами или белками и связано это с особенностями обмена и прохождения через гематоэнцефалический барьер предшественника серотонина аминокислоты триптофана (Halford, Harrold, 2012; Thomsen W.J. et al., 2008).

Наряду с катехоламинами и серотонином известен еще ряд веществ, так или иначе влияющих на пищевое поведение: нейропептид-У, холецистокинин, лептин, кортикотропин-релизинг-фактор, эндорфины, некоторые аминокислотные последовательности фрагментов молекулы АКТГ и др. Их влияние на потребление пищи различно. Снижение потребления пищи связывают с лептином и холецистокинином, а повышение - с нейропептидом У и эндогенными опиатами эндорфинами (Bakkali-Kassem et al., 2011; Costa-e-Sousa et al., 2011; Kamijo et al., 2011).

Кроме того, известно, что в состоянии сытости вентромедиальные ядра находятся в активном состоянии и осуществляют сдерживающую импульсацию на латеральную область гипоталамуса. В этот момент пищевое

поведение угнетено. При этом транспорт глюкозы в нервные клетки вентромедиальных ядер гипоталамуса является инсулинзависимым. Это означает, что на уровне вентромедиальных ядер оценивается не только концентрация глюкозы в крови, но и ее метаболическая доступность (King et al., 1996).

Проблема регуляции питьевого поведения также очень сложна. Известно, что между питьевым и пищевым поведением имеются сложные взаимодействия.

При этом длительность реализации центрального этапа поведенческого акта, в наибольшей степени связанного с удовлетворением питьевой мотивации, - время потребления порции воды, в наибольшей степени связано с нейрофизиологическими процессами подкрепления, в частности, - активацией эндогенных опиоидных систем. Существуют тесные функциональные взаимоотношения эндогенных ренин-ангиотензиновой и опиоидных систем организма в реализации питьевого поведения (Vodnar, 2011).

Таким образом, можно предполагать, что сниженное время пищевого и питьевого поведения у животных, которым до ОСА вводили пинеалон, относительно крыс, которым вводили кортексин перед стрессовым воздействием, возникает в результате изменения нейромедиаторного баланса и изменения активности нейропептидных систем. В том числе, вероятно, происходит понижение активности опиоидных систем и возрастания содержания моноаминов в гипоталамической области.

На этом фоне также выявлено, что у крыс шестой группы (пинеалон + ОСА) были активированы мелкая двигательная активность и груминг относительно животных пятой группы (кортексин + ОСА).

Известно, что груминг тесно коррелирует с двигательной активностью. Поскольку после перенесенной ОСА эти формы поведения у животных угнетаются, то можно утверждать, что активация груминга и мелкой двигательной активности у крыс шестой группы есть проявление

антистрессорных эффектов пинеалона. Подобные наблюдения затрагивают вопрос о возможном адаптивном значении груминга в противовес традиционным представлениям о том, что данная форма поведения является показателем стресса и тревоги.

Кроме влияния стресса на поведение было проведено сравнение структуры поведения у животных разных возрастов, которые составляли контрольные группы.

Показано, что с возрастом у животных значительно повышается время поведенческого сна: время R1 у 21-дневных животных было в 11,3 раза меньше, чем у 18-месячных крыс. Ориентировочное поведение у 3-4-месячных крыс снижается по сравнению с 21-дневными, но к 18 месяцам у животных вновь наблюдается повышение горизонтальной и вертикальной локомоторной активности (рис. 41-43).

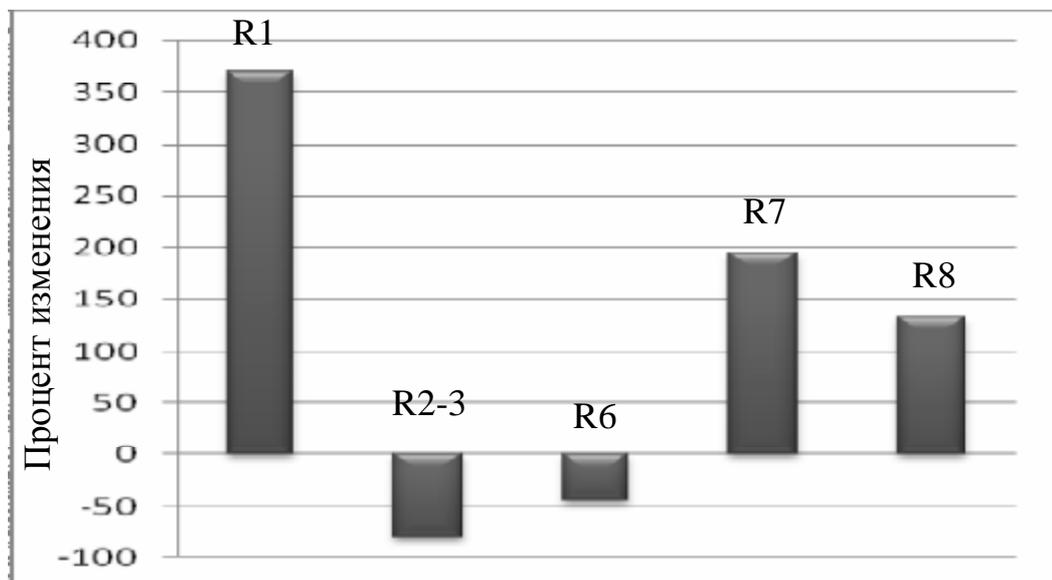


Рис. 41. Изменение отдельных форм поведения у 3-4-месячных крыс относительно 21-дневных животных (при  $p < 0,05$ )

Питьевое поведение наиболее выражено у животных 18-месяцев. Мелкая двигательная активность снижена у крыс в 3-4- и 18-месячном возрасте относительно 21-дневных животных. Время груминга в структуре поведения взрослых животных значительно повышается относительно 21-дневных, особенно, у 3-4-месячных крыс. Представленность

релаксированного бодрствования наиболее выражена у животных 3-4-месяцев, а у 21-дневных крыс время данной формы поведения ниже, чем в других возрастных группах.

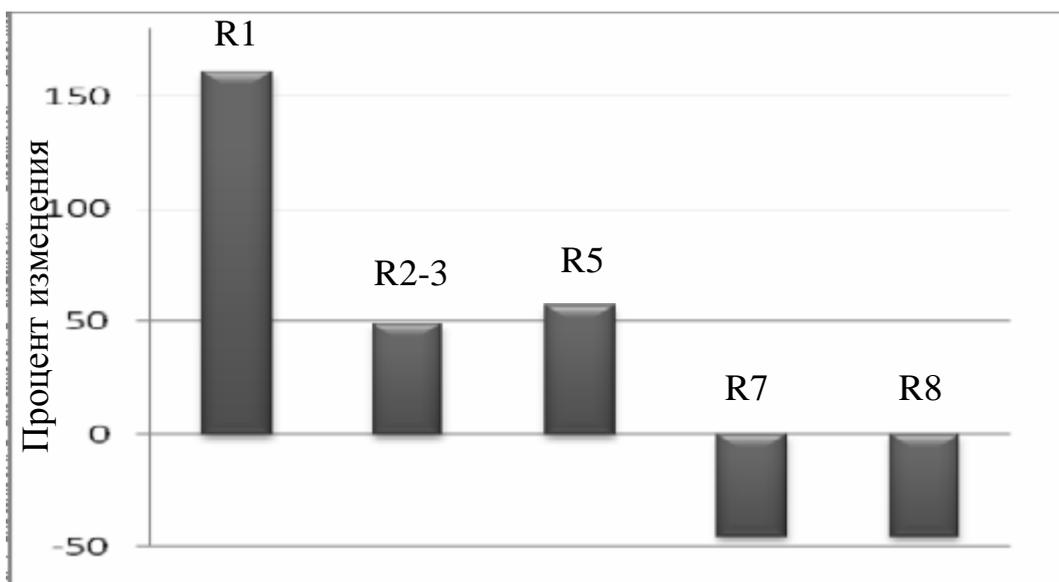


Рис. 42. Изменение отдельных форм поведения у 18-месячных крыс относительно 3-4-месячных животных (при  $p < 0,05$ )

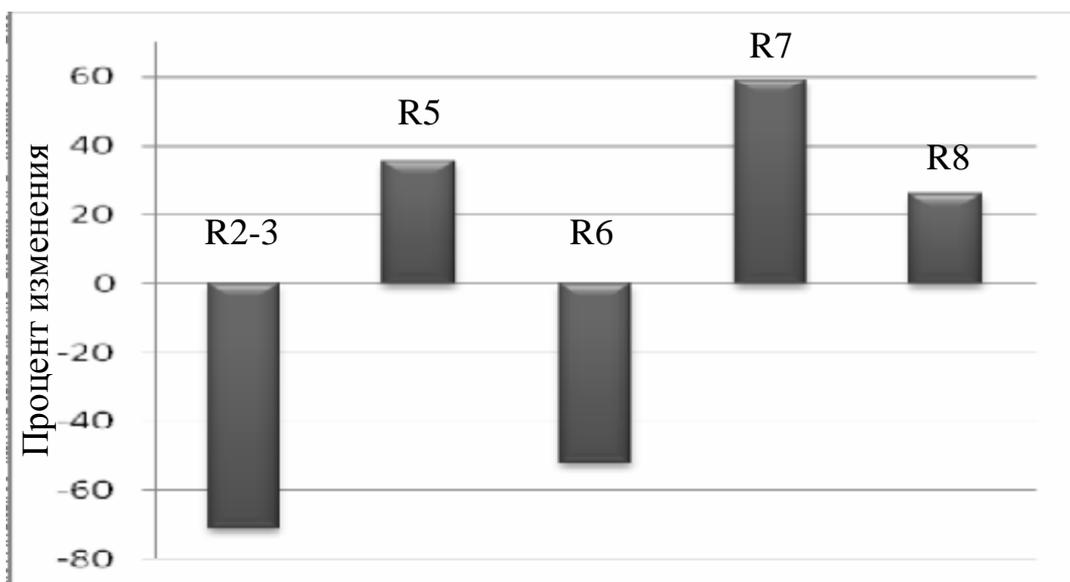


Рис. 43. Изменение отдельных форм поведения у 18-месячных крыс относительно 21-дневных животных (при  $p < 0,05$ )

Считают, что нейрохимическим отражением поведенческих реакций является изменение нейромедиаторного баланса в структурах мозга. Далее представлены результаты исследования эффектов кортексина и пинеалона на

содержание моноаминов в мозге 18-месячных крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий.

#### 4.3.2. Влияние пептидных препаратов и острой гипоксической гипоксии на латентное обучение 18-месячных крыс

У 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии, как было указано выше, время поиска скрытой платформы было достоверно выше, чем в контрольной группе животных (табл. 56).

Таблица 56

#### Результаты исследования когнитивной функции 18-месячных крыс в водном лабиринте Морриса при воздействии острой гипоксической гипоксии и введении пептидных препаратов (сек., $M \pm m$ )

Сумма 4-х попыток	1 день тестирования	2 день тестирования	3 день тестирования
Контроль, физ.р-р (n=8)			
(n=32)	34,78±1,12	5,34±0,22*	9,16±0,42*
Физ.р-р + гипоксия (n=8)			
(n=32)	43,03±2,05#	15,03±0,67*,#	16,67±0,74*,#
Кортексин (n=8)			
(n=32)	33,11±0,97#●	21,44±0,94*,#●	16,01±0,76*,#
Кортексин + гипоксия (n=8)			
(n=32)	53,33±2,14#●	14,42±0,64*,#	10,58±0,47*●
Пинеалон (n=8)			
(n=32)	47,42±2,32#	23,91±1,10*,#●	9,51±0,38*●
Пинеалон + гипоксия (n=8)			
(n=32)	56,78±2,41#●	30,89±1,48*,#●	7,33±0,32*,#●
Дельтаран (n=8)			
(n=32)	32,63±1,36●	11,08±0,47*,#●	10,56±0,42*●
Дельтаран + гипоксия (n=8)			
(n=32)	47,62±1,54#	25,49±1,27*,#●	7,21±0,28*,#●

**Примечание:** \* – достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение времени поиска платформы относительно 1-го дня тестирования, # - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно контроля; ● - достоверные ( $p < 0,05$ ) отличия показателей относительно группы крыс в модели ОГГ.

Предварительное введение кортексина перед гипоксической гипоксией способствовало понижению времени поиска скрытой платформы животными на третий день тестирования на 37% ( $p < 0,05$ ) относительно крыс в модели ОГГ. При введении пинеалона крысам, которым моделировали острую гипоксическую гипоксию, снижение времени поиска скрытой платформы

наблюдали на 3-й день тестирования на 56% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с животными в модели ОГГ (табл. 56).

В контрольной группе 18-месячных крыс время поиска скрытой платформы в первый день эксперимента было на 22% ( $p < 0,05$ ) выше, но на 2-й день тестирования – ниже на 54% ( $p < 0,05$ ) уровня 3-4-месячных крыс контрольной группы. К 3-му дню эксперимента данный показатель у крыс разного возраста контрольных групп (3-4- и 18-месяцев) не различался. Возможно, это связано с возрастными особенностями адаптивных возможностей нервной системы: с возрастом происходит снижение реактивности нейрохимических систем в ответ на воздействие. Это подтверждают результаты исследования латентного обучения крыс разного возраста в условиях острой гипоксической гипоксии. К 3-му дню эксперимента показатель обучаемости у молодых и старых животных не различался, тогда как в течение первых 2-х дней тестирования динамика изменения времени поиска скрытой платформы была сходной с контрольными группами животных разного возраста.

В то же время эффекты пептидных препаратов на латентное обучение 18-месячных животных при введении кортексина и пинеалона была сходной с таковой 3-4-месячных крыс при введении данных пептидных препаратов. Нужно отметить, что введение трипептида 18-месячным крысам способствовало повышению времени скрытой платформы на 1 день эксперимента относительно контрольной группы 18-месячных животных, но к 3-м суткам данный показатель не различался в этих группах. В то же время скрытой платформы у старых животных, которым вводили кортексин, было выше на 2-й и 3-й день тестирования относительно контрольной группы старых животных, соответственно, на 301% ( $p < 0,001$ ) и 75% ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, установлены возрастные отличия эффектов кортексина и пинеалона на обучение крыс в лабиринте Морриса. Предположительно, это связано с разным уровнем метаболических процессов в мозге старых и молодых крыс. Известно, что в норме с возрастом происходит снижение

выработки свободных радикалов на фоне низкой активности системы антиоксидантной защиты, а при патологических состояниях повышается прооксидантный статус и истощается антиоксидантная система защиты (Lu et al., 2004).

При введении дельтарана интактным 18-месячным крысам ко второму дню тестирования в лабиринте Морриса время скрытой платформы снизилось на 66% ( $p < 0,05$ ) относительно 1 дня эксперимента, к третьему дню выработки рефлекса данный показатель не изменился относительно вторых суток (табл. 56). По сравнению с контролем выявлено повышение времени поиска скрытой платформы только на второй день эксперимента. В отличие от группы крыс, которым вводили кортексин, установлены различия данного показателя на второй и третий день выработки рефлекса, а при сравнении с группой крыс, которым вводили пинеалон, только на второй день эксперимента.

В условиях предварительного введения дельтарана и острой гипоксической гипоксии также к третьим суткам эксперимента наблюдали достоверное снижение времени скрытой платформы до контрольного уровня. При этом показатель обучаемости на третьи сутки соответствовал контрольной группе, а также животным, которым до острой гипоксической гипоксии вводили пинеалон.

#### **4.3.3. Влияние кортексина и пинеалона на содержание моноаминов в структурах мозга 18-месячных крыс при окклюзии сонных артерий**

При анализе эффектов окклюзии сонных артерий на содержание моноаминов в структурах мозга старых крыс было показано следующее (рис. 44).

В коре больших полушарий выявлено значительное понижение уровня норадреналина (на 42%;  $p < 0,05$ ). В стволовых структурах снижение этого медиатора было несколько меньше, чем в коре больших полушарий, и составило 22% относительно контрольной группы крыс.

Уровень адреналина вырос как в коре больших полушарий (на 65%;  $p < 0,05$ ), так и стволовых структурах (на 154%;  $p < 0,01$ ).

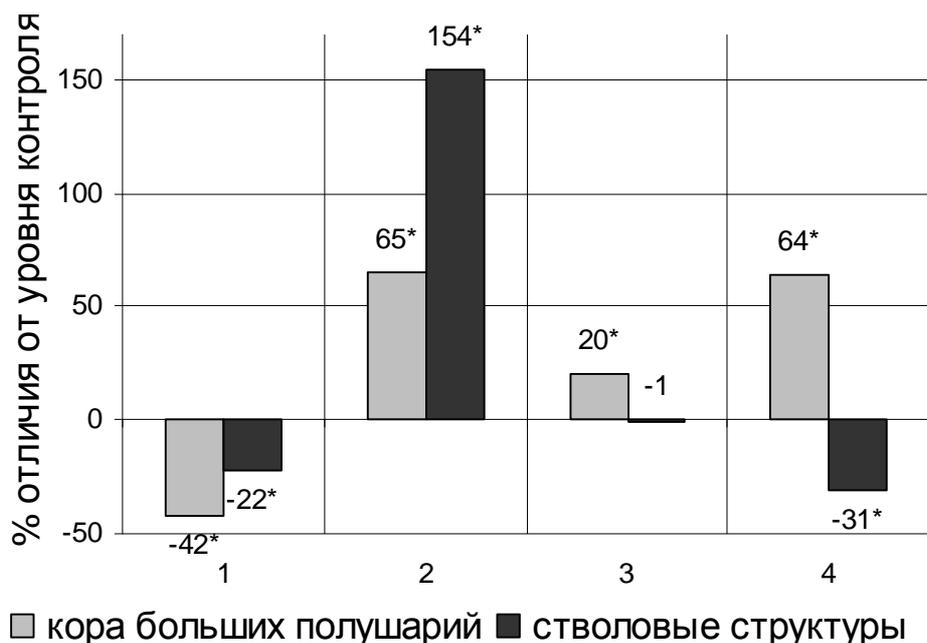


Рис. 44. Влияние окклюзии сонных артерий на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина в структурах мозга старых крыс

\* - данные статистически значимы по t-критерию Стьюдента по отношению к контролю (при  $p \leq 0,05$ )

Существует представление о том, что энергетический метаболизм в мозге регулируется через активацию  $\beta 2$ -адренорецепторов адреналином, а не норадреналином (Quistorff V. et al., 2008). Увеличение уровня адреналина в мозге способствует усилению гликогенолиза и гликолиза. Известно, что гликогенолиз, осуществляется при участии фосфоорилазы, которая активируется путем фосфорилирования при помощи АТФ. Автор сообщает, что окислительное карбоксилирование в условиях энергетического дефицита в мозге усиливается через  $\beta 2$ -адренергический механизм.

Ранее было установлено, что регуляция энергетического метаболизма осуществляется и норадреналином. Так, S. Sangiao-Alvarellos et al. (2011) установили, что увеличение уровня норадреналина в мозге приводит к снижению содержания гликогена и АТФ, увеличению уровня лактата и

пирувата, активности пируваткиназы и лактатдегидрогеназы, а также снижению активности фруктозо1,6-бифосфотазы. Вероятно, эффекты норадреналина на гликолиз и гликогенолиз опосредуются через активацию не  $\beta$ 2-, а другого типа адренорецепторов.

Таким образом, на фоне возрастания содержания адреналина в структурах мозга крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий, выявлено истощение норадреналина и дофамина. Дефицит норадренергической и дофаминергической систем проявляется в поведенческих реакциях (Исмайлова и др., 2007), который наблюдали и в проведенном исследовании.

Известно, что после выделения катехоламинов, когда их концентрация уменьшается в нервных терминалях, возрастает активность тирозингидроксилазы из-за уменьшения аллостерического ингибирования продуктом синтеза. При этом продуктом реакции гидроксирования тирозина при участии тирозингидроксилазы является дигидроксифенилаланин (ДОФА). Кофакторную функцию фермента выполняет тетрагидроптеридин. Этот фермент может ингибироваться некоторыми производными тирозина (дофамином, норадреналином) по принципу обратной отрицательной связи, а также альфа-метилтирозином. Альфа,альфа-дипиридил связывается с железом, удаляя кофактор и ингибируя фермент. Вероятно, наблюдаемое понижение содержания норадреналина и дофамина является результатом ингибирования этими медиаторами тетрагидроптеридина.

При изучении изменений соотношений нейромедиаторов под влиянием окклюзии сонных артерий у старых крыс было обнаружено следующее. Наблюдали значительное снижение индекса норадреналин/дофамин (НА/ДА) на 65% в коре больших полушарий, а также соотношения ДОФА/дофамин в стволовых структурах мозга на 44%.

Можно предполагать, что такое перераспределение активности катехоламинергических систем в структурах мозга 18-месячных крыс под влиянием окклюзии сонных артерий связано с изменением уровня

функционирования адренергических рецепторов.

Для исследования эффектов пептидных препаратов, введенных крысам перед окклюзией сонных артерий, была проведена серия эксперимента по изучению влияния кортексина и пинеалона на баланс нейромедиаторов в структурах мозга ложнооперированных животных.

При введении пептидных препаратов ложнооперированным животным происходили следующие изменения в содержании моноаминов (рис. 45-46). Под влиянием введения кортексина наблюдали повышение содержания ДОФА (на 13%;  $p \leq 0,05$ ) и дофамина (на 43%;  $p \leq 0,05$ ) в коре больших полушарий. В то же время в стволовых структурах отмечено снижение содержания дофамина на 20% относительно контрольной группы животных. Следовательно, основной «точкой приложения» действия кортексина является дофаминергическая система.

Нужно отметить, что соотношения норадреналин/дофамин и ДОФА/дофамин снизились в коре больших полушарий, соответственно, на 31% и 21% ( $p \leq 0,05$ ). В то же время в стволовых структурах эти индексы увеличились, соответственно, на 39% и 21% ( $p \leq 0,05$ ). Таким образом, можно предположить, что под влиянием кортексина усиливается стимуляция коры больших полушарий подкорковыми структурами вероятно, через таламокортикальную систему, медиатором нервных терминалей которых является дофамин. Это, в свою очередь, может способствовать активации ГАМКергической системы в коре больших полушарий, чем можно объяснить некоторое повышение времени поведенческого сна на фоне снижения потребления пищи, воды, мелкой двигательной активности и груминга у экспериментальных животных относительно контроля.

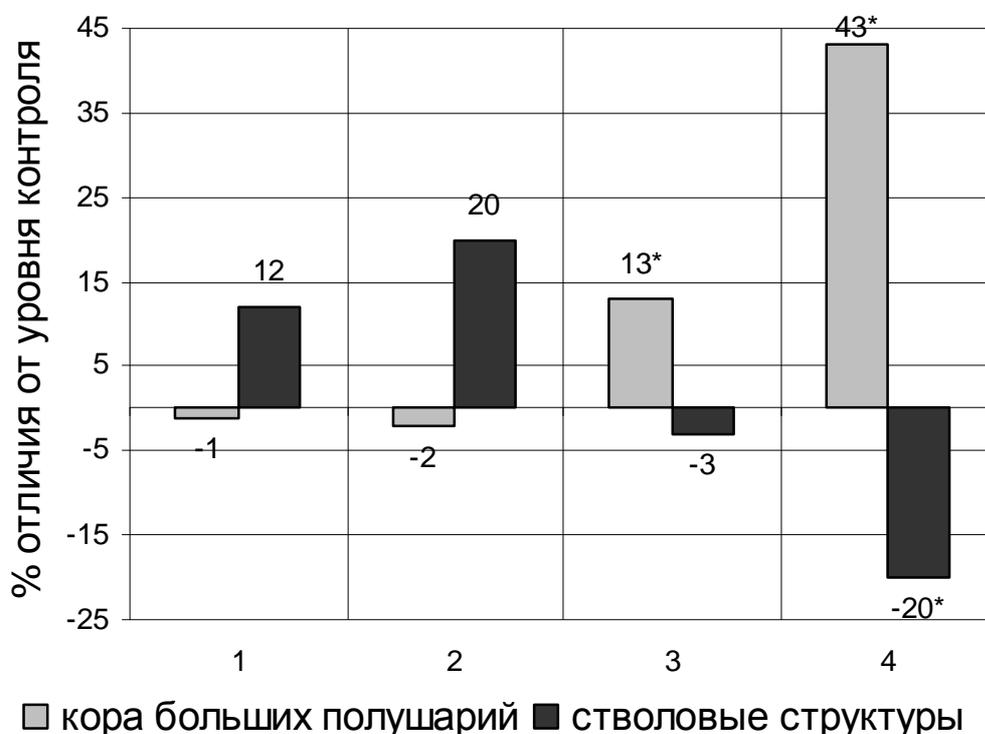


Рис. 45. Влияние кортексина на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина в структурах мозга 18-месячных крыс

\* - данные статистически значимы t-критерий Стьюдента по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

При введении пинеалона выявлено увеличение уровня адреналина как в коре больших полушарий (на 27%), так и в стволовых структурах (на 43%). Также в коре больших полушарий установлено возрастание содержания дофамина на 40% относительно контроля.

Поскольку с возрастом происходит снижение энергетического метаболизма во всем организме и в мозге, в частности, то возрастание содержания адреналина в мозге старых крыс может косвенно свидетельствовать о повышении его энергообеспечения под влиянием пинеалона.

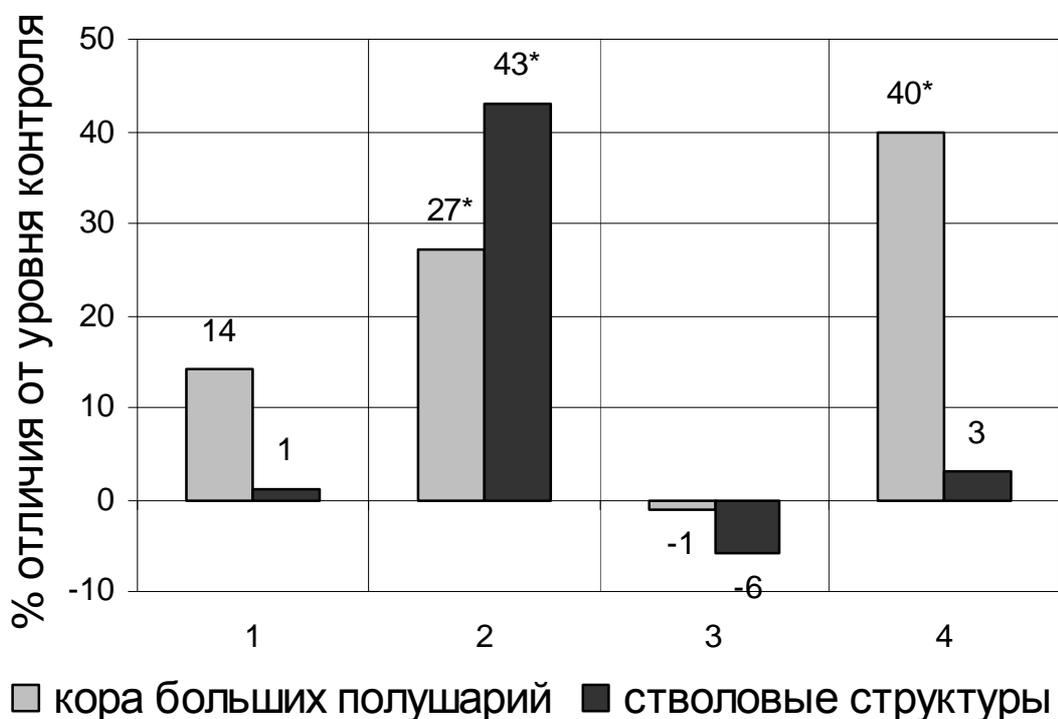


Рис. 46. Влияние пинеалона на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина в структурах мозга старых крыс

\* - данные статистически значимы t-критерий Стьюдента по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

На этом фоне повышение энергетического метаболизма в мозге может приводить к наблюдаемому в поведенческом эксперименте снижению пищевого и питьевого поведения под влиянием пинеалона.

Кроме того, вероятно, как и кортексин, пинеалон оказывает седативный эффект через активацию таламокортикальной системы, что способствует повышению релаксированного бодрствования и снижению двигательной активности в основном груминга относительно контрольной группы животных. Так в коре больших полушарий старых крыс под влиянием введения пинеалона выявлено значительное снижение индекса ДОФА/дофамин на 29% по сравнению с контролем.

Следовательно, как кортексин, так и пинеалон способствуют активации дофаминергической системы в коре больших полушарий мозга старых ложнооперированных крыс. Однако кортексин реализует свои эффекты и

через повышение активности этой системы в стволовых структурах мозга, а пинеалон – через увеличение адреналина и, вероятно, увеличение энергетического метаболизма в мозге крыс.

Далее представлены результаты исследования эффектов препаратов пептидной природы на содержание катехоламинов в структурах мозга старых крыс, находящихся в условиях окклюзии сонных артерий.

Как следует из представленных на рисунке 47 результатов, в коре больших полушарий крыс пятой группы (кортексин +ОСА) происходило изменение содержания ДОФА и дофамина в сторону их накопления относительно контрольной группы животных.

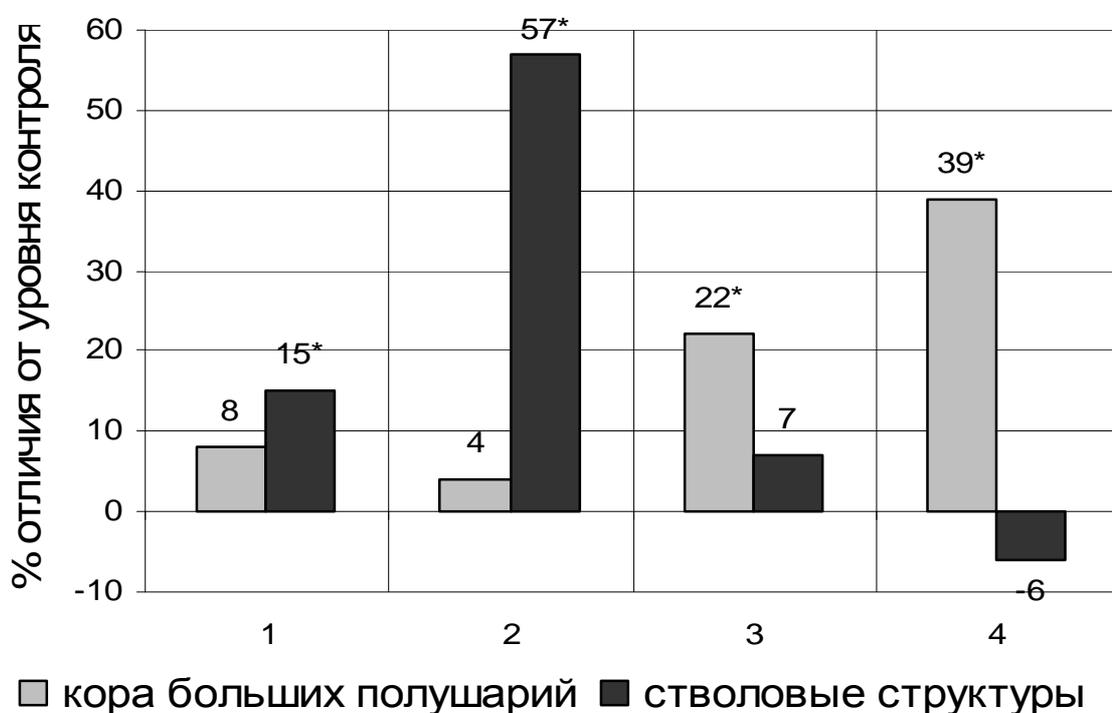


Рис. 47. Влияние введения кортексина перед окклюзией сонных артерий на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина в структурах мозга старых крыс

\* - данные статистически значимы ( $p \leq 0,05$ ) по отношению к контролю

В стловых структурах мозга крыс пятой группы выявлено увеличение уровня норадреналина (на 15%;  $p \leq 0,05$ ) и адреналина (на 57%;  $p \leq 0,05$ ) по сравнению с первой группой.

Анализ результатов сравнения соотношений медиаторов показал, что в коре больших полушарий животных пятой группы происходило снижение индекса норадреналин/дофамин на 22% ( $p \leq 0,05$ ), а в стволовых структурах, напротив, выявлено возрастание данного соотношения на 21% ( $p \leq 0,05$ ) относительно ложноперирированных крыс. Следовательно, в структурах мозга крыс, которым вводили кортексин перед моделированием окклюзии сонных артерий, происходило изменение функциональной активности медиаторных систем в сторону активации норадренергической в коре больших полушарий, а дофаминергической – в стволовых структурах.

Существуют данные, согласно которым дофамин может оказывать стресс-лимитирующее действие в условиях стрессового воздействия. В том числе, агонисты дофаминовых D2- и D3-рецепторов обеспечивают защитное действие кортикальных олигодендроцитов при энергетическом дефиците и от токсического воздействия глутамата (Seif-El-Nasr M. et al., 2008). Протективный эффект оказывает дофамин и агонисты D4-рецепторов при ишемическом повреждении, травме мозга, нейродегенеративных заболеваниях (Ishige et al., 2001).

В свою очередь норадреналин также выполняет защитную функцию в низких концентрациях (0,3-10 мкМоль). В этом случае происходит повышение выживаемости дофаминергических нейронов. Интересно отметить, что данный эффект связывают с ингибированием каспаз. Причем действие норадреналина не связано с уровнем активности адренорецепторов, активностью ферментов глутатионовой системы, но оно схоже с эффектами некоторых антиоксидантов. Авторы утверждают, что норадреналин в указанных концентрациях сам может выступать в качестве антиоксиданта (Troadek et al., 2002).

То есть, наблюдаемое в эксперименте достоверное но не чрезмерное повышение содержания норадреналина в коре больших полушарий крыс, которым вводили кортексин перед моделированием ОСА, может быть критерием эффективности действия препарата при стрессе, направленное на

снижение интенсивности свободнорадикальных процессов.

Нужно отметить, что у животных пятой группы (кортексин + ОСА) по сравнению с ложнооперированными крысами, которым вводили данный препарат, выявлено возрастание уровня адреналина в стволовых структурах на 57%. Содержание остальных медиаторов в мозге крыс пятой группы соответствовало уровню животных третьей группы.

При сравнении со второй группой крыс (ОСА) в пятой группе животных происходило накопление норадреналина (на 87%;  $p \leq 0,05$ ) и снижение содержания адреналина (на 36%;  $p \leq 0,05$ ) в коре больших полушарий. В столовых структурах крыс пятой группы выявлены сходные изменения норадреналина и адреналина, а также отмечали накопление дофамина (на 36%;  $p \leq 0,05$ ) относительно животных второй группы.

Исходя из полученных результатов, можно предполагать, что при окклюзии сонных артерий с предварительным введением кортексина его действие направлено на сохранение энергетических ресурсов, что реализуется через эффекты на функциональное состояние медиаторных систем и поведенческие реакции.

Это подтверждают данные литературы, согласно которым кортексин регулирует процессы перекисного окисления липидов в клетках головного мозга, снижает образование свободных радикалов, блокирует процессы свободнорадикального окисления. Данный препарат устраняет дисбаланс тормозных и возбуждающих аминокислот, обладает умеренным ГАМКергическим действием (Рыжак и др., 2003).

Далее представлены результаты исследования эффектов пинеалона на медиаторный баланс старых крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий.

У животных в модели «пинеалон + ОСА» выявлено накопление ДОФА и дофамина в коре больших полушарий, соответственно, на 22% ( $p \leq 0,05$ ) и 37% ( $p \leq 0,05$ ) относительно первой группы крыс. Тогда как в стволовых структурах крыс шестой группы установлено увеличение содержания адреналина на 55% ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с контролем (рис. 48).

При этом изменение соотношений медиаторов обнаружено только в коре больших полушарий, где произошло снижение индекса норадреналин/дофамин на 27% ( $p \leq 0,05$ ).

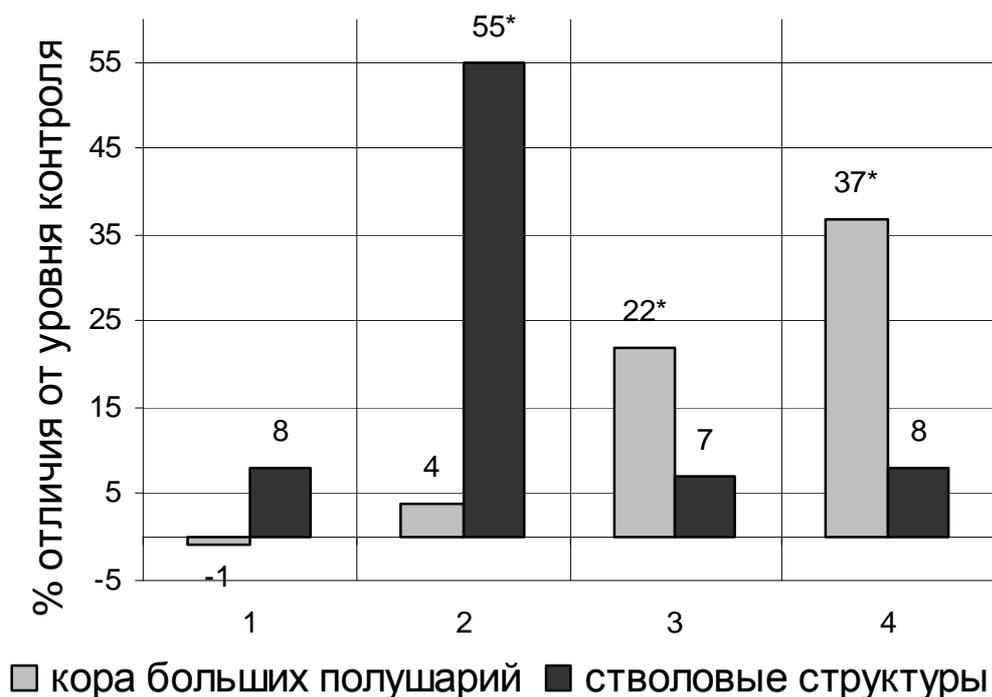


Рис. 48. Влияние введения пинеалона перед окклюзией сонных артерий на содержание норадреналина (1), адреналина (2), ДОФА (3) и дофамина в структурах мозга старых крыс

\* - данные статистически значимы по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Относительно крыс второй группы (ОСА) у животных шестой группы наблюдали накопление норадреналина на 71% ( $p \leq 0,05$ ) и снижение уровня адреналина на 37% ( $p \leq 0,05$ ) в коре больших полушарий. Ранее уже было выдвинуто предположение, что в условиях окклюзии сонных артерий, как модели нарушения мозгового кровообращения, данное перераспределение в содержании норадреналина и адреналина в мозге может быть отражением энергосберегающего действия препарата.

В микромолярных концентрациях норадреналин выступает в качестве антиоксиданта, препятствуя развитию окислительного стресса, и,

соответственно, угнетает каскад реакций, направленных на развитие процессов нейротоксичности и нейрональной гибели (Troadee J.D. et al., 2002).

Это также косвенно можно объяснить повышением в коре больших полушарий крыс индексов норадреналин/дофамин и ДОФА/дофамин шестой группы, соответственно, на 103% ( $p \leq 0,01$ ) и 22% ( $p \leq 0,05$ ), а также снижением соотношения ДОФА/дофамин в стволовых структурах на 30% относительно животных второй группы (ОСА).

Нужно отметить, что у животных шестой группы (пинеалон + ОСА) относительно ложноперирированных крыс, которым вводили пинеалон, установлены изменения только в коре больших полушарий: содержание адреналина было ниже на 18% ( $p \leq 0,05$ ), а ДОФА – выше на 24% ( $p \leq 0,05$ ).

Но при этом содержание адреналина у крыс шестой группы в структурах мозга соответствовало контрольному уровню. Тогда как содержание ДОФА превышало этот уровень. Можно предположить, что в основе этих изменений лежит активация процесса гидроксирования тирозина при участии тирозингидроксилазы, продуктом реакции которой является дигидроксифенилаланин (ДОФА). Это происходит после того, как выделение катехоламинов сменяется уменьшением их концентрации в нервных терминалях, а, следовательно, понижается аллостерическое ингибирование тирозингидроксилазы продуктом синтеза. Действительно, у крыс шестой группы установлено возрастание индекса ДОФА/дофамин на 26% ( $p \leq 0,05$ ) в коре больших полушарий относительно животных четвертой группы (л/о + пинеалон).

Также нужно отметить, что относительно пятой группы животных (кортексин + ОСА) у крыс шестой группы (пинеалон + ОСА) выявлено накопление дофамина в стволовых структурах. Поэтому значения индексов норадреналин/дофамин и ДОФА/дофамин у животных пятой группы были достоверно выше, чем у крыс шестой группы. Вероятно, с этим связано то,

что общий уровень двигательной активности животных шестой группы был выше относительно крыс пятой группы.

Известно, что нейропептиды, в частности, кортексин и пинеалон могут находиться в «биологически активной конформации», вступая при этом во взаимодействие с рецепторами. В такой конформации нейропептиды устойчивы к действию эндогенных протеаз, которые активируются под влиянием стрессового воздействия. Далее представлены результаты исследования активности каспазы-3 в структурах мозга старых крыс, которым вводили пептидные препараты до моделирования окклюзии сонных артерий.

#### **4.3.4. Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 в мозге и содержание интерлейкинов в сыворотке крови 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии**

С целью выявления отдельных механизмов, ответственных за адаптивные перестройки в структуре поведения у 18-месячных животных под влиянием предварительного введения препаратов перед ОГГ изучали активность и содержание активной каспазы-3 в структурах мозга (табл. 57).

В ходе исследования выявлены выраженные региональные особенности активации каспазы-3 в головном мозге крыс данного возраста в модели острой гипоксической гипоксии в условиях предварительного введения кортексина и пинеалона. Согласно полученным результатам через сутки после ОГГ происходило значительное повышение активности фермента как в коре (на 131%;  $p < 0,001$ ), так и в стволовых структурах (на 82%;  $p < 0,01$ ) мозга. Однако на содержание активной каспазы-3 ОГГ не влияла.

Введение кортексина не способствовало статистически значимым изменениям активности каспазы-3 у старых животных, тогда как содержание активной каспазы-3 значительно возросло в структурах мозга. Введение пинеалона вызывало повышение каспазной активности в коре больших

полушарий и стволовых структурах мозга старых животных на 34% и 27% ( $p \leq 0,05$ ), соответственно.

Известно, что каспаза-3 участвует не только в реализации апоптоза, но и во многих стадиях клеточного цикла и в процессах пролиферации (Waszak, Los, 2002 и др.). Недавние работы расширили представления о роли каспазы-3 в адапционных реакциях в ЦНС. Каспаза-3 является наиболее представленной цистеиновой протеазой в мозге и играет ключевую роль в синаптической пластичности благодаря участию в регуляции ряда сигнальных систем мозга, отвечающих за установление межнейронных связей, что важно для реализации адаптивных реакций на процесс старения.

Таблица 57

**Активность и содержание каспазы-3 (нг/г ткани) в структурах мозга 18-месячных крыс, подвергнутых острой гипоксической гипоксии ( $M \pm m$ )**

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
Активность каспазы-3		
1 группа - контроль, физ. р-р	0,82 ± 0,04	1,03 ± 0,14
2 группа - ОГГ	1,89 ± 0,06*	1,87 ± 0,31*
3 группа - кортексин	0,63 ± 0,08*	1,16 ± 0,21
4 группа - кортексин + ОГГ	0,92 ± 0,07	1,04 ± 0,16
5 группа - пинеалон	1,18 ± 0,12*	1,31 ± 0,13*
6 группа - пинеалон + ОГГ	0,99 ± 0,11	1,42 ± 0,38*
Содержание каспазы-3		
1 группа - контроль, физ. р-р	8,75 ± 0,34	8,93 ± 0,37
2 группа - ОГГ	8,50 ± 0,41	9,37 ± 0,45
3 группа - кортексин	13,54 ± 0,54*	15,42 ± 0,61*
4 группа - кортексин + ОГГ	11,78 ± 0,42	13,21 ± 0,55
5 группа - пинеалон	12,63 ± 0,61*	13,64 ± 0,63
6 группа - пинеалон + ОГГ	12,37 ± 0,58*	13,22 ± 0,50

**Примечание:** \* – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при  $p < 0,05$ .

В условиях предварительного введения кортексина перед ОГГ наблюдали снижение активности каспазы-3 в структурах мозга до уровня контрольных показателей. Введение пинеалона перед ОГГ способствовало снижению активности фермента в коре больших полушарий на 48% ( $p \leq 0,05$ ),

а в стволовых структурах на 24% ( $p \leq 0,05$ ) относительно группы животных в модели ОГГ. Однако в стволовых структурах активность фермента была выше (на 38%;  $p \leq 0,05$ ), чем в контроле. Но, принимая во внимание, что пинеалон способствовал значительному увеличению выживаемости животных и сохранению целостности поведенческих реакций у старых животных после ОГГ, можно предполагать, что умеренная активация каспазы-3 в стволовых структурах мозга является отражением пластических перестроек, направленных на повышение адаптационных реакций организма в ответ на стрессорное воздействие.

В настоящее время установлено, что активация каспаз может происходить не только за счет внеклеточных механизмов, но и в результате внутриклеточных процессов. Ведущую роль при этом играют митохондриальные факторы, в частности, цитохром *c*. Образование свободных радикалов является мощным индуктором апоптоза, основной исполнительной протеазой которого является каспаза-3 (Фильченков, 2003).

Таким образом, согласно результатам исследования эффектов пептидных препаратов на адаптационные реакции организма 18-месячных крыс, подвергнутых острой гипоксической гипоксии, было показано, что введение препаратов особенно, пинеалона перед ОГГ способствует повышению резистентности организма животных, как по показателю выживаемости, так и обучения в лабиринте Морриса. Более эффективными в данном плане являются пинеалон и дельтаран относительно кортексина.

Поскольку в настоящее время выявлены не только апоптотические функции каспазы-3 (Algeciras-Schimmich et al., 2002; Los et al., 2001), поиск связи между обучением и активностью данной протеазы представляет большой интерес.

Известно, что каспаза-3 участвует не только в реализации апоптоза, но и во многих стадиях клеточного цикла и в процессах пролиферации (Waszak, Los, 2002). Недавние работы расширили представления о роли каспазы-3 в адаптационных реакциях в ЦНС. Каспаза-3 является наиболее

представленной цистеиновой протеазой в мозге и играет ключевую роль в синаптической пластичности благодаря участию в регуляции ряда сигнальных систем мозга, отвечающих за установление межнейронных связей, что важно для реализации адаптивных реакций на процесс старения.

В условиях предварительного введения кортексина и пинеалона перед ОГГ в коре больших полушарий 18-месячных крыс активность каспазы-3 соответствовала контролю: в стволовых структурах животных, которым вводили пинеалон перед ОГГ обнаружено возрастание активности данной протеазы на 38% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы 18-месячных крыс.

Таким образом, выявленные возрастные особенности эффектов кортексина и пинеалона на латентное обучение можно объяснить протеазную активность в структурах мозга этих животных. Предположительно, у 3-4-месячных крыс кортексин оказывает влияние на систему каспазы-3 только в стволовых структурах (блокирует ее синтез или формирование активной формы протеазы из прокаспазы-3 на фоне повышения активности фермента), тогда как пинеалон значительно повышает содержание активной каспазы-3 в мозге на фоне менее выраженной активации протеазы в стволовых структурах относительно кортексина. В то же время у 18-месячных животных под влиянием кортексина происходит накопление содержания активной каспазы-3, а при введении пинеалона повышена ее активность в структурах мозга. В том или ином случае, повышение способности к обучению животных происходит на фоне изменения функционального состояния каспазы-3 в коре больших полушарий. В условиях острой гипоксической гипоксии предварительное введение пептидных препаратов способствует снижению эффектов стрессового фактора на протеолитическую активность и содержание активной каспазы-3, тем самым улучшая показатели латентного обучения 18-месячных и 3-4-месячных животных.

Предположительно, установленные эффекты пинеалона можно объяснить следующим. В одной стороны, аминокислотный состав пинеалона

(Glu-Asp-Arg) близок к составу RGD-последовательности каспазы-3 (аргинин-глицин-аспартат) вблизи активного ее центра, которая вовлечена во внутримолекулярное взаимодействие, придающее молекуле профермента конформацию, при которой протеазная активность снижена (Gulyaeva et al., 2003). С другой стороны, поскольку с возрастом происходит снижение активности каспазы-3 в мозге, повышение активности каспазы-3 в стволовых структурах под влиянием пинеалона может свидетельствовать об активации нейрогенеза (Tang et al., 2009) старых крыс относительно контроля. Также, известно, что аргинин-содержащие пептиды, к которым относится пинеалон, минимизируют проявления окислительного стресса и активируют систему «синтаза оксида азота – оксид азота» (Малахов и др., 2009), таким образом, снижая вероятность развития нейровоспалительных процессов.

Полученные результаты дают основание предположить, что при введении пинеалона 18-месячным крысам способствует в условиях гипоксии/ишемии повышению активности нейрогенеза и снижению нейровоспалительных реакций до уровня контроля. При введении кортексина при ОСА, напротив, снижается активность каспазы-3 относительно 3-й группы, но остается значительно повышенным содержание IL-6 по сравнению с контролем (табл. 58).

Таблица 58

**Влияние окклюзии сонных артерий и введения пептидных препаратов на содержание IL-6 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови старых крыс ( $M \pm m$ )**

Группа	IL-6, пк/мл	TNF- $\alpha$ , пк/мл
л/о	27,17 $\pm$ 1,06	90,89 $\pm$ 3,57
ОГГ	990,46 $\pm$ 43,17*	103,61 $\pm$ 4,36
Кортексин	53,92 $\pm$ 2,13*	82,51 $\pm$ 3,52
Кортексин+ОГГ	350,51 $\pm$ 11,65*	88,70 $\pm$ 3,11
Пинеалон	33,46 $\pm$ 1,43	93,31 $\pm$ 4,07
Пинеалон+ОГГ	34,13 $\pm$ 1,18	67,96 $\pm$ 2,95*

**Примечание:** \* – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при  $p < 0,05$ .

Это свидетельствует о модуляции данным препаратом процессов апоптоза и некроза в сторону снижения способности ткани мозга к программируемой гибели клетки и сохранения нейровоспалительного процесса на достаточно высоком уровне.

#### **4.4. Результаты дисперсионного анализа сравнения исследованных показателей**

В результате проведенного исследования были выявлены возрастные особенности поведенческих реакций крыс. В частности, в контроле уровень обучаемости животных (оценивали по времени поиска скрытой платформы в лабиринте Морриса по результатам тестирования на 3-й день эксперимента) повышается к 3-4-месячному возрасту, а к 18-месяцам – снижается до уровня 21-дневных крыс. При сопоставлении результатов тестирования в лабиринте Морриса с нейрохимическими показателями с использованием однофакторного дисперсионного анализа было показано следующее. В период с 21-дневного возраста до 3-4-месячного возраста выражена зависимость между высоким уровнем обучаемости и активностью каспазы-3 в коре больших полушарий крыс, а также уровнем норадреналина и дофамина в структурах мозга (табл. 59).

Таблица 59

#### **Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) межгрупповых изменений времени поиска скрытой платформы и нейрохимических показателей у 21-дневных и 3-4-месячных крыс**

ОБУЧАЕМОСТЬ x нейрохимический показатель	F-критерий	p
Активность каспазы-3 (КБП)	6,31	0,01
Содержание норадреналина (КБП)	7,04	0,005
Содержание норадреналина (СС)	6,27	0,01
Содержание дофамина (КБП)	9,63	0,002
Содержание дофамина (СС)	8,46	0,004

В период с 3-4-месячного до 18-месячного возраста у животных установлена зависимость между уровнем обучаемости и экспрессией каспазы-3 в стволовых структурах, активностью каспазы-3 и содержанием дофамина в структурах мозга (табл. 60).

Таблица 60

**Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)  
межгрупповых изменений времени поиска скрытой платформы и  
нейрохимических показателей у 3-4-месячных и 18-месячных крыс**

ОБУЧАЕМОСТЬ x нейрохимический показатель	F-критерий	p
Активность каспазы-3 (КБП)	8,64	0,004
Активность каспазы-3 (СС)	6,48	0,01
Экспрессия каспазы-3 (СС)	7,82	0,008
Содержание дофамина (КБП)	11,72	0,001
Содержание дофамина (СС)	9,93	0,003

Повышение представленности мелкой двигательной активности (R6) и снижение времени поведенческого сна (R1) к 3-4-месячному возрасту относительно 21-дневных крыс находится в прямой зависимости с увеличением содержания норадреналина (НА). Также высокая факторная нагрузка показана для изменения содержания дофамина (ДА) в структурах мозга у 3-2-месячных относительно 21-дневных крыс и следующих форм поведения: ориентировочного (R2-3) и питьевого поведения (R4), груминга (R7) и релаксированного бодрствования (R8) (табл. 61).

К 18-месячному возрасту относительно 3-4-месячных крыс выявлена зависимость между изменением в содержании норадреналина в стволовых структурах (НА(СС)) животных и таким формами поведения, как поведенческий сон (R1), ориентировочное (R2-3) и пищевое поведение (R5), а также между уровнем дофамина в коре больших полушарий (ДА(КБП)) и стволовых структурах мозга (ДА(СС)) и следующими формами поведения:

поведенческий сон (R1), груминг (R7) и релаксированное бодрствование (R8) (табл. 62).

Таблица 61

**Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)  
межгрупповых изменений поведения и нейрохимических показателей у  
21-дневных и 3-4-месячных крыс**

Факторная нагрузка	F-критерий	p
НА(КБП) x R1	8,34	0,006
НА(СС) x R1	6,51	0,03
НА(КБП) x R6	7,22	0,005
НА(СС) x R6	9,35	0,002
ДА(КБП) x R2-3	9,47	0,002
ДА(СС) x R2-3	8,39	0,003
ДА(КБП) x R4	6,35	0,01
ДА(СС) x R4	11,74	0,0009
ДА(КБП) x R7	10,38	0,001
ДА(СС) x R7	9,83	0,002
ДА(КБП) x R8	7,06	0,005
ДА(СС) x R8	8,49	0,007

Таблица 62

**Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)  
межгрупповых изменений поведения и нейрохимических показателей у  
3-4-месячных и 18-месячных крыс**

Факторная нагрузка	F-критерий	p
НА(СС) x R1	10,46	0,001
НА(СС) x R2-3	7,22	0,005
НА(СС) x R5	9,47	0,002
ДА(КБП) x R1	6,35	0,01
ДА(СС) x R1	6,73	0,008
ДА(КБП) x R7	10,38	0,001
ДА(СС) x R7	9,49	0,002
ДА(КБП) x R8	7,06	0,005
ДА(СС) x R8	6,45	0,009

Поскольку животным 21-дневного возраста вводили пептидные препараты пренатально в отличие от 3-4-месячных и 18-месячных крыс (в течение 5 дней до декапитации), то далее представлены результаты

дисперсионного анализа эффектов пептидных препаратов (кортексина и пинеалона) у животных только двух возрастных групп.

Таблица 63

**Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA)  
межгрупповых изменений поведения и нейрохимических показателей у  
3-4-месячных и 18-месячных крыс при введении кортексина**

Факторная нагрузка (введение кортексина крысам разного возраста)	F-критерий	p
ОБУЧЕНИЕ x активность каспазы-3 (КБП)	11,43	0,0008
ОБУЧЕНИЕ x активность каспазы-3 (СС)	7,52	0,006
R1 x НА(КБП)	8,63	0,007
R1 x НА(СС)	10,46	0,001
R1 x ДА(КБП)	7,39	0,006
R1 x ДА(СС)	6,31	0,009
R2-3 x НА(КБП)	7,22	0,005
R2-3 x НА(СС)	9,57	0,002
R2-3 x ДА(КБП)	10,39	0,0009
R2-3 x ДА(СС)	6,73	0,008
R4 x НА(КБП)	6,11	0,01
R4 x НА(СС)	8,34	0,008
R4 x ДА(КБП)	7,06	0,005
R4 x ДА(СС)	9,54	0,002
R5 x НА(КБП)	6,49	0,01
R5 x НА(СС)	10,27	0,0009
R5 x ДА(КБП)	6,77	0,009
R5 x ДА(СС)	6,65	0,009
R7 x НА(КБП)	6,42	0,009
R7 x НА(СС)	8,47	0,007
R7 x ДА(КБП)	6,38	0,01
R7 x ДА(СС)	9,34	0,002
R8 x НА(КБП)	9,47	0,002
R8 x НА(СС)	7,56	0,006
R8 x ДА(КБП)	10,18	0,001
R8 x ДА(СС)	9,28	0,003

Согласно представленным результатам анализа (табл. 63) изменение в содержании дофамина и норадреналина в структурах мозга у крыс 3-4-месячного и 18-месячного возраста под влиянием введения кортексина влияет на такие формы поведения, как поведенческий сон (R1),

ориентировочное (R2-3), питьевое (R4) и пищевое поведение (R5), груминг (R7) и релаксированное бодрствование (R8). Также существует взаимосвязь между активностью каспазы-3 в мозге и уровнем обучаемости животных данных групп.

Введение пинеалона также реализует свои эффекты на особенности поведения животных разного возраста через изменение содержания норадреналина и дофамина в мозге (табл. 64).

Таблица 64

**Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA)  
межгрупповых изменений поведения и нейрохимических показателей у  
3-4-месячных и 18-месячных крыс при введении пинеалона**

Факторная нагрузка (введение кортексина крысам разного возраста)	F-критерий	p
ОБУЧЕНИЕ x активность каспазы-3 (КБП)	11,77	0,0008
ОБУЧЕНИЕ x активность каспазы-3 (СС)	10,34	0,006
R1 x НА(КБП)	9,58	0,002
R1 x НА(СС)	9,07	0,002
R1 x ДА(КБП)	9,65	0,001
R1 x ДА(СС)	6,15	0,01
R2-3 x НА(СС)	8,39	0,005
R2-3 x ДА(КБП)	10,42	0,0009
R4 x НА(КБП)	6,28	0,01
R4 x НА(СС)	6,87	0,009
R4 x ДА(СС)	10,19	0,0009
R5 x НА(СС)	8,06	0,006
R5 x ДА(КБП)	6,21	0,009
R5 x ДА(СС)	9,63	0,002
R6 x НА(СС)	7,41	0,006
R6 x ДА(КБП)	6,34	0,009
R6 x ДА(СС)	8,53	0,007
R7 x НА(КБП)	8,24	0,008
R7 x НА(СС)	6,61	0,009
R7 x ДА(СС)	10,16	0,001
R8 x НА(КБП)	10,28	0,001
R8 x НА(СС)	9,14	0,002
R8 x ДА(КБП)	11,56	0,0006

Также как и при введении кортексина, при введении пинеалона выявлена связь между активностью каспазы-3 в мозге и показателем латентного обучения животных 3-4-месячного и 18-месячного возраста. Межгрупповые различия форм поведения связаны с эффектами пинеалона на содержание дофамина и норадреналина в структурах мозга:

- под влиянием введения трипептида время поведенческого сна у животных этих возрастных групп зависит от уровня как норадреналина, так и дофамина в коре больших полушарий и стволовых структурах;

- время ориентировочного поведения связано с межгрупповыми различиями содержания норадреналина в стволовых структурах и уровня дофамина в коре больших полушарий;

- время питьевого поведения – с межгрупповыми различиями в содержании норадреналина в коре больших полушарий и стволовых структурах и уровня дофамина в стволовых структурах;

- время пищевого поведения - с межгрупповыми различиями уровня обоих медиаторов в коре больших полушарий и стволовых структурах;

- время мелкой двигательной активности - с межгрупповыми различиями уровней норадреналина и дофамина в стволовых структурах и содержания дофамина в коре больших полушарий;

- время груминга - с межгрупповыми различиями уровня норадреналина и дофамина в стволовых структурах и содержания норадреналина в коре больших полушарий;

- время релаксированного бодрствования - с межгрупповыми различиями в содержании норадреналина и дофамина в коре больших полушарий и уровня норадреналина в стволовых структурах.

Таким образом, согласно проведенному статистическому анализу взаимосвязи исследованных функциональных показателей в группах крыс разного возраста можно отметить следующие моменты.

Во-первых, существует взаимосвязь между возрастными изменениями поведенческих реакций и нейрохимическими показателями животных. Так,

уровень активности и экспрессии каспазы-3 в структурах мозга находится в определенной связи со способностью к обучению животных контрольных групп. При стрессе происходит более значительное повышение активности каспазы-3 в мозге крыс, что сопровождается снижением показателя обучаемости. Данный факт свидетельствует о нелинейной зависимости уровня активности каспазы-3 в мозге и способностью к обучению животных, находящихся в разных функциональных состояниях (контроль-стресс).

Во-вторых, на фоне стрессового воздействия наблюдается интенсификация свободнорадикальных процессов, снижение содержания отдельных нейромедиаторов в мозге, а также понижение нейрохимической и моторной латерализации (по результатам исследования у 3-4-месячных крыс). При этом выработка УРАИ у животных с разным латеральным профилем также приводит к изменению латерализации распределения показателей свободнорадикальных процессов в мозге крыс, так и моторных качеств: у крыс с леволатеральным профилем была более выраженная моторная латерализация и более высокие значения процента выработанных УР-реакций.

В-третьих, в условиях окклюзии средней мозговой артерии происходит наиболее значительное снижение нейрохимической и моторной латерализации, что приводит к развитию у крыс неврологических нарушений и инфаркту мозга. В связи с этим при ОСМА значимые различия у особей с разным латеральным профилем установлены лишь в отдельных случаях, т.е. роль функциональной межполушарной асимметрии в условиях ОСМА минимальна.

В-четвертых, при введении пептидных препаратов происходит изменение активности каспазы-3 в мозге крыс, что коррелирует со степенью обучаемости животных. Наименее выражены изменения обучаемости крыс, которым вводили кортексин, у этих животных происходили разные изменения активности каспазы-3. У 21-дневных животных наблюдали ее снижение, что, тем не менее, не сопровождалось изменением обучаемости

крыс относительно контрольной группы. Под влиянием введения кортексина у 3-4-месячных и 18-месячных крыс также не выявлено значимых изменений обучаемости и активности каспазы-3 в мозге. Более выраженный эффект на обучаемость животных оказали дельтаран и пинеалон, что сопровождалось изменением в активности данного протеолитического фермента. Изменение в структуре поведения животных под влиянием пептидных препаратов опосредовано, в том числе их влиянием на содержание норадреналина и дофамина.

В-пятых, в условиях окислительного стресса (пренатальная гипоксическая гипоксия, острая гипоксическая гипоксия, окклюзия сонных артерий) предварительное введение пептидных препаратов способствует снижению эффектов стресса, и это сопровождается повышением обучаемости крыс и снижением нарушения в структуре поведения животных разного возраста относительно крыс, которым не вводили пептидные препараты до стрессового воздействия.

Таким образом, возрастные изменения функциональных показателей мозга отражаются на поведенческих реакциях, при этом ответ на внешние воздействия (введение препаратов или стресс) также имеет возраст-специфический характер.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К числу актуальных проблем физиологии высшей нервной деятельности относится вопрос о связи между особенностями взаимодействия организма с внешней средой, организацией простых и сложных форм поведения и устойчивостью организма к действию стресс-факторов. Одной из наиболее важных задач в этом плане представляется изучение механизмов адаптивных перестроек в организме, развивающихся в ответ на стресс, действие которого приходится на критические периоды развития. Характер стрессорного реагирования зависит от многих факторов, среди которых особое место занимает структурно-функциональная организация нейроэндокринной системы (Котляр, Шульговский, 1979; Селье, 1960 и др.) и ее фенотипическая изменчивость в ходе онтогенетического развития. Уровень и характер изменений в функциональном состоянии нейрогуморальной системы определяет степень отклонения поведения от нормы.

Перенесенные в разные периоды онтогенеза стрессовые воздействия оказывают влияние на память, обучение, эмоциональный статус и другие поведенческие реакции организма (Aleksandrov et al., 2001; Bowman et al., 2001; File, 1995; Haller, 2001; Pan et al., 2013; Ward et al., 2000; Vallee et al., 1999; Pijlman, van Ree, 2002; Sousa et al., 2000).

В результате многолетних исследований нами были получены данные об эффектах ишемии/гипоксии мозга на поведение крыс разного возраста. Так, воздействие пренатального стресса (гипоксическая гипоксия на 13-20 сутки гестации) способствует повышению локомоторной активности, исследовательского поведения и снижению обучаемости 21-дневных крыс (Менджеричкий и др., 2011, 2012), что согласуется с данными литературы (Delcour et al., 2012). Но у 3-4-месячных и 18-месячных животных после острой гипоксической гипоксии снижается двигательная активность, повышается время сна и релаксированного бодрствования. Проявление

различий перенесенного стресса в разные периоды онтогенеза также касается и способности к усвоению навыка. Снижение обучаемости у половозрелых и старых крыс после перенесенной острой гипоксической гипоксии было менее значимым относительно 21-дневных животных, перенесших пренатальный стресс (Карантыш и др., 2013; Менджерицкий и др., 2013). Выраженные отклонения в поведении и обучаемости 21-дневных крыс, перенесших пренатальную гипоксическую гипоксию, приходящуюся на 13-20 сутки гестационного периода, можно объяснить тем, что данное стрессовое воздействие способствует снижению нейронального объема гиппокампальных гранулярных клеток (Hosseini-Sharifabad et al., 2012). Кроме того, интранатальный стресс влияет на нейроэндокринные и поведенческие показатели грызунов, а также экспрессию генов, регулирующих эти функции: в нейронах лобной области коры больших полушарий, гиппокампа и гипоталамуса обнаружено увеличение фосфорилирования гидроксилазы тирозина в PNDs 50 and 85. У этих же животных установлено повышение уровня тревожности, что связывают с изменениями в структуре ГАМК-А  $\alpha$ -подъединицы рецептора (Sominisky et al., 2013). Также показаны отклонения в эпигенетической регуляции, вызванной метилированием ДНК в гиппокампе и лобной коре больших полушарий потомков, чьи родители были подвергнуты стрессовому воздействию в период сперматогенеза (Mychasiuk et al., 2013).

Характер изменения высших психических функций зависит и от силы стрессового воздействия. Например, пренатальный стресс высокой интенсивности вызывает снижение пространственного обучения 1-месячных самцов крыс, но эти нарушения нивелируются через 2 месяца (Wu et al., 2007). В то же время стресс умеренной интенсивности, приходящийся на пренатальный период развития, способствует повышению пространственного обучения 1-месячных крыс (Fujioka et al., 2001; Lemaire et al., 2006).

В целом эволюция мозга в онтогенезе является одним из наиболее интересных аспектов физиологии. Известно, что определенные периоды

развития являются критическими для развития мозга, что определяет их дальнейшее развитие и поведение особи в постнатальные периоды.

Одним из критических периодов для развития мозга являются предплодный и плодный периоды. У крыс эти периоды приходятся на 13-20 сутки пренатального развития. Согласно нашим результатам предъявление стресса в течение данного периода приводит к наиболее трагическим последствиям на реализацию поведенческих реакций 21-дневных животных. Фактором риска неврологических нарушений у особей в постнатальном периоде развития являются изменения в структуре микро-РНК нейронов, причиной которых является пренатальная гипоксическая гипоксия, приходящаяся на предплодный и плодный периоды. Это может способствовать нарушению в мозге эпигенетической регуляции (Zucchi et al., 2013), созревания нейромедиаторных систем (Журавин, 2002), протеазной активности (Менджеричкий, Карантыш, 2011) в мозге. В частности, показано, что внутриутробная ишемия приводит к увеличению неспециализированных контактов между нейронами, что, как предполагают, усиливает прочность межнейрональных связей и нарушает процесс миграции созревающих клеток. В результате это способствует разряжению ГАМК-позитивных клеток преимущественно в нижних слоях неокортекса (Правдухина и др., 2007).

Также пренатальный стресс влияет на реактивность ГГАС взрослых животных, что является результатом нарушением глюкокортикоидной рецепции в мозгу в неонатальный период развития (Ордян и др., 2006). В том числе, в настоящее время установлен пик экспрессии ключевых регуляторов функции норадренергических нейронов – ауторецепторов альфа2-типа в головном мозге в перинатальный период развития – в сроки активного протекания в мозге апоптоза.

Перенесенная ишемия мозга у половозрелых крыс также способствует снижению нейрогенеза у стареющих крыс относительно животных, которые не перенесли в половозрелом возрасте стресс (Sun et al., 2012), что в

результате отражается на показателях поведения животных. После окклюзии сонных артерий, как и после экспериментального инфаркта миокарда (Менджеричкий, Карантыш, 2011) происходят изменения в поведении, характеризующие развитие депрессивных и тревожных расстройств: животные забиваются в угол, у них снижается двигательная активность, резко изменяется исследовательское поведение либо в сторону повышения или в сторону снижения представленности в структуре поведения. Согласно данным R.M. Tordera et al. (2011) депрессивные нарушения, возникающие в результате стрессорных воздействий, имеют разную природу, в том числе, могут иметь генетическую. В разных экспериментальных моделях окислительного повреждения мозга данными авторами выявлены изменения экспрессии генов ряда нейромедиаторов, в том числе, рецепторов глутамата, ГАМК, дофамина и серотонина. В процессе исследования была изучена «пониженная» регуляция генов, при которой происходили следующие изменения: повышение уровня размножения клеток (Anapc7), рост (CsnK1g1), выживание клеток (Hdac3) и ингибирование процесса апоптоза (Dido1). При этом гены, связанные с цитоскелетом (Hspg2, Invs), нарушением психических процессов (Grin1, MapK12) или работы антиоксидантов (Gpx2) подавлялись. В тоже время гены, ингибирующие MAPK-проводящие пути (Dusp14), стимулирующие окислительный метаболизм (Eif4a2) и усиливающие перенос глутамата, были активизированы. Авторы данного исследования предположили, что эти гены могут формировать молекулярную основу для развития депрессивного поведения животных.

Недавние результаты исследований показали возможность эффективного восстановления ДНК нейронов, при этом в основе как повреждения, так и восстановления структуры ДНК лежит активация глутаматных рецепторов, в результате чего запускается работа ДНК-гликозилазы (эндонуклиазы VIII-подобная1, NEIL1). При недостаточности данной гликозилазы у мышей наблюдали ослабление памяти в водном лабиринте, при этом отсутствовали нарушения двигательной активности, а

также признаки тревоги и беспокойства. В условиях дефицита NEIL1 наблюдали усиление повреждений центральной нервной системы в модели ишемии/реперфузии мозга (Canugovi et al., 2012).

Одной из главных эндогенных регулирующих систем, предотвращающих/снижающих развитие окислительного стресса в мозге при внутримозговых кровоизлияниях, в настоящее время признают Kelch-подобный ECH-связанный белок 1 (Keap1) и ядерный фактор эритроид2-связанный фактор 2 (Nrf2) (Shang, 2013). В результате ишемии/реперфузии мозга запускается каскад реакций, сопровождающихся накоплением продуктов свободнорадикального окисления.

Наиболее реактивными среди свободных радикалов является пероксинитрид, которые повреждают целостность гематоэнцефалического барьера, влияют на работу митохондрий, структуру ДНК и т.д. (Lam et al., 2012). При этом недостаточно исследованы механизмы, лежащие в основе взаимодействия в пределах нервно-сосудистой единицы в постишемический период. Известно, что микрососуды и соседние нейроны одновременно отвечают на центральную ишемию, однако, их координационные взаимодействия не поняты, как и эффекты  $\beta$ -амилоидного пептида на ответах микрососудов в период время ишемии (del Zoppo, 2012). Кроме того степень окислительного стресса влияет на объем инфаркта мозга и определяет уровень нейродегенеративных повреждений мозга. Нарушения гематоэнцефалического барьера путем лизиса протеомных компонентов данной системы (fibronectin, laminin, коллаген IV и perlecan) происходят в течение нескольких часов после ишемии мозга (Roberts et al., 2012).

В стареющем мозге в ответ на ишемическое/гипоксическое воздействие активация окислительного стресса и апоптоза, дегенерация нейронов на ранней стадии ишемического процесса, отсроченное восстановление функций, резкая активация нейронального воспаления происходит более выражено относительно молодых половозрелых животных (Buda et al., 2008).

Ключевым фактором воспалительного процесса и апоптоза в ответ на ишемию/реперфузию мозга является NF-κB; параллельно повышается активность микроглии, увеличиваются уровни TNF-α, IL-1β и iNOS (Gu et al., 2012). Эти морфофункциональные изменения при развитии воспалительного процесса в мозге сопровождаются нарушениями в поведении. Взаимосвязь нейровоспаления и изменения поведенческих реакций были продемонстрированы в разных экспериментальных моделях. Так, в модели хронического принудительного плавания у животных проявляются признаки депрессии, а введение противовоспалительного интерлейкина имеет антидепрессивный эффект (Pan et al., 2013). При моделировании ишемии мозга антиконвульсанты способны снижать развитие воспалительного процесса в мозге. Согласно результатам А. Хуан и др. (2012) введение вальпроиновой кислоты после ишемического повреждения мозга приводит к снижению активации микроглии, но не астроцитов, а также способствует снижению содержания воспалительных маркеров в гиппокампе. Показано, что реакция микроглии и астроцитов на хронический стресс, как правило, реципрокна (Тишкина и др., 2009). Астроглия может экспрессировать провоспалительные факторы. Кроме рецепторов цитокинов (Bohn et al., 1994) на астроцитах есть рецепторы к глюкокортикоидам, концентрация которых наиболее высока в гиппокампе (Yu et al., 2011). В связи с этим наиболее ранний ответ на окислительный стресс в мозге происходит на уровне гиппокампа. Уже через 7,5 минут после ОСМА наблюдают неврологический дефицит, отражающий поражение гиппокампа, а спустя 10-12,5 минут после ОСМА развиваются моторная дисфункция и нарушение поведения, определяемые по разным неврологическим шкалам (Gordan et al., 2012). Таким образом, эти данные демонстрируют большую чувствительность гиппокампа к ишемии мозга, хотя ранее считали, что центральные механизмы регуляции двигательной активности животных в значительной степени определяются функциональными свойствами сенсомоторных структур мозга, к которым относят кору больших полушарий

и стриатум (Батуев, Таиров, 1978; Иоффе, 1991; Толкунов, 2002; Шуваев, Суворов, 2001). Согласно этим представлениям при недостатке кислорода в крови эти структуры страдают, в первую очередь, как у молодых, так и у взрослых животных (Самойлов, 1985; Piantadosi et al., 1997; Schwab et al., 1997 и др.). В любом случае, в результате ишемизации мозга запускается каскад реакций, приводящих к развитию окислительных повреждений клеток мозга и воспалительных процессов.

При старении снижается количество нервных стволовых клеток, которые дают начало нейронам, олигодендроцитам и астроцитам. Это происходит, в частности, в результате изменения интенсивности процессов апоптоза и нейрогенеза, что является своеобразным компенсаторным механизмом против развития некротических поражений нейрональной ткани в результате накопления  $\beta$ -амилоидного белка ( $A\beta$ ) и глутамата. В настоящее время исследуют роль предшественника  $\beta$ -амилоидного белка (APP), названного аппоптозином, в развитии нейродегенерации, а также как терапевтическую цель для предотвращения последствий нейродегенеративных заболеваний (Zhang et al., 2012a). Также продемонстрирован эффект ингибитора фосфодиэстеразы типа 5 (PDE5) (препарат Sildenafil) на увеличение нервных стволовых клеток, зрелых нейронов и олигодендроцитов в стареющем мозге (Zhang et al., 2012b).

На фоне изменения интенсивности апоптоза и процесса нейрогенеза в стареющем мозге запускаются процессы, приводящие и к снижению синаптической пластичности, что связано с окислительным повреждением структуры ДНК (Jiang et al., 2001; Kujoth et al., 2005; Lee et al., 2000; Lu et al., 2004; Loerch et al., 2008; Muller et al., 2007). Когнитивный дефицит, связанный со старением, также объясняют нарушением про- и антиоксидантного статуса нейрональных митохондрий, окислительными повреждениями ДНК и РНК клеток мозга, в частности ремоделированием хроматина (Fischer et al., 2007; Liu et al., 2002).

Также в процессе старения увеличивает уязвимость белого вещества к ишемии мозга. Ингибиторы гистоновой деацетилазы (HDAC) препятствуют возрастным изменениям структуры белого вещества и нарушению функционирования мозга после ишемии, способствуют сохранению энергетических ресурсов и уменьшению эксайтотоксичности. Экспрессия HDAC3 в центральной нервной системе и HDAC2 в зрительном нерве, значительно изменяются с возрастом, возрастая в цитоплазме относительно ядра. Это дало основание предполагать, что изменение ацетилирования глиальных белков может предотвращать возрастные изменения аксонов (Baltan, 2012).

В настоящее время установлено сходство функциональных изменений при физиологическом старении и стрессе (Хавинсон, Анисимов, 2000). Это доказывают полученные в работе Н. Ohtaki et al. (2012) данные, согласно которым в обоих случаях в ходе автофлуоресценции происходит накопление пигмента старения (ASM – автофлуоресцентный материал хранения). Был определен уровень ASM в хлорных каналах 3 (CLC-3) мышей с дефицитом по данному гену в процессе старения, а также в модели умеренной глобальной ишемии. Чтобы понять механизм действия ASM, мышам, подвергнутым ишемии, был введен ингибитор циклоогеназы индометацин или неконкурентноспособный антагонист глутаматных рецепторов (МК-801). У мышей с CLC-3 с дефицитом по данному гену была обнаружена связанная со старением нейродегенерация в неокортексе и гиппокампе. Слои корковых нейронов, (в особенности зернистые слои), утончаются с возрастом. Количество ASM, накопленного в мозгу у мышей с дефицитом по гену CLC-3, возросло в несколько раз по сравнению с крысами дикого типа. Молодые мыши дикого типа выживали дольше, чем мыши того же возраста, пережившие глобальную ишемию. Однако, в случае старых животных, соотношение выживаемости было одинаковым для обеих групп. Количество ASM так же возросло в 4-5 раз через 10 дней после умеренно глобальной ишемии, эффекты которой были снижены введением индометацина и МК-

801. Это дало основание авторам сделать предположение, что в процессе временной ишемии в мозге развивается процесс, аналогичный тому, который происходит при старении, «копируя» нейродегенеративные возрастные изменения. При этом уровень устойчивости к нейродегенеративным заболеваниям зависит от гормонального статуса: введение  $17\beta$ -эстрадиола (E2) самкам крыс снижает уровень гибели нейрональных клеток, повышает передачу сигнала в синапсах CA1 клетках гиппокампа до уровня молодых крыс (Inagaki et al., 2012). Вероятно, по этой причине самцы в отличие от самок крыс, подвергнутых прерывистой гипоксии, показывают снижение обучаемости в лабиринте Морриса (Kheirandish и др., 2005). Авторы данный факт объяснили следующим: у самцов в условиях прерывистой гипоксии уменьшается ветвление дендритов в лобной коре (но не в гиппокампе). Интересно, что концентрации норадреналина, а также его синтез (обновление) и активность тирозингидроксилазы у самцов и самок увеличивались одинаково. Однако повышение концентрации дофамина было только в лобной коре у крыс самок. В результате был сделан вывод о том, что в условиях прерывистой гипоксии долговременные изменения в дофаминергических путях лобной коры определяет половые различия в поведенческом дефиците. Также показано, в основе нарушений пространственной ориентации и обучаемости животных, подвергнутых прерывистой гипоксии, лежит развитие окислительного стресса (Row et al., 2003).

Таким образом, в результате ишемии/гипоксии мозга развиваются окислительный стресс (Cechetti et al., 2012; Du et al., 2013; He et al., 2012; Toumi et al., 2013 и др.), изменения рецепторного аппарата/связывания (Choi et al., 2013; Loria et al., 2013; Shi et al., 2013; Yin et al., 2013 и др.), нейромедиаторный (Bourke et al., 2013; Naegeli et al., 2013 и др.) и гормональный дисбаланс (Ibayashi et al., 1986; Le May et al., 1988; García Del Barco-Herrera et al., 2013; Hu et al., 2012; Kochanowski et al., 2012; Steckert et al., 2013 и др.). Также гипоксия мозга способствует нарушению

биоэлектрической активности мозга (Beerling et al., 2011; Grigoryan et al., 2013), нарушению синаптических контактов (Менджеричкий и др., 1993), активности глиальных клеток (Maragakis et al., 2006; Tishkina et al., 2009), процесса миелинизации (Zhou et al., 2013), снижению нейрональной массы (Shen et al., 2013) и т.д. Очевидно, что развитие данных процессов в мозге в ответ на стресс приводит к уменьшению моторной и сенсорной асимметрии (Shen et al., 2013). Доказан и тот факт, что устойчивость к стрессу у животных взаимосвязана с латерализацией (моторной, функциональной) и (Гусейнова и др., 2012).

В целом проблеме функциональной межполушарной асимметрии посвящено большое количество работ, что, расширяет представление об эволюционной роли развития мозга в адаптационных процессах (Бианки, 1985; Михеев, Шабанов, 2009; Kubos, Robinson, 1984; Gazzaniga, Hutsler, 1999 и др.). Наиболее выражены признаки функциональной асимметрии в репродуктивном периоде, в связи с чем в нашей работе роль ФМА в устойчивости к стрессу в разных моделях исследовали на животных 3-4-месячного возраста.

В процессе старения (Cabeza, 2002), в условиях стресса (Ким и др., 2007) снижается степень функциональной межполушарной асимметрии. В ходе исследования особенностей неврологического статуса и других показателей резистентности организма к окклюзии средней мозговой артерии нами не установлено очевидных различий показателей у крыс с разным латеральным профилем. Данный факт можно объяснить значительным поражением ткани мозга при ОСМА: развиваются нейровоспалительные процессы, некроз, демиелинизация. Эти нарушения могут способствовать снижению функциональной асимметрии полушарий. В условиях стрессового воздействия меньшей интенсивности (например, при окклюзии сонных артерий) более устойчивыми к стрессовым воздействиям являются животные с леволатеральным профилем (Косенко и др., 2007 а, б; Mendzeritski et al., 2008 и др.). При моделировании окклюзии левой средней мозговой артерии

отсутствие значимых различий у животных с разным латеральным профилем можно объяснить тем, что у крыс с леволатеральным профилем уровень резистентности к стрессу приближается к уровню животных с праволатеральным профилем. Тогда как окклюзия правой средней мозговой артерии приводит к нарушению механизмов регуляции мозгового кровообращения у животных с разным латеральным профилем, что также отражается на степени устойчивости крыс (в настоящее время доказана ведущая роль правого полушария в регуляции мозгового кровообращения (Gerendai, Halasz, 1997)). В том или ином случае снижается латерализация полушарий у животных, соответственно, у которых «выравниваются» функциональные возможности регуляторных систем мозга противостоять стрессу.

В то же время на модели окклюзии сонных артерий были установлены различия в поведенческих и нейрохимических показателях устойчивости. Это дало основание нам предполагать, что развитие некротических нарушений в мозге при окклюзии средней мозговой артерии минимизирует роль функциональной межполушарной асимметрии в резистентности организма, тогда как после меньшего по интенсивности стресса (окклюзии сонных артерий) сохраняются межполушарные различия функциональных систем. Это подтверждают результаты проведенного F. Niv и соавт. (2012) исследования, согласно которым ишемия мозга разной интенсивности приводит к различным последствиям на уровне морфологических перестроек. Авторы показали, что после ОСМА процесс нейрогенеза сопровождается формированием значительного количества неправильно сформированных нейрональных сетей; это и определяет выраженность неврологического дефицита относительно других групп животных, которым моделировали фотоиндуцированный инсульт.

При ишемии мозга и сопутствующего развития здесь окислительного стресса нарушаются процессы долговременной потенциации (Маркевич и др., 2009), нейрогенеза (Sahay, Hen, 2007), пластичности в гиппокампе и

связанных с ними форм памяти (Bird et al., 2008 a, b, c; Ergorul et al., 2004; Kryukov, 2008 и др.).

Согласно полученным результатам исследования, у крыс с разным латеральным профилем, перенесших окклюзию сонных артерий, сохраняется асимметрия нейрохимических систем в коре больших полушарий и стволовых структурах мозга, что, вероятно, определяет различия в способности к усвоению информации. Так было показано, что после ОСА на фоне более выраженной асимметрии в распределении показателей свободнорадикальных процессов и медиаторов в структурах мозга у крыс с ЛЛП более высокий процент сохранности условных реакций активного избегания относительно животных с ПЛП.

На уровень поведенческой латерализации, а также асимметрии в распределении нейрохимических систем влияли пептидные препараты, изучению эффектов которых в данной работе уделено особое внимание.

Пептидные препараты обладают широким спектром действия, однако механизмы их до сих пор невозможно объяснить теми гипотезами, которые были уже постулированы на данный момент времени. С точки зрения современных представлений об эффектах разных факторов на поведение в целом показано, что его модуляция определяется, в первую очередь, генетическими/эпигенетическими перестройками в процессе адаптационных процессов. Насколько выражены будут эти перестройки, какие функциональные системы будут затронуты в ходе их работы, - будут определены те изменения на уровне поведения, которые наблюдают далее в эксперименте либо в реальной медицинской практике. Можно предполагать, что пептидные препараты также являются факторами, влияющими на отдельные звенья регуляции генетической информации. Эффекты данных пептидов будут определяться не только их химической структурой, но также и длительностью их действия, а также «реальной ситуацией», в которой они действуют. В том числе, к этой «реальной ситуации» можно отнести возрастной фактор, интенсивность оказываемого воздействия и другие

показатели функционального состояния мозга, которые «корректируются» действием пептидных факторов (Андриадзе и др., 2001; Анисимов, 2000; Ахапкина, 2006; Бархатов и др., 2011; Беленичев и др., 2008; Боголепов, Доведова, 2010; Болдырев и др., 2010; Гомазков, 2003; Левин и др., 2004; Toumi et al., 2013 и др.). Однако особое внимание уделяют изучению функционирования эндогенных механизмов защиты в условиях стресса, в частности, факторов, препятствующих развитию окислительных повреждений в клетках.

В связи с этим считают перспективной разработку препаратов, предотвращающих чрезмерное накопление этих радикалов в мозге (Chen et al., 2013). Исследования в данной области направлены на использование природных антиоксидантов (например, кверцетина и др.) (Pandey et al., 2012), синтетических препаратов, непосредственно проявляющих антиоксидантную активность, так и лекарственных средств, модулирующих про- и антиоксидантный статус в мозге (Болдырев и др., 2010 и др.). Однако, эффективность таких препаратов недостаточна, их используют в качестве сопутствующей терапии заболеваний, связанных с ишемией/реперфузией мозга. Действия препаратов пептидной природы не ограничивается их влиянием на свободнорадикальные процессы, - они являются полифункциональными.

Наиболее интересны результаты, полученные в данной работе, касаются действий дельтарана, кортексина и пинеалона на поведение и нейрохимические показатели у животных разного возраста. Проблема особенностей ответа на ишемию/гипоксию мозга у особей, перенесших стрессовое воздействие на разных этапах онтогенеза, освещена в литературе недостаточно.

При исследовании эффектов пептидных препаратов учитывали их влияние на функциональные показатели у животных разного возраста, в том числе, на время поиска скрытой платформы (рис. 49).

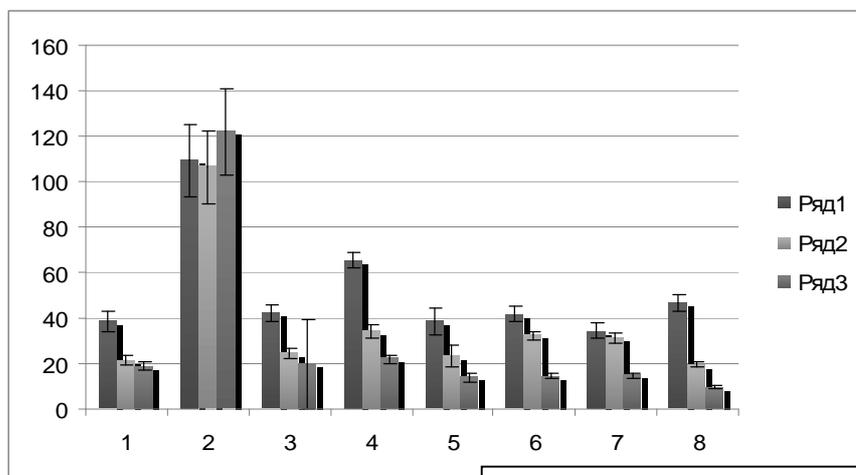
Показано, что по возрастанию степени эффективности действия на латентное обучение в моделях «пренатальное введение пептида» и «пренатальная гипоксическая гипоксия + введение пептида» данные препараты распределяются следующим образом: **кортексин - пинеалон - дельтаран**. Выявлена закономерность: чем выше эффективность препарата на латентное обучение крыс, тем более высокий уровень активной каспазы-3 в структурах мозга этих животных (рис. 50).

В том числе, в мозге крыс в модели пренатальной гипоксической гипоксии и введения дельтарана содержание активной каспазы-3 было выше контрольного уровня. Снижение активности каспазы-3 в структурах мозга крыс наблюдали в моделях пренатального стресса и введения кортексина и, в меньшей степени, - пинеалона, а при введении дельтарана (модель «пренатальный стресс + дельтаран») активность каспазы-3 остается на уровне контроля (рис. 51).

При введении пептидов контрольным группам 3-4-месячных крыс в стволовых структурах активность каспазы-3 повышается, а также при введении дельтарана в модели ОГГ. Содержание каспазы-3 в мозге крыс при введении дельтарана повышается как в контрольной группе, так и в модели ОГГ. При введении пинеалона повышение содержания каспазы-3 происходит только в мозге крыс контрольной группы, при введении кортексина – в стволовых структурах. Обучаемость в лабиринте Морриса 3-4-месячных крыс контрольных групп и в модели ОГГ выше при введении пинеалона и дельтарана относительно животных, которым вводят кортексин.

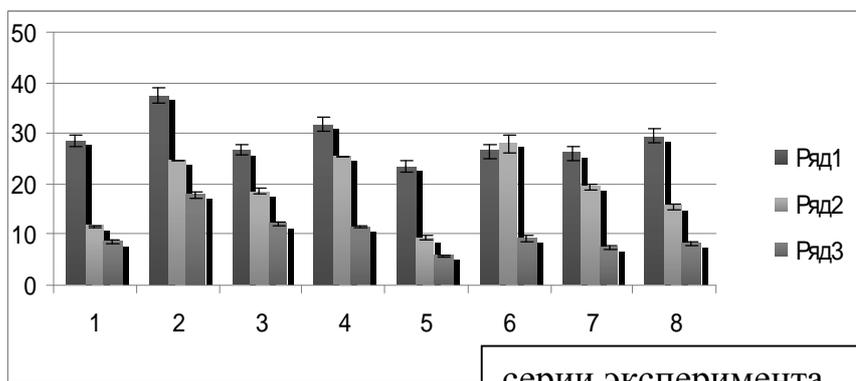
Активность каспазы-3 снижается в коре больших полушарий в модели введения кортексина 18-месячным крысам, а также в стволовых структурах животных, которым вводят пинеалон. Введение коротких пептидов крысам в модели ОСА не способствует изменению активности каспазы-3 в мозге животных, но приводит к повышению содержания данной протеазы. Короткие пептиды (кортексин, пинеалон, дельтаран) значительно повышают

обучаемость 18-месячных в лабиринте Морриса: значимых различий их эффективности в модели ОГГ не обнаружено.



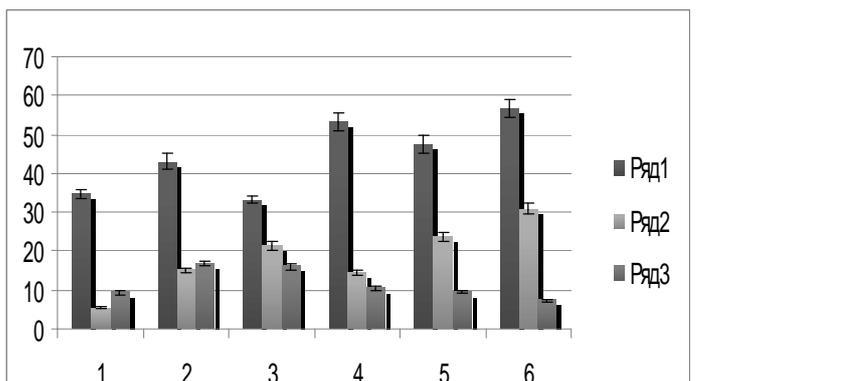
А

сери эксперимента



Б

сери эксперимента



В

сери эксперимента

Рис. 49. Время поиска скрытой платформы (сек.) в лабиринте Морриса у крыс в разных сериях эксперимента

А – 21-дневные крысы

Б – 3-4-месячные крысы

В – 18-месячные крысы

ряд 1 – 1 день;

ряд 2 – 2 день;

ряд 3 – 3 день

сери эксперимента:

1 - контроль;

2 – ГГ;

3 – кортексин;

4 – кортексин+ГГ;

5 – пинеалон;

6 – пинеалон+ ГГ;

7 – дельтаран;

8 – дельтаран+ГГ

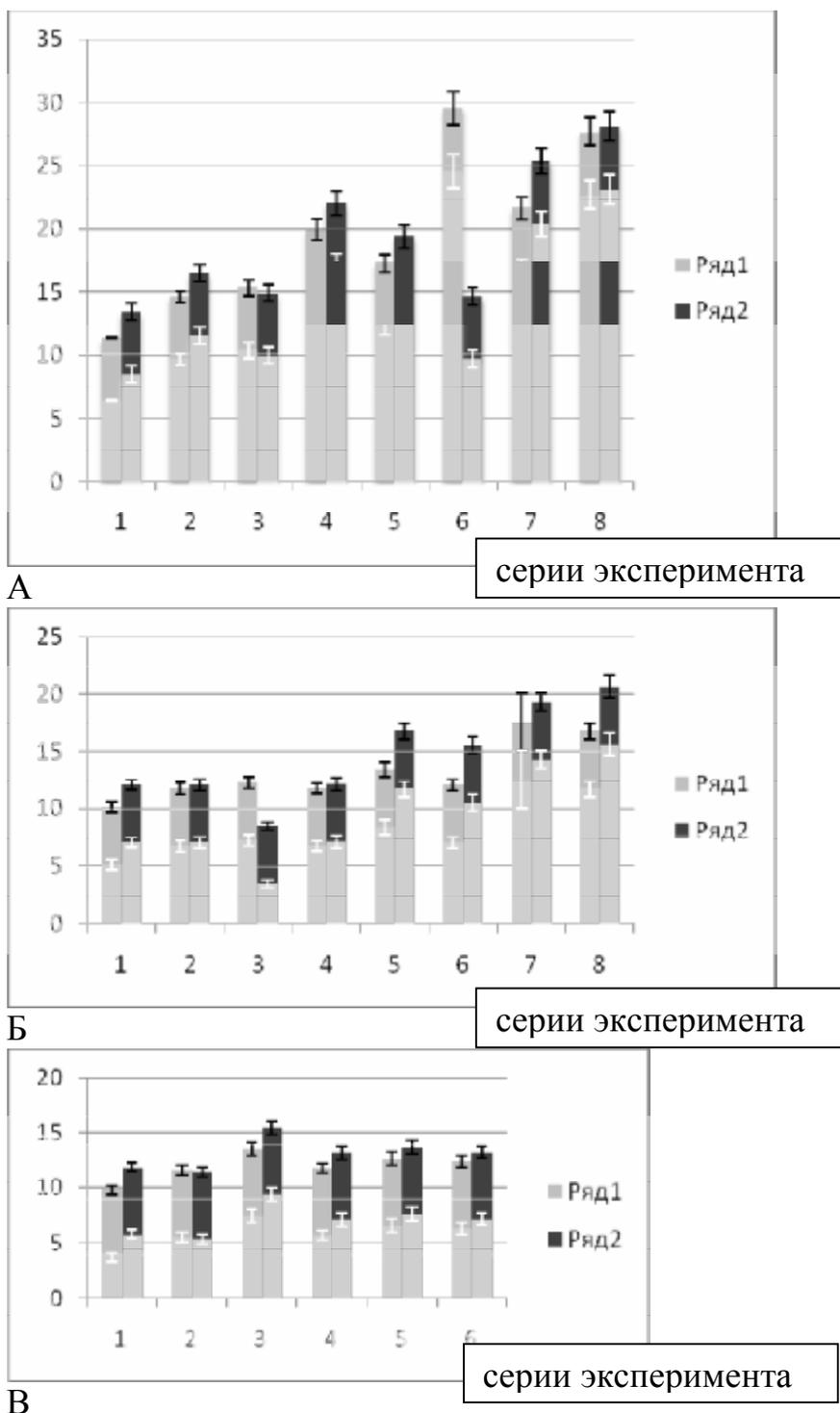


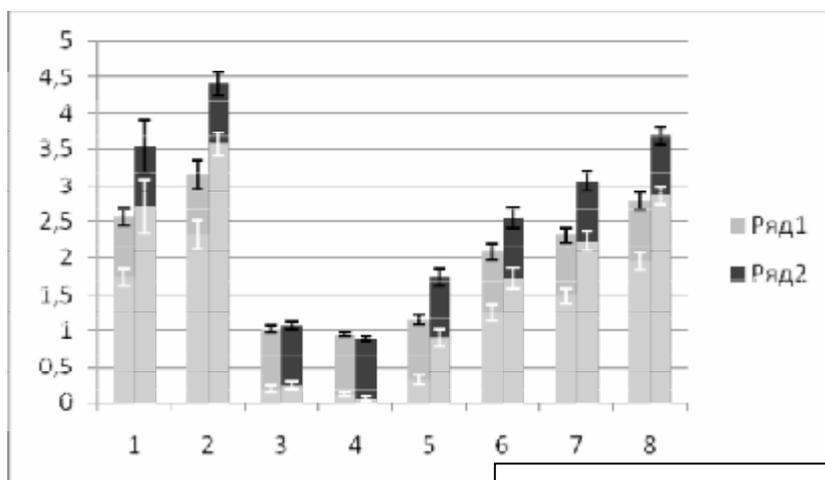
Рис. 50. Уровень активной каспазы-3 в мозге крыс в разных сериях эксперимента

А – 21-дневные крысы  
 Б – 3-4-месячные крысы  
 В – 18-месячные крысы

Ряд 1 – кора больших полушарий;  
 Ряд 2 – стволые структуры

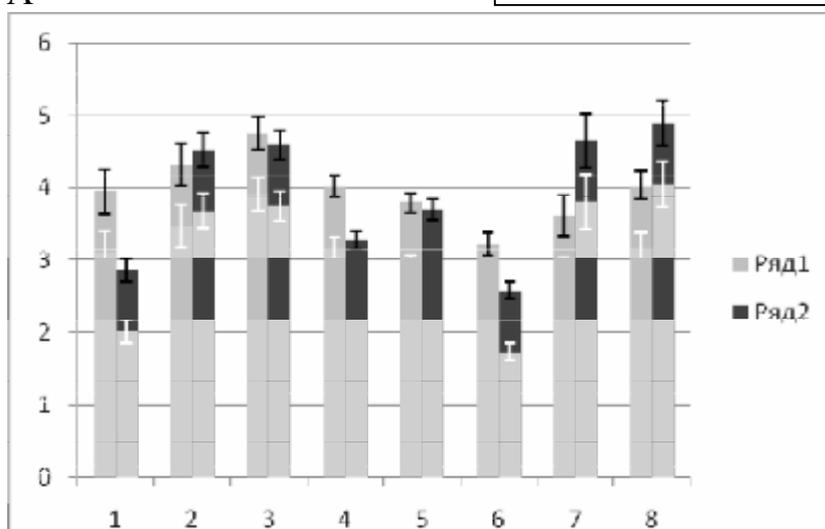
серии эксперимента:

- 1 - контроль;
- 2 – ГГ;
- 3 – кортексин;
- 4 – кортексин+ГГ;
- 5 – пинеалон;
- 6 – пинеалон+ ГГ;
- 7 – дельтаран;
- 8 – дельтаран+ГГ



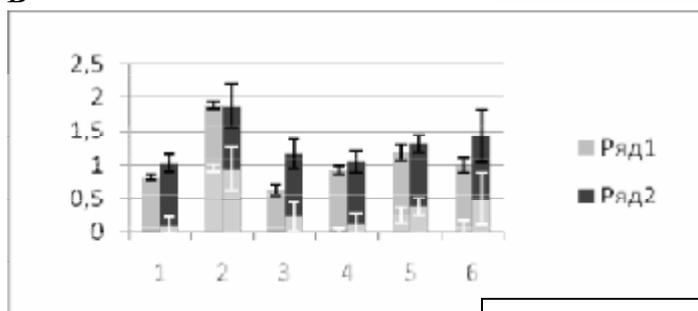
А

серию эксперимента



Б

серию эксперимента



В

серию эксперимента

Рис. 51. Активность каспазы-3 в мозге крыс в разных сериях эксперимента

А – 21-дневные крысы  
 Б – 3-4-месячные крысы  
 В – 18-месячные крысы

Ряд 1 – кора больших полушарий;  
 Ряд 2 – ствольные структуры

серию эксперимента:

1 - контроль;  
 2 – ГГ;  
 3 – кортексин;  
 4 – кортексин+ГГ;  
 5 – пинеалон;  
 6 – пинеалон+ ГГ;  
 7 – дельтаран;  
 8 – дельтаран+ГГ

Введение коротких пептидов способствует повышению интенсивности СРП в мозге 3-4 месячных животных: происходит накопление ТБК-реактивных продуктов (в меньшей степени при введении дельтарана), в коре больших полушарий при введении кортексина и дельтарана снижена суммарная пероксидазная активность, также выявлено увеличение

показателей хемилюминесценции, наиболее значимо при введении кортексина (Карантыш, Менджерицкий, 2013а).

В то же время в модели окклюзии сонных артерий введение дельтарана способствует даже более значительному возрастанию содержания ТБК-реактивных продуктов в структурах мозга (особенно, в стволовых структурах) 3-4-месячным животным, чем без предварительного введения данного пептида в модели ОСА. Как ранее было показано, в модели «дельтаран+ОГГ» в мозге крыс (в большей степени в стволовых структурах) значительно повышена активность каспазы-3, животные этой же группы демонстрировали более высокие показатели обучаемости в лабиринте Морриса относительно крыс, которым до ОГГ вводили пинеалон и кортексин. Данный факт также согласуется с ранее полученными результатами, согласно которым более высокий уровень интенсификации свободнорадикального окисления в коре больших полушарий у крыс после выработки УРАИ является одним из нейрохимических критериев их большей способности к обучению (Карантыш, Менджерицкий, 2013а). Введение и других исследованных пептидов при ОСА сопровождалось возрастанием интенсификации СРП (особенно, показателей хемилюминесценции при введении кортексина) в структурах мозга 3-4-месячных животных. Также на фоне введения кортексина (в отличие от других пептидов) обнаружено повышение содержания ИЛ-6 у 18-месячных крыс в сыворотке крови в контрольной группе и в модели ОСА. При введении пинеалона и дельтарана происходит снижение содержания в крови фактора некроза опухоли. ИЛ-6 в мозге может индуцировать каскад нейродегенеративных изменений (He et al., 2006). Можно предположить, что при ОСА происходит активация нейровоспаления, введение же кортексина перед ОСА снижает нейровоспалительный процесс, а введение пинеалона и дельтарана блокирует этот процесс относительно группы животных, которым моделировали ОСА без введения препаратов. Также, при введении пинеалона и дельтарана перед ОСА выявлено понижение уровня фактора некроза опухоли на 25% ( $p < 0,05$ )

относительно 1-й группы, что ассоциируют со снижением зоны инфаркта при ишемическом повреждении мозга (Pan, Kastin, 2007).

При изучении эффектов пептидов на содержание моноаминов в мозге крыс выявлены однонаправленные изменения уровня нейромедиаторов в структурах мозга крыс в зависимости от их возраста. Так, на фоне введения кортексина как интактных 21-дневных крыс, так и в модели пренатальной гипоксической гипоксии в стволовых структурах показано повышение содержания дофамина; у 3-4-месячных интактных животных и в модели ОГГ в коре больших полушарий происходит накопление адреналина и норадреналина, а в стволовых структурах наблюдали увеличение уровня адреналина и дофамина; в коре больших полушарий 18-месячных крыс интактных животных и в модели ОГГ выявлено повышение содержания ДОФА и дофамина относительно контрольных групп животных того же возраста (табл. 65).

При введении пинеалона у 21-дневных интактных животных и в модели пренатальной гипоксической гипоксии обнаружено повышение содержания серотонина в стволовых структурах; у 3-4-месячных интактных животных и в модели ОГГ в коре больших полушарий происходит накопление адреналина и норадреналина, а в стволовых структурах – адреналина; у 18-месячных интактных животных и в модели ОГГ в коре больших полушарий обнаружено повышение уровня дофамина, в стволовых структурах – адреналина относительно контрольных групп животных того же возраста.

В условиях введения дельтарана у 21-дневных интактных крыс и в модели пренатальной гипоксической гипоксии выявлено повышение содержания адреналина и норадреналина в стволовых структурах; у 3-4-месячных интактных животных и в модели ОГГ в коре больших полушарий происходит накопление норадреналина, дофамина и серотонина по сравнению с крысами контрольных групп того же возраста.

При проведении сравнительного анализа эффектов пептидов на нейромедиаторный баланс установлено, что кортексин оказывает большее

влияние на содержание в структурах мозга дофамина, пинеалон, соответственно, на уровень адреналина, а дельтаран – норадреналина.

Таблица 65

**Влияние пептидных препаратов на содержание моноаминов в коре больших полушарий (КБП) и стволовых структурах (СС) мозга крыс**

группы		кортексин	пинеалон	дельтаран
21-дневные крысы	Интактные	КБП: ↑ А СС: ↑ ДА	КБП: ↑ А, ↓ ДА СС: ↑ серотонина	СС: ↑ А, НА
	Пренатальная ГГ	КБП: ↓ ДА, серотонина СС: ↑ ДА, А	СС: ↑ серотонина	КБП: ↑ А; ↓ ДА СС: ↑ А, НА
3-4-месячные крысы	Интактные	КБП: ↑ А, НА  СС: ↑ А, НА, ДА	КБП: ↑ А, НА  СС: ↑ А, ДА	КБП: ↑ НА, ДА, серотонина СС: ↑ А, НА
	ОГГ	КБП: ↑ А, НА, ДА СС: ↑ А, ДА	КБП: ↑ А, НА СС: ↑ А, НА	КБП: ↑ НА, ДА, серотонина СС: ↑ серотонина
18-месячные крысы	Интактные	КБП: ↑ ДОФА, ДА СС: ↓ ДА	КБП: ↑ А, ДА СС: ↑ А	-
	ОГГ	КБП: ↑ ДОФА, ДА СС: ↑ А, НА	КБП: ↑ ДА, ДОФА СС: ↑ А	

Существуют данные, согласно которым дофамин может оказывать стресс-лимитирующее действие в условиях стресса. В том числе, агонисты дофаминовых D2- и D3-рецепторов обеспечивают защитное действие кортикальных олигодендроцитов при энергетическом дефиците и от токсического воздействия глутамата (Seif-El-Nasr et al., 2008). Протективный эффект оказывают дофамин и агонисты D4-рецепторов при ишемическом повреждении, травме мозга, нейродегенеративных заболеваниях (Ishige et al.,

2001). Согласно другим представлениям энергетический метаболизм в мозге регулируется через активацию  $\beta$ 2-адренорецепторов адреналином, а не норадреналином (Quistorff et al., 2008). Увеличение уровня адреналина в мозге способствует усилению гликогенолиза и гликолиза. Известно, что гликогенолиз, осуществляется при участии фосфорилазы, которая активируется путем фосфорилирования при помощи АТФ. Автор сообщает, что окислительное карбоксилирование в условиях энергетического дефицита в мозге усиливается через  $\beta$ 2-адренергический механизм.

В свою очередь норадреналин также выполняет защитную функцию в низких концентрациях (0,3-10 мкМоль). В этом случае происходит повышение выживаемости дофаминергических нейронов. Интересно отметить, что данный эффект связывают с ингибированием каспаз. Причем действие норадреналина не связано с уровнем активности адренорецепторов, активностью ферментов глутатионовой системы, но оно схоже с эффектами некоторых антиоксидантов. Авторы утверждают, что норадреналин в указанных концентрациях сам может выступать в качестве антиоксиданта (Troade et al., 2002). Кроме того показано, что регуляция энергетического метаболизма осуществляется и норадреналином. Так, S. Sangiao-Alvarellos et al. (2011) показано, что повышение уровня в мозге норадреналина приводит к истощению гликогена и АТФ, увеличению уровня лактата и пирувата, активности пируваткиназы и лактатдегидрогеназы, а также снижению активности фруктозо1,6-бифосфотазы. Вероятно, эффекты норадреналина на гликолиз и гликогенолиз опосредуются через активацию не  $\beta$ 2-, а другого типа адренорецепторов.

Таким образом, адаптивные перестройки нейромедиаторного баланса под влиянием коротких пептидов также опосредуют функциональные изменения на уровне энергетического баланса, состояния про- и антиоксидантных систем, а также протеолитических реакций. Это подтверждают и результаты данного исследования. Кроме того, смещение

нейромедиаторного баланса в условиях введения пептидов связывают и с их влиянием на поведенческие реакции.

Наиболее значимое влияние на структуру поведения и снижение эффектов гипоксического воздействия оказывает дельтаран, так у 21-дневных крыс (интактных и в модели пренатальной гипоксической гипоксии) наблюдали снижение вертикальной и горизонтальной локомоторной активности и мелкой двигательной активности на фоне повышения представленности поведенческого сна, релаксированного бодрствования, груминга и мотивационного поведения (табл. 66).

Введение дельтарана 3-4-месячным как интактным крысам, так и в модели острой гипоксической гипоксии способствовало сходным изменениям вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, а также поведенческого сна и релаксированного бодрствования.

Также нужно отметить тот факт, что эффекты на питьевое поведение оказали преимущественно дельтаран и в большей степени, - пинеалон. Дельта сон-индуцирующий пептид, входящий в состав дельтарана, взаимодействуя с опиоидной системой, проявляет гипногенные свойства и повышает резистентность организма к стрессу (Боголепов, Доведова, 2010). Очевидно, и пинеалон взаимодействует с опиоидной системой, чем можно объяснить однонаправленные эффекты этих двух пептидов на питьевое поведение.

Сходные эффекты на вертикальную и горизонтальную локомоторную активность и поведенческий сон оказывают кортексин и дельтаран у животных разных возрастных групп. В моделях гипоксической гипоксии введение кортексина также, как и дельтарана, способствует повышению релаксированного бодрствования. При введении пинеалона у животных разных возрастных групп происходят разнонаправленные изменения большинства поведенческих форм за исключением его эффектов на питьевое поведение.

Также установлена обратная зависимость между изменением уровня серотонина и потреблением пищи крысами под влиянием введения пептидов, что подтверждает данные литературы, согласно которым при повышении уровня серотонина в гипоталамических структурах возникает чувство сытости и пищевое поведение снижается (Halford, Harrold, 2012; Thomsen et al., 2008).

Таблица 66

**Влияние пептидных препаратов на поведение крыс разного возраста**

группы		кортексин	пинеалон	дельтаран
21-дневные крысы	Интактные	↓ R2-3, R6 ↑ R5, R7	↓ R5 ↑ R1, R4, R8	↓ R2-3, R6 ↑ R1, R4, R5, R7, R8
	Пренатальная ГГ	↓ R2-3, R6 ↑ R1, R5, R8	↓ R5, R8 ↑ R1	↓ R2-3, R6 ↑ R1, R4, R5, R7, R8
3-4-месячные крысы	Интактные	↓ R2-3, R6, R7 ↑ R1, R8	↓ R1, большое потребление воды ↑ R2-3, R5	↓ R2-3, R4, R6, R7 ↑ R1, R8
	ОГГ	↓ R2-3, R6, R7 ↑ R1, R5, R8	↓ R2-3, R5, R7, потребление воды ↑ R1, R8	↓ R2-3, R7 ↑ R1, R8
18-месячные крысы	Интактные	↓ R2-3, R5, R7, потребление воды ↑ R1	↓ R5, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	-
	ОСА	↓ R2-3, R5, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	↓ R2-3, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	

Однако между изменением уровня других нейромедиаторов в структурах мозга крыс и особенностями поведенческих реакций под влиянием введения коротких пептидов взаимосвязи не установлено. Очевидно, это является результатом не столько эффектов пептидов на метаболизм медиаторов, сколько на механизмы рецепторного связывания. Уровень же рецепторного связывания может изменяться в зависимости от разных факторов, в том числе, функциональной зрелости нейромедиаторной системы, стрессовых факторов и т.д.

В ходе проведенного исследования была сформулирована гипотеза о механизмах действия ишемии/гипоксии мозга на поведение и нейрохимические показатели крыс разного возраста. Известно, что в основе развития ишемического/гипоксического повреждения мозга лежат процессы апоптоза и некроза. В зависимости от степени интенсивности данного стрессового воздействия развитие патологического процесса может приводить к снижению резистентных свойств нейрохимических систем, что, в свою очередь отражается на их распределении в структурах мозга.

В случае окклюзии средней мозговой артерии повреждение достигает уровня, когда роль функциональной межполушарной асимметрии минимальна: уровень выживаемости, размер зон инфарктов и ряд других показателей, отражающих степень устойчивости к ишемии мозга, не различаются у крыс с разным латеральным профилем. Это дало основание предполагать, что в случае развития некротических повреждений мозга развивается функциональная симметризация регуляторных систем головного мозга.

При моделировании окклюзии сонных артерий не выявлено признаков некроза клеток, однако наблюдали изменения, характерные для ишемизации мозга: очаги глиальной инфильтрации, гиперхромные пирамидные нейроны, отек в области гиппокампа. Тем не менее, выявлены различия в устойчивости к данному виду стресса у животных с разным латеральным профилем: процент выживаемости животных с ЛЛП был выше относительно крыс с ПЛП. Вероятной причиной данного факта может быть то, что после моделирования ОСА у крыс, особенно, с ПЛП, наблюдали снижение асимметрии в распределении медиаторов в структурах правой и левой половин головного мозга. Одним из критериев устойчивости к данному виду стресса, вероятно, является увеличение активности норадренергической системы в коре больших полушарий животных. Тогда как истощение медиаторного баланса при окклюзии сонных артерий – есть отражение снижения резистентных свойств нервной системы.

Известно, что в основе изменений регуляции мозгового кровообращения, в том числе, и при ишемии/гипоксии мозга, лежат различные нейрогуморальные механизмы, в реализации которых непосредственное участие принимают нейромедиаторные системы, оксид азота, уровень которого зависит от активности различных форм NO-синтаз, показатели свободнорадикальных процессов и множества других факторов. В настоящее время накоплено достаточное количество данных, подтверждающих связь между изменением активности NO-синтаз и проапоптотическими факторами (Осипов и др., 2007; Moll, Zaika, 2001; Weiland et al., 2000), в том числе каспазы-3; очевидно в регуляции латерализации функций нервной системы могут принимать участие и функциональная активность данных ферментативных систем.

Таким образом, степень изменений в нейрогуморальной регуляции мозгового кровообращения при ишемическом/гипоксическом поражении мозга зависит от того, по какому пути развивается патологический процесс: через развитие некроза или апоптоза.

Все выше описанные процессы отражаются на поведенческих реакциях организма. Так, в модели окклюзии средней мозговой артерии принципиальных различий в неврологическом статусе у крыс с разным латеральным профилем не обнаружено.

Но в условиях стресса меньшей интенсивности (окклюзии сонных артерий) роль функциональной межполушарной асимметрии прослеживается. В том числе, сохранность выработанных рефлексов после окклюзии сонных артерий у животных с леволатеральным профилем была выше относительно крыс с ПЛП.

В работе А.М. Mendzeritski et al. (2008) было показано, что после окклюзии сонных артерий у животных с ПЛП наступает истощение антиоксидантной системы защиты значительно быстрее по сравнению с крысами с леволатеральным профилем, но введение ингибитора индуцибельной и нейрональной NO-синтазы (AR-R 17477) снижает

вызываемые ОСА события. Развитие окислительного стресса в условиях стрессового воздействия у животных с разным латеральным профилем определяет особенность стратегии их адаптации, в основе чего, вероятно, лежит разная степень активации у них проапоптотических ферментов в структурах мозга.

Также нужно отметить, что и в контрольных группах крыс у особей с леволатеральной моторной асимметрией выше способность к выработке условной реакции активного избегания относительно животных с ПЛП, что связано с особенностью метаболических реакций у крыс с ЛЛП в коре больших полушарий (о чем судили по степени интенсивности свободнорадикальных процессов).

Способность к обучению является отражением развивающихся пластических изменений в мозге: формируются новые синаптические контакты на фоне элиминации других нейронов (принимающих участие в совершении поведенческого акта по предыдущей схеме), активность которых сопровождается повышенными метаболическими «потребностями», и что является противоречием с новыми способами согласования «потребностей» клеток индивида (Александров, 2004). Это косвенно подтверждают и полученные в нашей лаборатории данные (Косенко и др., 2007), согласно которым у крыс с ПЛП после ОСА развивается более значительный энергетический дефицит в мозге относительно животных с леволатеральным профилем. Поэтому в условиях ОСА в группе крыс с праволатеральным профилем выше уровень смертности, а у выживших – ниже способность к сохранности УРАИ относительно животных с леволатеральным профилем.

В настоящее время все больше обсуждают проблему включения активности ранних генов в обучение и поведение (Анохин, 1998; 2009; Anokhin, Rose, 1991; и др.). Известно, что осуществление поведения обеспечивается не только посредством реализации новых систем, сформированных при обучении актам, которые составляют это поведение, но и посредством одновременной реализации множества более старых систем,

сформированных на предыдущих этапах индивидуального развития (Судаков, 1993).

Пренатальный стресс, приходящийся на предплодный и плодный периоды, оказывает наиболее негативное влияние на обучение крыс, относительно острого гипоксического воздействия у половозрелых и 18-месячных крыс. Это может быть связано с особенностями морфогенеза в пренатальном периоде развития. Каждый акт обучения – это эпизод морфогенеза. Гибель клеток имеет место не только в условиях патологии, но и при созревании (Александров, 2004). Однако, окислительный стресс в пренатальном периоде, потенцирующий процесс чрезмерного метилирования ДНК, играет трагическую роль в созревании функциональных систем мозга: снижается способность к изменению программы адаптации к меняющимся условиям окружающей среды (Pendina et al., 2011).

В связи с этим изменения в функциональном состоянии разных нейрохимических систем, являются эндогенным посредником (опосредованно через изменение активности ранних генов), влияющим на реализацию поведенческого акта. Можно предположить, что экзогенные факторы, такие как пептидные препараты, также могут включаться в данный процесс. Существуют данные, согласно которым структура пептидов обеспечивает условия для узнавания и комплементарного связывания пептида с определенной последовательностью функциональных групп нуклеотидов на поверхности большой канавки двойной спирали ДНК в области промоутерного участка гена (Хавинсон и др., 2005; Jen-Jacobson, 1995; Yang, Van Duynе, 2004; и др.). Существует также представление о том, что соединения пептидной природы могут осуществлять свои функции на уровне межклеточного взаимодействия между геномом и структурно-функциональными элементами нейроиммуно-эндокринной регуляции (Акмаев, 1996, 1997; Пальцев, Кветной, 2008). Такой комплексный подход к проблеме может объяснить то, почему пептиды способны оказывать

продолжительные эффекты на поведение. Так, в данной работе были продемонстрированы эффекты пептидных препаратов на поведение животных разного возраста. Показаны, во-первых, различия между влиянием на структуру поведения кортексина и пинеалона у животных 3-4- и 18-месячного возраста, но также и продолжительные эффекты дельтарана, кортексина и пинеалона на поведение 21-дневных крыс, которым пренатально вводили эти препараты.

Таким образом, пептидные препараты могут по-разному влиять на обучение и поведение в зависимости от условий, в которых находится организм. Данный факт можно объяснить полифункциональностью пептидов: большинство пептидов оказывает влияние на свободнорадикальное окисление (Болдырев, 1999; Гуляева и др., 1988; Лебедько, Тимошин, 2006; Формазюк и др., 1992 и др.), нейромедиаторные системы (Королева и др., 2006; Менджеричкий и др., 2003; Левин и др., 2004; Левицкая и др., 2002; Хама-Мурад и др., 2008; Ashmarin, Koroleva, 2002 и др.).

Было показано, что эффективность пептидных препаратов на обучение зависит от их влияния на систему каспазы-3, что дает основание предполагать тот факт, что данные препараты способны потенцировать процессы нейрогенеза/синаптогенеза на фоне активации апоптоза. Наибольшую эффективность имеет дельтаран относительно пинеалона и кортексина.

Также установлены особенности реагирования организма на введение пептидных препаратов у животных разного возраста в условиях ишемии/гипоксии мозга. Интересен тот факт, что пренатальное введение дельтарана (в отличие от других исследованных пептидных препаратов) способствовало одинаковым изменениям в структуре поведения 21-дневных крыс как контрольной группы, так и подвергнутых пренатальному стрессу. Вероятно, введение пептидных препаратов, особенно, дельтарана,

способствует снижению эффектов данного вида стресса на процессы метилирования ДНК, активирующиеся при окислительном стрессе.

При сравнении показателей нейрохимических систем у крыс разного возраста отмечено снижение интенсивности свободнорадикальных процессов к 18-месяцам у животных относительно 3-4-месячного возраста, что согласуется с данными литературы (Козина, 2007). При этом уровень активной каспазы-3 в структурах мозга 18-месячных крыс не отличается от показателя 3-4-месячных животных. В тоже время активность данной протеазы была выше у молодых крыс относительно старых животных. В связи с чем, вероятно, уровень обучаемости и адаптационных процессов в целом у 3-4-месячных крыс выше в условиях ишемии/гипоксии мозга. В результате проведения регрессионного анализа показателей обучаемости крыс разного возраста и активностью каспазы-3 в мозге были выявлены возрастные особенности связи этих показателей у животных, находящихся в разных экспериментальных моделях (рис. 52).

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 21-дневных крыс имеет следующий вид:

$$F=0.0016827*x^2-0.1627192*x+3.9857419$$

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 3-4-месячных крыс имеет следующий вид:

$$F=-0.0042768*x^2+0.1698339*x+2.736771$$

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 18-месячных крыс имеет следующий вид:

$$F=0.0055051*x^2-0.1728361*x+2.1122098,$$

где  $x$  – показатель активности каспазы-3 в мозге крыс.

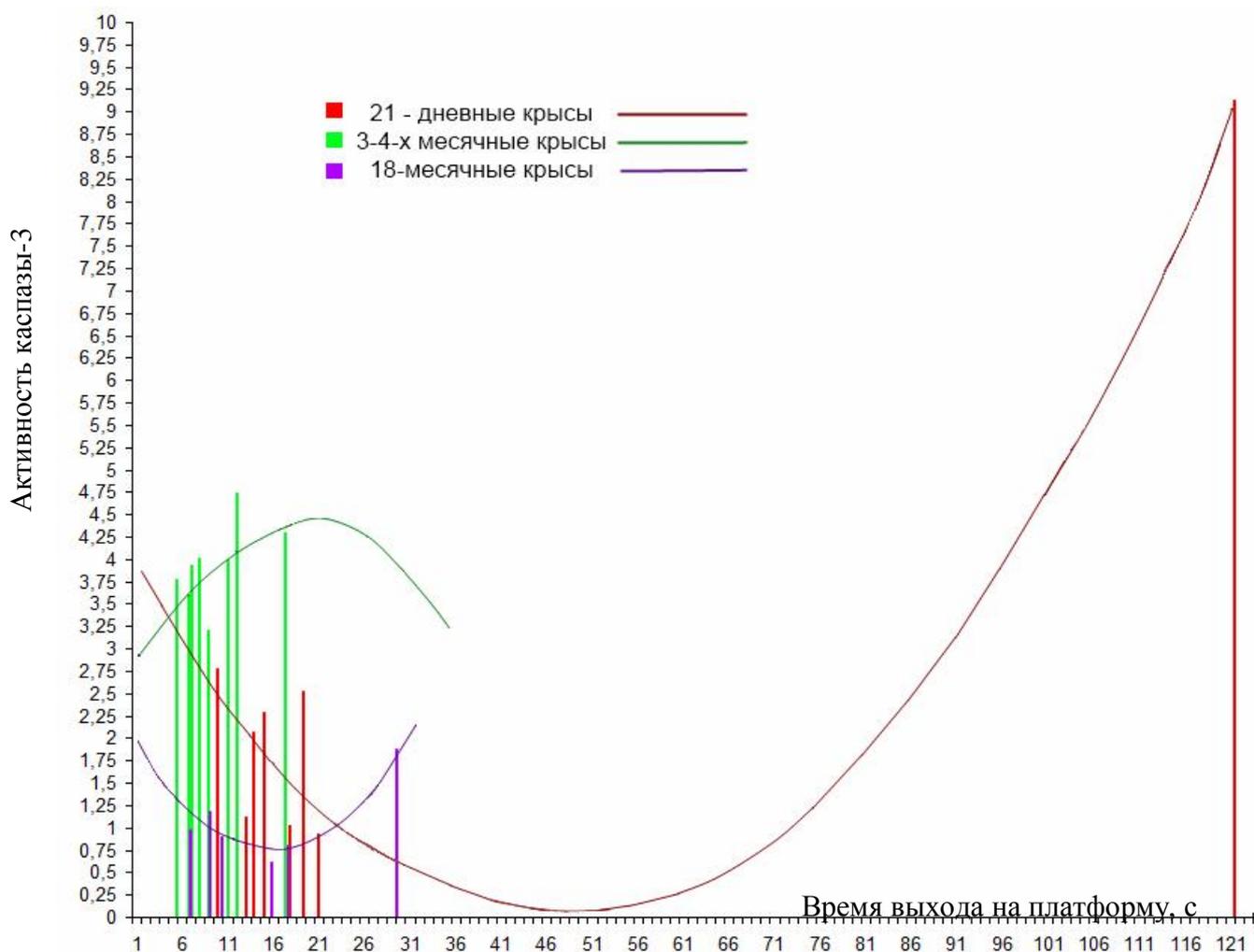


Рис. 52. График линии регрессии прогнозируемых и наблюдавшихся значений параметра «обучаемость»

Таким образом, изменение обучаемости, а также изменения в структуре поведения – есть отражение многофакторных изменений на уровне метаболических процессов в мозге. Зависят эти изменения от морфофункционального состояния систем мозга (в том числе возрастных особенностей нейрогенеза и метаболических процессов), а также уровня устойчивости нейрхимических систем к действию стрессового фактора: состояния про- и антиоксидантной системы, энергетического и нейромедиаторного баланса, протеаз и т.д. Изменения на этих уровнях влияет на внутриклеточный ответ; в условиях внешнего воздействия в процесс включаются ранние гены, и далее, на основе уже накопленного опыта изменяется активность поздних генов, и происходит формирование нового поведенческого акта.

## ВЫВОДЫ

1. В норме у крыс в структуре поведения с возрастом повышается время поведенческого сна, тогда как изменения других форм поведения (ориентировочного поведения, мелкой двигательной активности, груминга и релаксированного бодрствования) носят нелинейный характер. Возрастные особенности поведения крыс определяются динамикой метаболических процессов в мозге, в частности свободнорадикальных процессов, уровня нейромедиаторов и активности каспазы-3.

2. В модели пренатальной гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки гестационного периода, у 21-дневных крыс в структуре поведения преобладает ориентировочное поведение. В моделях острой гипоксической гипоксии у 3–4-месячных крыс и окклюзии сонных артерий у 18-месячных животных наблюдается повышение релаксированного бодрствования и снижение локомоторной активности. Данные изменения поведения животных разного возраста сопровождаются повышением активности каспазы-3, интенсификацией свободнорадикальных процессов и снижением содержания норадреналина и дофамина в структурах мозга.

3. В норме активность и экспрессия каспазы-3 в мозге крыс повышаются к 3–4-месячному возрасту, а к 18-месяцам значительно снижаются относительно предыдущих возрастных периодов. У 21-дневных и 18-месячных крыс в разных экспериментальных моделях между активностью каспазы-3 в мозге и обучаемостью существует зависимость, имеющая форму перевернутого колокола; у 3-4-месячных крыс характер этой зависимости противоположный.

4. У животных с леволатеральным профилем выше интенсивность свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий и способность к выработке условной реакции активного избегания относительно крыс с праволатеральным профилем. В модели окклюзии сонных артерий менее значительное нарушение условно-рефлекторной деятельности происходит у

животных с леволатеральным профилем, у которых также установлено повышение содержания норадреналина в коре больших полушарий. Тогда как у крыс с праволатеральным профилем наблюдается снижение содержания моноаминергических нейромедиаторов; смещение баланса медиаторов происходит в сторону большей активности серотонинергической системы.

5. В модели окклюзии левой средней мозговой артерии у крыс с леволатеральным профилем установлена зависимость между объемом инфарктов мозга и неврологическим статусом. У животных с праволатеральным профилем в моделях окклюзии левой/правой средней мозговой артерии выявлены прямые корреляционные связи между объемами инфарктов мозга и весом крыс.

6. В норме введение пептидных препаратов способствует повышению активности каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста и улучшению мнестических функций относительно животных контрольных групп. В моделях ишемии/гипоксии мозга введение пептидных препаратов повышает уровень обучаемости крыс и имеет возраст-зависимый характер. У 21-дневных крыс наибольшую эффективность влияния на латентное обучение показал дельтаран. В 3–4-месячном возрасте введение кортексина, пинеалона или дельтарана до моделирования ишемии/гипоксии мозга имело одинаковую эффективность. В 18-месячном возрасте лучше обучались крысы, которым вводили пинеалон и дельтаран.

7. В условиях моделирования ишемии/гипоксии мозга у животных 18-месячного возраста введение пептидных препаратов способствовало повышению времени поведенческого сна, снижению питьевого поведения, мелкой двигательной активности и груминга относительно крыс 3–4-месячного возраста и особенно 21-дневных животных. Сходное влияние на вертикальную и горизонтальную локомоторную активность и поведенческий сон у животных разного возраста оказало введение кортексина и дельтарана. Кортексин оказывает большее влияние на содержание дофамина, пинеалон –

на уровень адреналина, а дельтаран – норадреналина в структурах мозга крыс разного возраста в моделях гипоксической гипоксии.

8. Выявленные возрастные особенности метаболических процессов в мозге определяют онтогенетические изменения в структуре поведения животных как в норме, так и в условиях ишемии/гипоксии мозга.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействии регулирующих систем: нервной, эндокринной и иммунной. // Успехи физиологич. наук. - 1996. - Т. 27. - № 1. С. 3-19.
2. Акмаев И.Г. Взаимодействие основных регулирующих систем (нервной, эндокринной и иммунной) и клиническая манифестация их нарушений. // Клиническая медицина. 1997. - № 11. - С. 8-14.
3. Александров Ю.И. Научение и память: системная перспектива. // Вторые симоновские чтения. / Под ред. И.А. Шевлева и др. - М.: Изд. РАН. - 2004. - С. 3-51.
4. Александров Ю.И. Системогенез и смерть нейронов. // Нейрохимия. – 2004. – Т. 21. - № 1. - С. 5-14
5. Андриадзе Н.А., Сукоян Г.В., Отаришвили Н.О. и др. Антигипоксанта прямого действия энергостим в лечении острого инфаркта. // Российские медицинские вести. - 2001. - № 2. - С. 31-42.
6. Анисимов В.Н. Средства профилактики преждевременного старения (геропротекторы). // Успехи геронтологии. - 2000. - № 4. - С. 55-74.
7. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2 т. – 2-е изд-е перераб. и доп. - СПб.: Наука, 2008. - Т. 2. - 434 с.
8. Анисимов В.Н. Генетический и эпигенетический контроль продолжительности жизни. Канцерогенез и старение. // Генетика продолжительности жизни и старения: материалы Международной конф. Сыктывкар. - 2010. - С. 4–5.
9. Анохин П. К. Системогенез как общая закономерность эволюционного процесса. //Бюлл. exper. биол. – 1948. – Т. 26. - Вып. 2. - № 8. - С. 81-99.

10. Анохин П.К. Функциональная система, как методологический принцип биологического и физиологического наследования. / В кн.: Системная организация физиологических функций. - М., 1968. - С. 5-7.
11. Анохин К.В. Экспрессия ранних генов в механизмах памяти. // Вестник РАМН. - 1998. - № 12. - С. 58-61.
12. Анохин П.К. Системный анализ условного рефлекса. // Журн. высш. нерв. деят. - 1973. - Т. 23 - С. 229-247.
13. Анохин К.В. Молекулярные основы обучения и развития мозга: на пути к синтезу. / В кн.: Когнитивные исследования: Проблема развития. - М.: ИП РАН. - 2009. - Вып. 3. - С. 101–115.
14. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма.- СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000.- 104 с.
15. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. - М.: Наука, 1982. - 270 с.
16. Ахапкина В.И., Воронина Т.А. Изучение противоинсультного действия Фенотропила на модели геморрагического инсульта (интрацеребральная посттравматическая гематома) у крыс. // Атмосфера. Нервные болезни. - 2006. - №1. – С. 1-12.
17. Ашмарин И.П., Обухова М.Ф. Современное состояние гипотезы о функциональном континууме регуляторных пептидов. // Вестник РАМН. - 1994. - № 10. - С. 28-34.
18. Ашмарин И.П., Стукалов П.В., Ещенко Н.Д. Биохимия мозга.- Изд-во Санкт-Петерб. унив-та, 1999.- 576 с.
19. Ашмарин И.П., Обухова М.Ф., Соколова Н.А. Функциональный континуум регуляторных пептидов. // В мат. XVII Съезда физиологов России. - Ростов-на-Дону. - 1998. - С. 402.
20. Ашмарин И. П., Королева С. В., Мясоедов Н. Ф. Синактоны - функционально связанные комплексы эндогенных регуляторов. //

- Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2006. - № 5. - С. 3-6.
21. Балабан П.М., Гуляева Н.В. Общность молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии: интегративный подход. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2006. - Т. 92. - № 2. - С. 145-151.
22. Баллонов Л.Я., Дёглин В.Л., Кауфман Д.А. и др., Функциональная специализация и особенности нервной организации доминантного и недоминантного полушарий. / В кн.: Функциональная асимметрия и адаптация человека. - М. - 1976. - С. 22.
23. Баннова А.В., Меньшанов П.Н., Ильиных Ф.А., Калинина Т.С., Дыгало Н.Н. Уровень мРНК белков апоптоза - Вах и Bcl-XL в стволе и коре головного мозга крыс в онтогенезе. // Бюлл. эксп биол. мед. - 2005. - Т. 139. - № 6. - С. 669-671.
24. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. и др. Перекисное окисление и стресс. - СПб.: Наука - 1992. - 148 с.
25. Бархатов Д.Ю., Коновалов Р.Н., Федин П.А. и др. Эффективность нейропротекции в терапии когнитивных нарушений при хронической ишемии мозга. // РМЖ. - 2011. - № 30. - С. 1884-1890.
26. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность. - М.: Высшая школа. - 1991. - 256 с.
27. Батуев А.С., Таиров О.П. Мозг и организация движений. Концептуальные модели. - Л.: Наука. - 1978. - 275 с.
28. Бахшалиева А.Я. Оксидативные аспекты влияния антидепрессантов в индивидуальном подходе парного мозга. // Ж. Асимметрия. - 2010. - № 4. - С. 20-22.
29. Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л., Павлов С.В. и др. Роль гена раннего реагирования c-fos в норме и в нейродеструктивной токсической патологии. Возможности фармакокоррекции нейропептидными

- лекарственными средствами. // Современные проблемы токсикологии. - 2008. - № 1. - С. 17-27.
- 30.Белушкина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза. // Архив Патологии. - 2001. - Т. 63 - № 1. - С. 51-60.
- 31.Бехтерева Н.П. Здоровый и больной мозг человека. - Л. – 1980. – 28 с.
- 32.Бианки В.Л. Асимметрия мозга животных. - Л.: Наука. – 1985. - 295 с
- 33.Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). - М.: Медицина. - 1989. - 368 с.
- 34.Боголепов Н.Н., Доведова Е.Л. Пролонгированный эффект тетрапептида на метаболизм нейромедиаторов в корково-подкорковых структурах мозга. // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2010. - Т. 6. - № 2. - С. 370-374.
- 35.Болдырев А.А. Карнозин и защита тканей от окислительного стресса. - М., 1999. – 223 с.
- 36.Болдырев А.А., Булыгина Е.Р., Степанова М.С., Карнозин защищает мозг в условиях окислительного стресса, создаваемого в период пренатального развития. // Журнал акушерства и женских болезней. - 2010. - № 4. - С. 81-89.
- 37.Брагина Н.М., Доброхотова Т.А. Функциональные асимметрии человека. - М. - 1981. - 211 с.
- 38.Будко К.П., Гладкович Н.Г., Максимова Е.В. и др. Основные этапы дифференцировки нервных клеток. Нейроонтогенез. - М.: Наука. -1985. - 270 с.
- 39.Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. / Под ред. А. С. Батуева - М.: Высш. шк. - 1991. - 398 с.
- 40.Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты: новые идеи и повторение пройденного. / В кн.: Биоантиоксиданты. – Тюмень: Изд-во Тюменского гос. ун-та. - 1997. - С. 64-67.

41. Вальдман А.В. Модулирующее действие коротких пептидов на моноаминергические процессы мозга как основа их психотропного эффекта. // Вопросы мед. химии. - 1984. - Т. 30. - Вып. 3. - С. 56-63.
42. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях. // Вестник РАМН. - 2000. - № 4. - С. 3-5.
43. Васильев Д.С., Туманова Н.Л., Озирская Е.В. и др. Пренатальная гипоксия нарушает формирование нервной ткани базальных ганглиев мозга в онтогенезе крысы. // Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - Екатеринбург. - 2004. - Т. 90. - № 8. - С. 159-160.
44. Ватаева Л.А., Косткин В.Б., Макухина Г.В. и др. Поведение в "Открытом поле" у самок и самцов крыс, подвергавшихся действию гипоксии в различные сроки пренатального периода развития. // Докл. Акад. Наук. - 2001. - Т. 380. - № 1. - С. 125-127.
45. Ватаева Л.А., Косткин В.Б., Макухина Г.В. Условнорефлекторная реакция пассивного избегания у самок и самцов крыс, подвергшихся воздействию гипоксии в различные сроки пренатального периода развития. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. - 2004. - Т. 40. - № 3. - С. 250-253.
46. Ведясова О.А., Кузьмина В.Е., Сергеева Л.И. Малый практикум по нервно-мышечной физиологии: учеб. пособие. – Самара. - 2003. - 61 с.
47. Венгеровский А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. // Бюллетень сибирской медицины. - 2002. - № 1. - С. 25-29.
48. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2000. - № 4. - С. 5-10.
49. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах. // Соросовский образовательный журнал. - 2000. - № 12. - С. 13-19.
50. Владимирская Е.Б. Механизмы апоптотической смерти. // Гематология и трансфузиология. - 2002. - Т. 47. - № 2. - С. 35-40.

51. Войтенко Н.Н. Действие дельта-сон индуцирующего пептида и эмоционального стресса, примененных пренатально, на моноаминоксидазу мозга и на поведение взрослых потомков-самцов мышей DD. // *Нейрохимия*. - 2008. - № 3. - С. 227-232.
52. Володин Н.Н., Чехонин В.П., Лебедев С.В. и др. Проблемы и перспективы экспериментального моделирования перинатальных гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы. // *Вестник Российской Академии медицинских наук*. - 2009. - № 2. - С. 21-26.
53. Газзанига М. Расщепленный человеческий мозг // *Восприятие. Механизмы и моделию* – М., 1974. – С. 47-57.
54. Ганнушкина И.В., Шафранова В.П., Федорова Т.Н., Баранчикова М.В., Ларский Э.Г., Коршунова Т.С. Защитный эффект антиоксиданта ионола при ишемии мозга с рециркуляцией в эксперименте. // *Патол. физиол. и экспериментальная терапия*. - 1986. - № 3. – С. 36-38.
55. Ганнушкина И.В. Патофизиологические механизмы нарушений мозгового кровообращения и новые направления в профилактике и лечении. // *Журн. неврол. и психиатр.* - 1996. - № 1 - С. 14-18.
56. Гомазков О.А. Молекулярные механизмы регуляции нейрохимических процессов. История и современный взгляд // *Успехи физиологических наук*. - 2003. - Т.: 34, № 3. - С. 42-54.
57. Горбунова А.В. Вегетативная нервная система и устойчивость сердечно-сосудистых функций при эмоциональном стрессе. // *Нейрохимия*. - 2000. - Т. 17. - № 3. - С. 163-184.
58. Граф А.В., Гончаренко Е.Н., Соколова Н.А. Антенатальная гипоксия: участие в развитии патологии ЦНС в онтогенезе. // *Нейрохимия*. - 2008. - Т. 25. - С. 11-16.
59. Граф А.В., Маслова М.В., Маклакова А.С. и др. Антенатальная острая гипоксия на разных стадиях эмбриогенеза изменяет паттерны поведения и уровень биоаминов у потомства // *Российский*

- физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2005. - Т. 91. - №2. - С. 152-157.
60. Григорьев Н.Р., Баталова Т.А., Кириченко Е.Ф. и др. Типологические особенности поведения крыс. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2007. - Т. 93. - № 8. - С. 817-826.
61. Громова О.А. Нейротрофическая система мозга: нейропептиды, макро- и микроэлементы, нейротрофические препараты. // Оригинальные исследования. - 2007. - Вып. 2. - № 12. - С. 57-63.
62. Гуляева Н.В., Обидин А.Б., Левшина И.П. и др. Влияние карнозина на показатели свободнорадикального окисления липидов при остром стрессе у крыс // Науч. докл. Высш. школы. Биол. науки. - 1989. - №8. - С. 5 - 16.
63. Гуляева Н.В., Лузина Н.Л., Левшина И.П. Стадия ингибирования перекисного окисления липидов при стрессе. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1988. - Т. 106. - № 12. - С. 660-663.
64. Гуляева Н.В. Неапоптотические функции каспазы-3 нервной // Биохимия. - 2003. - № 68. - С. 1459-1470.
65. Гуляева Н.В. «Апоптотические» ферменты в пластичности нормального мозга: каспаза-3 и длительная потенциация. // Журнал ВНД. - 2004. - Т. 3. - № 4. - С. 437-447.
66. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга.- М.: Медицина, 2001.- 328 с.
67. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Мартынова М.Ю. Церебральный инсульт: проблемы и решения. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2003. - № 11. - С. 44-48.
68. Гусейнова Л.М., Рашидова А.М., Фараджев А.Н. Влияние неблагоприятных факторов среды на активность пируваткиназы коры больших полушарий головного мозга белых крыс в постнатальном онтогенезе. // Ж. Асимметрия. – 2012. –Т. 6. - № 4. - С. 33-37.

69. Деглин В.Л., Черниговская Т.В. Решение силлогизмов в условиях преходящего угнетения правого или левого полушарий мозга. // Физиология человека. - 1990. - Т. 16. - № 5. - С. 21–28.
70. Драпкина О.М., Клименков А.В., Ивашкин В.Т. Апоптоз кардиомиоцитов и роль ингибиторов АПФ. // Российский кардиологический журнал. - 2003. - Т. 39. - № 1. - С. 81-86.
71. Дремина Е.С., Шаров В.С., Владимиров Ю.А. Использование кинетики  $Fe^{2+}$  индуцированной хемилюминесценции в трис-буферной суспензии липосом для исследования антиоксидантной активности плазмы крови. // Биофизика. - 1993. - Т. 38. - № 6. - С. 1047-1052.
72. Дубровская Н.М., Наливаева Н.Н., Тернер Э.Дж. и др. Влияние ингибитора  $\alpha$ -секретазы, метаболизирующей предшественник амилоидного пептида, на формирование памяти у крыс. // Журн. высш. нерв. деят. - 2005. - Вып. 55. - № 6. - С. 725-728.
73. Епишина В.В., Багметов М.Н., Садыкова Т.В. и др. Изучение антидепрессивного действия нового производства ГАМК у животных с различным типом поведенческой активности. // Матер. 4-й Междунар. конф. «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам». - 2006. - С. 29.
74. Ефимов В.М., Акимов И.А., Галактионов Ю.К. Формальная иерархическая классификация типов билатеральной асимметрии биологических объектов // Докл. АН УССР. - Сер. 6. - Геол., хим. и биол. науки. - 1987. - № 3. - С. 64-66.
75. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю. и др. Профилактика нарушений мозговой перфузии и нейрокогнитивной дисфункции у больных ишемической болезнью, перенесших аортокоронарное шунтирование. // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2002. - №3. - С. 38-43.
76. Журавин И.А. Формирование центральных механизмов регуляции двигательных функций млекопитающих в зависимости от условий

- эмбрионального развития. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. - 2002. - Вып. 38. - № 5. - С. 478-484.
77. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., Утехин В.И. и др. Введение в экспериментальную патологию. - СПб.: Элби-СПб. - 2003. - С. 35-36.
78. Зарубина И.В., Курицына Н.А., Шабанов П.Д. Поведенческие и метаболические изменения в мозге различных по устойчивости к гипоксии крыс после перенесённой черепно-мозговой травмы. // Механизмы функционирования висцеральных систем: III Всерос. конф., посв. 175-летию Ф.В. Овсянникова. – СПб., 2003. – С. 117-118.
79. Захаров В.М. Асимметрия животных: популяционно-феногенетический подход. - М.: Наука. - 216 с.
80. Зенков Н.К. Меньщикова Е.Б., Вольский Н.Н. и др. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Успехи современной биологии. - 1996. - Т. 117. - № 5. - С. 439-449.
81. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. - М.: Знание-М. - 2000. - 344 с.
82. Иванов К.П. Гипоксия мозга и гибель нейронов вследствие нарушения микроциркуляции в мозге и регионального мозгового кровообращения. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2010. - № 2. - С. 5-17.
83. Иззати-Заде К.Ф., Баша А.В., Демчук Н.Д. Нарушения обмена серотонина в патогенезе заболеваний нервной системы. // Журнал неврологии и психиатрии. - 2004. - № 9. - С. 62-70.
84. Ильющенок Р.Ю. Фармакология поведения и памяти. - Новосибирск: Наука, 1972. - 222 с.
85. Иоффе М.Е. Механизмы двигательного обучения. - М.: Наука. - 1991. - 136 с.
86. Иоффе М.Е., Плетнева Е.В., Сташкевич И.С. Природа функциональной моторной асимметрии у животных. / В кн.: Функциональная

- межполушарная асимметрия. - М.: Научный мир. - 2004. - С. 80-97.
- 87.Исмаилова Х.Ю., Агаев Т.Н., Семенова Т.Н. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы). - Баку: Нурлан. - 2007. - 228 с.
- 88.Кадыков А.С. Реабилитация после инсульта.- М., 2003. – 175 с.
- 89.Кадыков А.С., Шахпаронова Н.В. Профилактика повторного ишемического инсульта. // Consilium Medicum. - 2006. - Т. 8. - № 2. - С. 2-8.
- 90.Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе // Морфология. - 2007. - Т. 131 - № 2. - С. 16-28.
- 91.Калуев А.В. Груминг и стресс. - М.: АВИКС. - 2002. - 161 с.
- 92.Каменская В.М., Брагина Н.Н., Доброхотова Т.А. К вопросу о функциональных связях правого и левого полушария с различными отделами средних структур у правшей. Функциональная асимметрия и адаптация человека. - М.: Наука. - 1976. - С. 25-27.
- 93.Каменский А.А., Калихевич В.Н., Сарычева Н.Ю. Временные характеристики действия тафцина на поведенческие реакции. // Бюл. exper. биол. и мед. - 1986. - Т. 101. - № 1. - С. 52-57.
- 94.Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - 2000. - Т. 2. - С. 442-444.
- 95.Карамян А.И. Эволюция конечного мозга позвоночных. - Л.: Наука, 1978. – 256 с.
- 96.Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А., Менджерицкий А.М. Пептидная регуляция поведения и медиаторного баланса у старых крыс в условиях окклюзии сонных артерий. // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 6(6). - С. 1406-1410.
- 97.Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Роль латерального профиля на выработку условной реакции активного избегания и

- свободнорадикальные процессы в мозге крыс. //Фундаментальные исследования. - 2013. - №4 (3). - С. 646-649.
98. Карманова И.Г., Оганесян Г.А. Физиология и патология цикла бодрствование-сон. - СПб.: Наука. - 1994. - 375 с.
99. Кассиль В.Г., Отеллин В.А., Хожай Л.И. и др. Критические периоды развития головного мозга. // Рос. физиол. журн. - 2000. - Вып. 86. - № 11. - С. 1418-1425.
100. Квитко О.В. Сопряженный с развитием эпигенетический механизм репарации возрастных нарушений. // Международная конференция «Генетика продолжительности жизни и старения». - 2010. - Сыктывкар. - С. 9-10.
101. Ким Т.К., Рыжак Г.А., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Влияние дельтарана на медиаторный баланс мозга молодых и старых крыс с леволатеральным профилем в условиях окклюзии сонных артерий//Успехи геронтологии. – 2007. –Т. 20. - № 2. –С. 138-142.
102. Клуша В.Е. Пептиды - регуляторы функций мозга. - 1984. - 181 с.
103. Коган А.Б. Основы физиологии высшей нервной деятельности. - М.: Высшая школа, 1988. - 368 с.
104. Коган А.Х., Кудрин А.Н., Кактурский Л.В. и др. Свободнорадикальные перекисные механизмы патогенеза ишемии и ИМ и их фармакологическая регуляция. // Патофизиология. - 1992. - № 2. - С. 5-15.
105. Козина Л.С. Влияние биологически активных тетрапептидов на свободнорадикальные процессы. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. - 2007. - Т. 143. - № 6. - С. 690 - 692.
106. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. //Вестн. новых медицинских технологий. – 2002. – Т. 9. - № 1. - С. 16–18.

107. Кольтовер В.К. Свободнорадикальная теория старения: современное состояние и перспективы. // Успехи геронтологии. - 1998. - Вып. 2. - С. 37-42.
108. Кольтовер В.К. Свободно радикальная теория старения: исторический очерк. // Успехи геронтологии. - 2000. - №4. - С. 33-40.
109. Колышкин В.В. Асимметрия функционального состояния полушарий головного мозга при адаптации к новым климато-географическим условиям. // Физиология человека. - 1993. - № 2 – С. 77-79.
110. Королева С.В., Николаева А.А., Ашмарин И.П. Взаимодействие дофамина, серотонина и других факторов внутреннего подкрепления. // Изв. РАН сер. Биол. - 2006. - № 4. - С. 457-469.
111. Косенко Ю.В., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Влияние ингибитора индуцибельной NO-синтазы на энергетический метаболизм в мозге правополушарных крыс. // Сборник тезисов докладов 2-й Научно-практической конференции «Современные проблемы общей биологии и естествознания». - Ростов-на-Дону.: Изд-во ПИ ЮФУ. - 2007. - С. 33-35.
112. Косенко Ю.В., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Энергетический обмен в мозге крыс с разным латеральным профилем при окклюзии сонных артерий. // Фундаментальные исследования. - 2007. - № 4. - С. 64.
113. Косенко Ю.В., Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Влияние функциональной межполушарной асимметрии и ингибитора индуцибельной NO-синтазы на показатели свободнорадикальных процессов в мозге у крыс при окклюзии сонных артерий. // Валеология. - 2007. - № 4. - С. 20-25.
114. Котляр Б.И., Шульговский В.В. Физиология центральной нервной системы. - М.: Изд-во МГУ. - 1979. - 339 с.
115. Кричевская А.А., Лукаш А.И., Брновицкая З.Г. Биохимические

- механизмы кислородной интоксикации - Ростов-на-Дону.: Изд-во Ростовского ун-та. - 1980. - 116 с.
116. Кругликов Р.И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти. - М.: Наука, 1981. - 211 с.
117. Крыжановский Г.Н. Общая патофизиология нервной системы - М.: Медицина. - 1997. - 318 с.
118. Кудряшова И.В., Гуляева Н.В. Компоненты межнейронального сигналинга в переживающих срезах гиппокампа крыс: эффекты ингибиторов протеолитических ферментов. // Нейрохимия. 2010. - Т. 27. - № 4. - С. 301-308
119. Кудрякова Т.И., Сарычева Н.Ю., Каменский А.А. Изучение особенностей ориентировочно-исследовательского поведения белых беспородных крыс после удаления вомероназального органа (ВНО). // Доклады АН. - 2007. - Т. 2007. - № 6. - С. 845-849.
120. Кулагин Д.А., Болондинский В.К. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке. // Успехи физиол. наук. - 1986. - Т. 17. - № 1. – С. 92-109.
121. Куликова О.Г., Рейхардт Б.А., Сапронов Н.С. Участие генетического аппарата в механизмах слеодообразования: роль кальций-регуляторной системы нейронов крыс. // Журн. высш. нервн. деятельности. - 1997. - Т. 47. - №4. - С. 708-714.
122. Кулинский В.И., Ольховский И.А. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов. // Усп. совр. биол. - 1992. - Т. 112. - № 5-6. - С. 697-714.
123. Кураев Г.А., Пожарская Е.Н., Глумов А.Г. Межполушарное распределение функций. // Известия высших учебных заведений. - Северо-Кавказский регион. - Естественные науки. - 1996. - № 2. - С. 56-63.
124. Кураев Г.А., Соболева И.В., Сороколетова Л.Г. Формирование

- функциональной межполушарной асимметрии мозга в динамике обучения. // Функциональная межполушарная асимметрия. - М.: Научный мир. - 2004. - С. 125-262.
125. Лебедько О.А., Тимошин С.С. Корректирующие эффекты регуляторных пептидов в системе органов дыхания на фоне повторной блокады синтеза оксида азота, индуцированной введением L-NAME (экспериментальное исследование). // Дальневосточный медицинский журнал. - 2006. - № 3. - С. 86–89.
126. Левин О.С., Сагова М.М. Влияние Кортексина на нейропсихологические и двигательные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии (рандомизированное, двойное, плацебо-контролируемое исследование). // TERRA Med. - 2004. - № 1. - С. 15-19.
127. Левицкая Н.Г., Себенцова Е.А., Андреева Л.А. и др. Нейропротекторные эффекты семакса на фоне МФТП-вызванных нарушений дофаминергической системы мозга. // II Физиологический журнал им И.М. Сеченова - 2002. - Т.88. - № 11. - С. 1369-1377.
128. Леутин В.П., Николаева Е.И. Психофизиологические механизмы адаптации и функциональная асимметрия мозга. – Новосибирск.: Наука СО. - 1988. - 192 с.
129. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). - М.: Медицина. - 2001. - 192 с.
130. Лысенко А.В., Менджерицкий А.М., Михалева И.И., Альперович Д.В. Преадаптация организма к действию неблагоприятных факторов путем введения эндогенного адаптогена - дельта-сон-индуцирующего пептида. // Нейрохимия. - 1999. - № 1. - С. 29-36.
131. Малахов В.О., Завгородняя Г.М., Личко В.С., Джанелідзе Т.Т., Волох Ф.О. Проблема оксида азота в неврологии. – Сумы: СумДПУ им. А.С.Макаренко, 2009. – 242 с.
132. Мак-Фарленд Д. Поведение животных. - М. - 1988. - 543 с.

133. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В. и др. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии. // Кардиология. - 2002. – Т. 42. - № 11. - С. 73-84.
134. Маркевич В.А., Григорьян Г.А. Длительная посттетаническая потенциация вызванных ответов гиппокампа в условиях обогащенной среды. // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. - 2009. - Т. 59. - № 5. - С. 517-526.
135. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс, профилактика. - М.: Медицина. - 1981. - 278 с.
136. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактической кардиологии. - М.: НПО Союзмединформ. - 1989. - 72 с.
137. Менджерицкий А.М., Буравков С.В., Никонова Е.А. и др. Морфометрическое исследование ультраструктуры аксосоматических синапсов сенсомоторной коры мозга крыс при введении ДСИП. // Цитология и генетика. - 1993. - Том 23. - № 1. - С. 23-27.
138. Менджерицкий А.М., Михалева И.И., Мационис А.Э. и др. Дельта-сон индуцирующий пептид как модулятор ультраструктуры синапсов. // Морфология. - 1994. - Т. 106. - № 4-6. - С. 55-62.
139. Менджерицкий А.М., Лысенко А.В. Нейропептиды и управление поведением организма в экстремальных условиях. // Успехи функциональной нейрхимии. - СПб.: Изд-во СПб. ун-та. - 2003. - С. 115-127.
140. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Демьяненко С.В., Краснова И.Л., Михалева И.И. Адаптогенный эффект дельтарана в модели окклюзии сонных артерий // Нейрхимия. – 2007. – Т. 24. – № 2. – С. 166–171.
141. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Косенко Ю.В. Влияние ингибитора индуцибельной NO-синтазы на показатели свободнорадикальных процессов у крыс с разным латеральным

- профилем в условиях нарушения мозгового кровообращения // *Нейрохимия*. – 2008. – Т. 25. – № 3. – С. 1–6.
142. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Пептидная регуляция функций нервной системы. Онтогенетический аспект: монография. - Ростов-на-Дону: ИПО ПИ ЮФУ. - 2011. – 214 с.
143. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Абрамчук В.А. Влияние пептидных препаратов на латентное обучение крыс разного возраста в модели гипоксической и гипобарической гипоксии. // В матер. научно-практической конференции с международным участием «Нейрохимические подходы к исследованию функционирования мозга». - Ростов-на-Дону: ИПО ПИ ЮФУ. – 2011. – С. 17.
144. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А. Влияние короткого пептида на нейродегенеративные процессы у крыс, перенесших пренатальную гипоксию. // *Нейрохимия*. - 2012. - Т. 29. - № 3. - С. 229-234.
145. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Рыжак Г.А., Абрамчук В.А. Влияние коротких пептидов на навигационное научение и систему каспазы-3 в структурах мозга крыс в модели острой гипоксической гипоксии. // *Успехи геронтологии*. - 2013. - Т. 26. - № 2. - С. 252-257.
146. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. // *Успехи современной биологии*. - 1993. - Т. 113. - № 4. - С. 442-455.
147. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. - М.: Слово. - 2006. - 556 с.
148. Меркулова Н.А., Сергеева Л.И., Кузьмина В.Е. и др. Причины и особенности функциональной асимметрии дыхательного центра. // *Проблемы нейрокибернетики*. – Ростов- на-Дону, 1992. – С. 71-72.
149. Мещеров Ш.К. Значение формирования дофаминергических систем мозга в онтогенезе для реализации эффектов психостимуляторов: Автореф. дис... канд. мед. наук. - СПб.: ВМедА,

2001. - 24 с.

150. Микляева Е.И., Иоффе М.Е., Куликов М.А. Предпочтение одной конечности у крыс - результат обучения в эксперименте или индивидуальная особенность? // Журн. высш. нервн. деят. - 1988. - Т. 38. - № 5. - С.881- 887.
151. Мирюлюбова О.А., Добродеева Л.К., Аверина М.Ю. и др. Роль цитокинов и апоптоза кардиомиоцитов мышеч в развитии постперфузионного синдрома после операций на открытом сердце с искусственным кровообращением. // Кардиология. - 2001. - № 1. - С. 67-69.
152. Михайлов В.М. Ультраструктурный и морфометрический анализ стадий апоптоза. // Цитология. - 2001. - Т. 43. - № 8. - С. 729-737.
153. Михеев В.В., Шабанов П.Д. Межполушарная асимметрия индивидуального поведения мышеч // Асимметрия. – 2009. – Т.3, №2. – С.32-40.
154. Михеев В.В., Марышева В.В., Шабанов П.Д. Влияние амтизола на межполушарную асимметрию головного мозга мышеч линии shg при гиперкапнической гипоксии. // Асимметрия. - Т. 5. - № 3. - 2011. - С. 23-34.
155. Михуткина С.В., Большакова Е.В., Салмина А.Б. и др. Перинатальное гипоксически-ишемическое поражение головного мозга вызывает нарушение глутаматергической сигнальной трансдукции, сопряженной с активностью АДФ-рибозилциклазы в нейронах. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010. - № 11. - С. 511-515.
156. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Нагибин В.С. Ферментные механизмы апоптоза. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2005. - № 3. - С. 17-26.

157. Мокрушин А.А. Участие эндогенных пептидов в развитии долговременной посттетанической потенциации. // Известия РАН. - Серия Биологическая. - 2002. - Т. 29. - № 1. - С. 45-49.
158. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тиомиметики. - СПб.: Наука. - 2000. - 158 с.
159. Мохиль-Дейн А.Х., Белушкина Н.Н., Петрова У.Н. и др. Повреждение структуры ДНК лейкоцитов периферической крови у больных красной волчанкой и другими аутоиммунными заболеваниями как маркер апоптогенной готовности. // Вопросы биологической медицины и фармацевтической химии. - 2002. - № 3. - С. 24-28.
160. Мошникова А.Б., Онуфриев М.В., Афанасьев В.Н. и др. Анализ нуклеазных последовательностей в погибающих и дифференцирующих клетках U-937. // Молекулярная медицина. - 2003. - Т. 1. - № 1. - С. 52-58.
161. Никитина Л.С., Дорофеева Н.А., Глазова М.В. и др. Участие белков апоптоза в регуляции активности нейронов мозга. // Морфология. - 2006. - Т. 129. - № 2. - С. 66-67.
162. Новожилова А.П., Плужников Н.Н., Новиков В.С. / В кн. Программированная клеточная смерть (Под ред. В. С. Новикова.). - 1996. - СПб.: Наука. - С. 9-29.
163. Ордян Н.Э., Пивина С.Г., Галеева А.Ю. и др. Влияние пренатального стресса на активность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы крыс: роль глюкокортикоидных рецепторов мозга. // Российский физиологический журнал. - 2006. - № 9. - С. 1100-1110.
164. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активированные формы кислорода и их роль в организме. // Успехи современной биологии. - 1990. - Т. 31. - № 4. - С. 180-208.
165. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов. // Успехи

- биологической химии. – 2007. – Т. 47. – С. 259-292.
166. Островская Р.У., Лысенко А.В., Менджерицкий А.М. и др. Нейромедиаторы в механизмах развития адаптивного поведения при введении ГВС-111. // Нейрохимия. - 2004. - № 2. - С. 138-146.
167. Отеллин В.А. Формирование патологий головного мозга в эмбриональный период. // Природа. - 2003. - № 9. - С. 35-46.
168. Пальцев М.М., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. - М.: ОАО Издательство «Медицина». - 2008. - 512 с.
169. Панков Ю.А. Соматотропный гормон и частичный медиатор его биологического действия инсулиноподобный ростовой фактор 1. // Биохимия. - 1999. - Т. 64. - № 1. - С. 5-13.
170. Петухов В.И. Роль FAS-опосредованного апоптоза в реализации противоопухолевого эффекта альфа-интерферона при хроническом миелолейкозе. // Гематология и трансфузиология. - 2000. - № 4. - С. 29-33.
171. Полосухина Е.Р., Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. и др. Исследование экспрессии антигена CD95(FAS/APO-1), опосредующего апоптоз, с помощью моноклональных антител IСО-160 при гемобластозах. // Гематология и трансфузиология. - 2000. - №4. - С. 3-6.
172. Полюхов А.Н. Моторная асимметрия мозга в позднем возрасте.// Физиол. человека. - 1982. - № 1. - С. 162-163.
173. Пошивалов В.П. Последствия зоосоциальной изоляции в зависимости от индивидуальных особенностей животного. // Журн. высш. нерв. деят. - 1978. - Т. 28. - № 2. - С. 348-355.
174. Правдухина Г.П., Барашкова С.А., Степанов С.С. и др. Коррекция кортексином пластических свойств развивающегося мозга в постшемическом периоде. // В матер. Всероссийской конф. с международ. участием «Структурно-функциональные,

- нейрохимические и иммунохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга». – М.: Изд-вл ИКАР, 2007. - С. 514-518.
175. Пшенникова М.Г. Стресс: регуляторные системы и устойчивость к стрессорным повреждениям./ В кН.: Дизрегуляторная патология./ Под ред. акад. РАМН Г.Н. Крыжановского. М.: Медицина, 2002. - С. 307-328.
176. Раевский В.В. Онтогенез медиаторных систем мозга. - М.: Наука, 1991. - 144 с.
177. Раевский В.В. Развитие теории системогенеза П.К.Анохина. // Седьмые Анохинские чтения. – Москва: ИД «Грааль», 2002. - С. 15-22.
178. Райхлин Н.Т., Райхлин А.Н. Регуляция и проявление апоптоза в физиологических условиях и в опухолях. // Вопросы онкологии. - 2002. - Т. 48. - № 2. - С. 159-157.
179. Резников К.Ю. Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме. - М.: Наука, 1981. - 149 с.
180. Резников А.Г. Перинатальная модификация развития нейроэндокринной системы: феномены и механизмы. // Проблемы эндокринологии. – 2004. – Т. 50. - № 4. – С. 42-48.
181. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е. и др. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. - М.: Наука. - 1998. - С. 156.
182. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала. // Известия АМН. - 2000. - № 4. - С. 35-41.
183. Робинсон М.В., Труфакин В.А. Апоптоз клеток иммунной системы. // Успехи современной биологии. - 1991. - Т. 111. - № 2. - С. 246-259.
184. Ротенберг В.С., Аршавский В.В. Поисковая активность и адаптация. – М.: Наука, 1984. – 193 с.
185. Рыжак Г. А., Малинин В. В., Платонова Т. Н. Кортексин и регуляция

- функций головного мозга. - СПб.: Фолиант, 2003. - 208 с.
186. Самойлов М.О. Реакции нейронов мозга на гипоксию. - Л. - 1985. - 265 с.
187. Самойлов М.О., Рыбникова Е.А., Семенов Д.Г. и др. Нейрохимические механизмы толерантности мозга к гипоксии. // Материалы конф. «Нейрохимия: фундаментальные и прикладные аспекты». - Москва. - 2005. - С. 191.
188. Самойлов М.О., Семенов Д.Г., Тюлькова Е.И. и др. Влияние пренатальной гипобарической гипоксии на активность глутаматергической сигнальной трансдукции мозга крыс. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2011. - № 3. - С. 244-247.
189. Светлов П.Г. Теория критических периодов развития и ее значение для понимания принципов действия среды на онтогенез // Вопросы цитологии и общей физиологии. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1960. - С. 263-285.
190. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. - М.: Медгиз, 1960. - 255 с.
191. Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. Синаптоархитектоника коры большого мозга (морфометрические аспекты). - Омск.: ИПК «Омич». - 1995. - 168 с.
192. Сеченов И.М. Собрание сочинений, т.2.— М.: Моск. университет, 1908. – 342 с.
193. Симерницкая Э.Г. Мозг человека и психические процессы в онтогенезе. – М.: МГУ, 1985. – 188 с.
194. Симоненко В.Б., Бойцов С.А., Глухов А.А. Апоптоз и патология миокарда. // Клиническая медицина. - 2000. - Т. 78. - № 8. - С. 12-16.
195. Скворцова В.И. Участие апоптоза в формировании инфаркта миокарда. // Инсульт. - 2001. - № 2. - С. 12–18.
196. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. // Соросовский

- образовательный журнал. - 2001. - Т. 7. - № 6. - С. 4-10.
197. Сладкова Л.В., Москалева Е.В., Посыпанова Г.А. Апоптоз клеток различных линий и особенности межнуклеосомной фрагментации ДНК в клетках: связь с клеточным циклом. // Цитология. - 2000. - Т. 42. - № 3. - С. 309-312.
198. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие // Вопросы медицинской химии. - 1988. - № 6. - С. 2-11.
199. Соллертинская Т.Н., Шорохов М.В., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. и Пептиды в регуляции межполушарной асимметрии мозга у млекопитающих и их возможные нейрохимические механизмы (эволюционные аспекты исследования). // Асимметрия. – 2013. – Т. 7. - № 2. – С. 4-15.
200. Соловьева Н.А., Лагутина Л.В., Антонова Л.В. и др. Регуляция экспрессии гена c-Fos в обонятельных луковицах крыс при обонятельном обучении. // Журнал ВНД. - 2006. - Т. 56. - № 5. - С. 674-683.
201. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитутовой кислоты. // Современные методы в биохимии. - М.: Медицина. - 1977. - С. 66-68.
202. Сторожева З.И., Шерстнев В.В., Юрасов В.В. и др. Нейрогенез и апоптоз в зрелом мозге при формировании и упрочении долговременной памяти. // Нейрохимия. - 2010. - № 2. - С. 130-137.
203. Судаков К.В. Системный анализ механизмов целенаправленного поведения. // Успехи физиол. наук. – 1976. – Т. 7. - № 4. – С. 29-60.
204. Судаков К.В. Условный рефлекс в системной организации поведенческих актов. // Физиол. журн. – 1993. – Вып. 79. - № 5. – С. 23-35.
205. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к стрессу. - М.: НИИ норм. физиологии им. П. К. Анохина РАМН, 1998. – 263 с.

206. Танашян М.М., Максимова М.М., Домащенко М.А. Опыт применения кавинтона в лечении пациентов с острыми и хроническими цереброваскулярными заболеваниями. // РМЖ. - 2011. - № 30. - С. 1854-1858.
207. Тельцов Л.П., Ильин П.А. Критические фазы эмбрионального развития крупного рогатого скота. // Функциональная морфология болезни плодов и новорожденных животных: межвуз. сб. науч. тр. - Саранск, 1993. - С. 191-199.
208. Тельцов Л.П., Шашанов И.Р. Критические фазы развития животных и практика животноводства.// Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. - Саранск, 1998. - С. 52-53.
209. Тельцов Л.П. Критические фазы развития крупного рогатого скота в эмбриогенезе.// Сельскохозяйственная биология. Серия: Биология животных. - 1999. - № 2. - С. 71-76.
210. Титов С.А., Каменский А.А. Роль ориентировочного и оборонительного компонентов белых крыс в условиях «открытого поля». // Журн. высш. нервн. деят. - 1980. - Т. 30. - № 4. - С. 704-711.
211. Тишкина А.О., Левшина И.П., Лазарева Н.А. и др. Хронический стресс вызывает неапоптотическую гибель нейронов в гиппокампе крыс, Доклады АН. – 2009. - Т. 428. - № 1. – С. 130-134.
212. Толкунов Б.Ф. Роль нейронной сети в функциональной эволюции конечного мозга млекопитающих // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2002. - Т. 38. - № 5. - С. 469-477.
213. Уманский С.Р. Апоптоз: молекулярные и клеточные механизмы. // Молекулярная биология. - 1996. - Т. 30. - № 3. - С. 487-502.
214. Фадюкова О.Е., Кади А., Бай Оу и др. С-концевой трипептид Pro-Gly-Pro в отличие от цельного нейропептидного препарата семакс не обладает нейропротекторными свойствами при экспериментальной ишемии мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.

- 2005. - Т. 139. - № 4. - С. 413-415.
215. Фарбер Д.А. Динамика полушарной асимметрии ЭЭГ в онтогенезе. // Современные проблемы нейробиологии. - Тбилиси: Мецниереба, - 1986. - С. 367.
216. Фильченков А.А. Прижизненная неинвазивная визуализация апоптоза: состояние и перспективы исследований (обзор литературы). // Медицинская визуализация. - 2003. - № 3. - С. 126-132.
217. Фильченков А.А. Каспазы: регуляторы апоптоза и других клеточных функций // Биохимия. - 2003. - Т. 68. - Вып. 4. - С. 453-466.
218. Фокин В.Ф., Пономарева Н.В. Динамические характеристики функциональной межполушарной асимметрии. // Функциональная межполушарная асимметрии. Хрестоматия. М.: Научный мир, 2004.- С. 349-368.
219. Фокин В.Ф. Динамическая функциональная асимметрия как отражение функциональных состояний. // Асимметрия. – 2007. – №1. – С. 4–9.
220. Формазюк В.Е., Горшкова Т.Ю., Болдырев А.А., Сергиенко В.И. Характеристика хлораминовых комплексов карнозина с гипохлорит-анионом. // Биохимия. - 1992. – Вып. 57. - № 9. - С. 1324-1329.
221. Фролькис В.В. Старение: воспоминание о будущем. // Лечение и диагностика. - 1998. - №1. - 16-32.
222. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Синтетический пептид эпифиза увеличивает продолжительность жизни и угнетает развитие опухолей у мышей // Докл. АН. – 2000. – Т. 373, № 4. – С. 567–569.
223. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. - СПб.: Фолиант. - 2001. - 160 с.
224. Хавинсон В.Х., Кветной ИМ., Южаков В.В. и др. Пептидная регуляция гомеостаза. - СПб.: «Наука». - 2003. - 194 с.

225. Хавинсон В.Х., Шатаева Л.К. Модель комплементарного взаимодействия коротких пептидов с двойной спиралью ДНК. // Мед. акад. журн. - 2005. - Т. 5. - № 1. - С. 15-23.
226. Хама-Мурад А.Х., Павлинова Л.И., Мокрушин А.А. Нейротропные эффекты экзогенного L-карнозина в переживающих срезах обонятельной коры мозга крыс. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2008. - Т. 146. - № 7. - С. 4-7.
227. Хмелевский Ю.В., Поберезкина Н.Б., Задорина О.В. Витамин Е и его синтетические аналоги при экспериментальной сердечно-сосудистой патологии. // Вопросы медицинской химии. - 1992. - № 5. - С. 30-33.
228. Хухо Ф. Нейрохимия: Основы и принципы: Пер. с англ. - М.: Мир, 1990. - 384 с.
229. Черникова Л.А. Нейрореабилитация: современное состояние и перспективы развития. // Российский медицинский журнал. - 2005. - Т. 13. - № 22. - С. 3-5.
230. Чернилевский В.Е. Общебиологический подход к изучению природы старения. // Геронтология и гериатрия. – Альманах. - М.: НИИ геронтологии МЗ РФ. - 2001. - Вып.1. - - С. 21-24.
231. Черноситов В.А. Неспецифическая резистентность, функциональные асимметрии и женская репродукция. - Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ. - 2000. - 200 с.
232. Черноситов В.А. Функциональная межполушарная асимметрия мозга: медико-биологические, психологические, социально-педагогические аспекты. - Ростов-на-Дону: ИПО ПИ ЮФУ. - 2011. - 188 с.
233. Шабанов П.Д. Основы наркологии. - СПб.: Лань, 2002. - 431 с.
234. Шабанов П.Д. Наркология: Руководство для врачей. - М.: Гэотар-мед, 2003.- С. 427-435.
235. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Айрапетов М.И. Потребление алкоголя во время беременности изменяет активность

- рецепторов дофамина и обмен моноаминов в мозге плодов и новорожденных крысят. // Наркология. - 2011. - № 8. - С.51-56.
236. Шаляпина В.Г., Зайченко И.Н., Ордян Н.Э., Батуев А.С. Изменение нейроэндокринной регуляции приспособительного поведения крыс после стресса в позднем пренатальном онтогенезе. // Рос.физиол.журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 57. - № 9. – С. 1193-1201.
237. Шахпаронова Н.В., Кадыков А.С., Кашина Е.М. Эмоционально-волевые нарушения после инсульта, связь с латерализацией очага поражения (к вопросу о функциональной асимметрии мозга). // В матер. конф. «Актуальные вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности». - Москва. - 2008. - С. 287-288.
238. Швырков В.Б. Нейрофизиологическое изучение системных механизмов поведения. - М.: Наука. - 1978. - 243 с.
239. Шестаков В.А., Бойчевская Н.С., Шерстнев М.П. Хемолюминисценция плазмы крови в присутствии перекисей водорода // Вопр. мед. химии. - 1972. - №2. - С. 132-137.
240. Шуваев В.Т., Суворов Н.Ф. Базальные ганглии и поведение. - СПб., 2001. - 211 с.
241. Шулейкина К. В., Хаютин С. Н. Развитие теории системогенеза на современном этапе// Журн. высш. нервн. деят. - 1989. - № 1. - С. 3-15.
242. Шульговский В.В. Физиология целенаправленного поведения млекопитающих. - М.: МГУ - 1993. - 437 с.
243. Юматов Е.А., Мещерякова О.А. Прогнозирование устойчивости к эмоциональному стрессу на основе индивидуального тестирования поведения. //Журн. высш. нервн. деят. – 1990. – Т. 40. - № 3. – С. 575-583.
244. Яковлев А.А., Перегуд Д.И., Павлова Т.В. Эффекты острого введения пентилентетразола и пентилентетразолового киндинга: окислительный стресс и активность NO-синтазы в мозге. //

- Нейрохимия. - 2004. - Т. 21. - № 1. - С. 58-67.
245. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. // Актуальные проблемы патофизиологии. - М.: Медицина. - 2001. - С. 13-56.
246. Ярыгин К.Н., Ярыгин В.Н. Нейрогенез в центральной нервной системе и перспективы регенеративной неврологии. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. - Т. 112. - № 1.
247. Яхно Н.Н., Штульман Д.Р. Болезни нервной системы. - М.: Медицина. - 2001. - Т. 2. - С. 76-95.
248. Adriani W., Granstrem O., Romano E. et al. Modulatory effects of cortixin and cortagen on locomotor activity and anxiety-related behavior in mice. // Open Neuropsychopharmacology Journal. - 2009. - Vol. 2. - P. 22–29.
249. Aleksandrov A.A., Polyakova O.N., Batuev A.S. The effects of prenatal stress on learning in rats in a Morris maze. // Neurosci. Behav. Physiol. - 2001. - Vol. 31. - P. 71-74.
250. Algeciras-Schimmich A., Barnhart B.C., Peter M.E. Apoptosis – independent functions of killer caspases. // Curr. Opin. Cell. Boil. - 2002. - Vol. 14. - № 16. - P. 721-726.
251. Annunziato L., Pannaccione A., Cataldi M. et al. Modulation of ion channels by reactive oxygen and nitrogen species: a pathophysiological role in brain again? // Neurobiol. Aging. - 2002. - Vol. 23. № 5. - P. 819-834.
252. Anokhin K.V. Genomic response of neurons to learning. // Neuroscience Facts. – 1991. - Vol.2. - № 20. - P. 3-4.
253. Anokhin K.V., Rose S.P. Learning-induced Increase of Immediate Early Gene Messenger RNA in the Chick Forebrain. // Eur. J. Neurosci. - 1991. - Vol. 3. - № 2. - P. 162-167.
254. Aja S., Schwartz G.J., Kuhar M.J. et al. Intracerebroventricular CART peptide reduces rat ingestive behavior and alters licking microstructure. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2011. - Vol. 280. - R1613-R1619.

255. Armstead W.M., Mirro R., Besija D.H. et al. Postischemic generation of superoxide anion by new born pig brain. // *Am. J. Physiol.* - 1988. - Vol. 255. - P. 401-403.
256. Asanuma M., Miyazaki I., Ogawa N. Dopamine- or L-DOPA-induced neurotoxicity: the role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease. // *Neurotox Res.* - 2003. - Vol. 5. - № 3. - P. 165-176.
257. Ashmarin I.P., Koroleva S.V. Rules of interactions and functional continuum of neuropeptides (on the way to the common conception). // *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* - 2002. - № 6. - P. 40-48.
258. Augustsson H., Meyerson B. Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (*Mus musculus*) and two laboratory strains. // *Physiol. Behav.* - 2004. - Vol. 81. - № 4. - P. 685-698.
259. Bakkali-Kassem L., El Ouezzani S., Magoul R. Effects of cannabinoids on neuropeptide Y and  $\beta$ -endorphin expression in the rat hypothalamic arcuate nucleus. // *Br. J. Nutr.* - 2011. - Vol. 105. - № 4. - P. 654-660.
260. Bale T.L., Davis A.M., Auger A.P. et al. CNS region-specific oxytocin receptor expression: importance in regulation of anxiety and sex behavior. // *J. Neurosci.* - 2001. - Vol. 21. - P. 2546-2552.
261. Baltan S. Histone deacetylase inhibitors preserve function in aging axons. // *J. Neurochem.* - 2012. - Vol. 123. - Suppl. 2. - P. 108-115.
262. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis. // *Anticancer Res.* - 2000. - Vol. 20. - P. 4115-4139.
263. Bazan N.G. Lipid signaling in neural plasticity, brain repair and neuroprotection. // *Mol. Neurobiol.* - 2005. - Vol. 32. - № 1. - P. 89-103.
264. Beckerman K.P., Rogers H.W., Corbett J.A. Release of Nitric Oxide during the T-Cell-Independent Pathway of Macrophage. // *J. Immunol.* - 1993. - Vol. 150. - № 3. - P. 88-95.

265. Benson R.S.P., Dive C., Watson, J.M. Cytoplasmic acidification is not an effector mechanism of VP16 or DEX-induced apoptosis in CEM T leukaemia cells. // *J. Cell Sci.* - 1999. - Vol. 112. - P. 1755-1760.
266. Beerling W., Koolhaas J.M., Ahnaou A. et al. Physiological and hormonal responses to novelty exposure in rats are mainly related to ongoing behavioral activity. // *Physiol Behav.* – 2011 . Vol. 103. - № 3-4. – P. 412-420.
267. Bilenko M.V. Ischemia and Reperfusion of Various Organs: Injury Mechanisms, Methods of Prevention and Treatment. - Nova Biomedical. - 2001. - 382 p.
268. Bird C.M., Burgess N. The hippocampus supports recognition memory for familiar words but not unfamiliar faces. // *Curr. Biol.* - 2008. - Vol. 18. - № 24. - P. 1932-1936 (a).
269. Bird C.M., Vargha-Khadem F., Burgess N. Impaired memory for scenes but not faces in developmental hippocampal amnesia: a case study. // *Neuropsychologia.* - 2008. - Vol. 46. - № 4. - P. 1050-1059 (b).
270. Bird C.M., Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. // *Nat. Rev. Neurosci.* - 2008. - Vol. 9. - № 3. - P. 182-194 (c).
271. Bishop N.A., Lu T., Yankner B.A. Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. // *Nature.* - 2010. - Vol. 464. - P. 529-535.
272. Blagosklonny M. Cell death beyond apoptosis. // *Leukemia.* - 2000. - Vol. 4. - P. 1502-1518.
273. Bodnar R.J. Endogenous opiates and behavior: 2010. // *Peptides.* - 2011. - Vol. 32. - № 12. - P. 2522-2552.
274. Bohn M.C., O'Banion M.K., Young D.A. et al. In vitro studies of glucocorticoid effects on neurons and astrocytes. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1994. - Vol. 746 - P. 243-258.

275. Boldyrev A., Bulygina E., Makhro A. Glutamate receptors modulate oxidative stress in neuronal cells. // *Neurotox Res.* - 2004. - Vol. 6. - № 7-8. - P. 581-587.
276. Bonnin P., Leger P.L., Villapol S. Dual action of NO synthases on blood flow and infarct volume consecutive to neonatal focal cerebral ischemia. // *Exp Neurol.* - 2012. - Vol. 236. - № 1. - P. 50-57.
277. Borod J.C., Goodglass H. Lateralization of linguistic and melodic processing with age. // *Neuropsychologia.* - 1980. - Vol. 18. - № 1. - P. 79-83.
278. Bowman R.E., Zrull M.C., Luine V.N. Chronic restraint stress enhances radial arm maze performance in female rats. // *Brain Res.* - 2001. - Vol. 904. - P. 279-289.
279. Bourke C.H., Capello C.F., Rogers S.M. et al. Prenatal exposure to escitalopram and/or stress in rats: A prenatal stress model of maternal depression and its treatment. // *Psychopharmacology (Berl).* - 2013. - Vol. 228. - № 2. - P. 231-241.
280. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. // *Anal. Biochem.* - 1976. - Vol. 72. - P. 248-254.
281. Bratton S.B., Cohen G.M. Apoptotic death sensor: an organelle's alter ego? // *Trends Pharmacol Sci.* - 2001. - Vol. 22. - № 6. - P. 306-315.
282. Buga A.M., Dunoiu C., Baelseanu A. et al. Cellular and molecular mechanisms underlying neurorehabilitation after stroke in aged subjects. *Romanian. J. Morphology and Embryology.* - 2008. - Vol. 49. - № 3. - P. 279-302.
283. Burton G.W., Traber M.G. Vitamin E – antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. // *Rev. Nutr.* - 1990. - Vol. 10. - P. 357-382.
284. Cabeza R. Hemispheric asymmetry reduction in older adults: the HAROLD model. // *Psychol. Aging.* - 2002. - Vol. 17. - P. 85-100.

285. Cameron H.A., Hazel T.G., McKay R.D. Regulation of neurogenesis by growth factors and neurotransmitters. // *J. Neurobiol.* - 1998. - Vol. 36. - P. 287-306.
286. Canugovi C., Yoon J.S., Feldman N.H. et al. Endonuclease VIII-like 1 (NEIL1) promotes short-term spatial memory retention and protects from ischemic stroke-induced brain dysfunction and death in mice. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2012. – Vol. 109. - № 37. – P. 14948-14953.
287. Caro J. Hypoxia regulation of gene transcription. // *High Alt. Med. Biol.* - 2001. - Vol. 2. - P. 145-154.
288. Cechetti F., Worm P.V., Lovatel G. et al. Environmental enrichment prevents behavioral deficits and oxidative stress caused by chronic cerebral hypoperfusion in the rat. // *Life Sci.* - 2012. - Vol. 91. - № 1-2. - P. 29-36.
289. Cellerino A., Bahr M., Isenmann S. Apoptosis in developing visual system. // *Cell Tissue Res.* - 2000. - Vol. 301. - P. 53-69.
290. Celis M.E., Torre E. Measurement of Grooming Behaviour. // *Methods in Neurosciences.* - 1993. - P. 359-378.
291. Chan S.L., Mattson M.P. Caspase and calpain substrates: roles in synaptic plasticity and cell death. // *J. Neurosci. Res.* - 1999. - Vol. 58. - № 1. - P. 167-90.
292. Chan P.H. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. // *J. Cereb. Blood. Flow Metab.* - 2001. - Vol. 21. - № 1. - P. 2-14.
293. Chen X.M., Chen H.S., Xu M.J., Shen J.G. Targeting reactive nitrogen species: a promising therapeutic strategy for cerebral ischemia-reperfusion injury. // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2013. – Vol. 34. - № 1. – P. 67-77.
294. Czéh B., Müller-Keuker J.I., Rygula R. et al. Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment. // *Neuropsychopharmacology.* - 2007. - Vol. 32. - № 7. - P. 1490-1503.

295. Cheng C.Y., Chu J.Y., Chow B.K. Central and peripheral administration of secretin inhibits food intake in mice through the activation of the melanocortin system. // *Neuropsychopharmacology*. - 2011. - Vol. 36. – P. 459-471.
296. Choi I.Y., Ju C., Anthony Jalin A.M. et al. Activation of cannabinoid CB2 receptor-mediated AMPK/CREB pathway reduces cerebral ischemic injury. // *Am. J. Pathol.* - 2013. - Vol. 182. - № 3. - P. 928-939.
297. Chuang H.H., Prescott E.D., Kong H. et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition. // *Nature*. - 2001. - Vol. 411. - P. 957-962.
298. Chung, E.Y., Kim S.J., Ma X.J. Regulation of cytokine production during phagocytosis of apoptotic cells. // *Cell Res.* - 2006. - Vol. 12. - P. 3979-3990.
299. Churchland P.S. *Neurophilosophy. Toward a unified science of the mind-brain.* - London.: A Bradford Book. - 1986. - 548 p.
300. Cohen J.J. Apoptosis: the physiologic pathway of cell death. // *Hosp. Prac.* - 1993. - Vol. 28. - P. 35-43.
301. Contestabile A., Monti B., Contestabile D. et al. Brain Nitric oxide and its dual role in neurodegeneration/neuroprotection: understanding molecular mechanisms to devise drug approaches. // *Curr. Med. Chem.* - 2003. - Vol. 10. - № 20. - P. 2147-2174.
302. Cos P., Ying L., Calomme M., Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. // *J. Nat. Prod.* - 1998. - Vol. 61. - P. 71-76.
303. Costa-e-Sousa R.H., Souza L.L., Calviño C. Central NPY-Y5 receptors activation plays a major role in fasting-induced pituitary-thyroid axis suppression in adult rat. // *Regul. Pept.* - 2011. - Vol. 171. - № 1-3. - P. 43-47.
304. De Nadai C., Sestili P., Cantoni O. et al. Nitric oxide inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis by reducing the generation of

- ceramide. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2000. - Vol. 97. - № 10. - P. 5480-5485.
305. del Zoppo G.J. Aging and the neurovascular unit.// Ann N.Y. Acad. Sci.- 2012. – Vol. 1268. – P. 127-133.
306. Delcour M., Russier M., Amin M. et al. Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. // Behav. Brain Res. – 2012. – Vol. 232. - № 1. – P. 233-244.
307. Ding K.H., Zhong Q., Xie D. et al. Effects of glucose-dependent insulinotropic peptide on behavior. // Peptides. - 2006. - Vol. 27. - P. 2750-2755.
308. Dirksen R.T. Reactive oxygen/nitrogen species and the aged brain: radical impact of ion channel function. // Neurobiol. Aging. - 2002. - Vol. 23. - № 5. - P. 837-839.
309. Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain. // Progress in Neurobiology. - 2000. - Vol. 62. - P. 649-671.
310. Du J., Ma M., Zhao Q. et al. Mitochondrial bioenergetic deficits in the hippocampi of rats with chronic ischemia-induced vascular dementia. // Neuroscience. - 2013. - Vol. 231. - P. 345-352.
311. Eccles J. An instruction-selection theory of learning in the cerebellar cortex. // Brain Res. - 1977. - Vol. 127. - № 2. - P. 327-352.
312. Edwards F.A. Anatomy and electrophysiology of fast central synapses lead to a structural model for long-term potentiation. // Physiol. Rev. - 1995. - Vol. 75. - № 4. - P. 759-787.
313. Ergorul C., Eichenbaum H. The hippocampus and memory for "what," "where," and "when". // Learn Mem. - 2004. - Vol. 11. - № 4. - P. 397-405.
314. Estévez A.G., Spear N., Manuel S.M. Nitric oxide and superoxide contribute to motor neuron apoptosis induced by trophic factor deprivation. // J. Neurosci. - 1998. - Vol. 18. - P. 923-931.

315. Ferri K. Apoptosis control in syncytia induced by thy HIV type 1-envelope glycoprotein complex, role of mitochondria and caspase. // *J. Exp. Med.* - 2000. - Vol. 192. - P. 1081-1092.
316. Feuerstein G.Z., Young P.R. Apoptosis in cardiac diseases: stress- and mitogen-activated signaling pathways. // *Cardiovasc Res.* - 2000. - Vol. 45. - № 3. - P. 560-569.
317. File S.E. Animal models of different anxiety states. // *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* - 1995. - Vol. 48. - P. 93-113.
318. Finkel T. Redox-dependent signal transduction. // *FEBS Letters.* - 2000. - P. 52-54.
319. Fischer A., Sananbenesi F., Wang X. et al. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. // *Nature.* - 2007. - Vol. 447. - P. 178-182.
320. Forman H.J., Torres M., Fukuto J. Redox signaling. // *Mol. Cell. Biochemistry.* - 2000. - Vol. 234. - № 235. - P. 49-62.
321. Frasure-Smith N., Lesperance F., Talajic M. Depression and 18-month prognosis after myocardial infarction. // *Circulation.* - 1995. - Vol. 91. - P. 999-1005.
322. Fujioka T., Fujioka A., Tan N. et al. Mild prenatal stress enhances learning performance in the non-adopted rat offspring. // *Neuroscience.* - 2001. - Vol. 103. - P. 301-307.
323. García Del Barco-Herrera D., Martínez N.S. et al. Epidermal growth factor and growth hormone-releasing peptide-6: combined therapeutic approach in experimental stroke. // *Restor. Neurol. Neurosci.* - 2013. - Vol. 31. - № 2. - P. 213-223.
324. Gazzaniga M.S., Hutsler J.J. Hemispheric specialization. // In R.A. Wilson F.C. Keil (Eds.): *The MIT encyclopedia of the cognitive sciences.* - Cambridge, MA: MIT Press. -1999. - P. 369-372.
325. Gerendai I, Halász B. Neuroendocrine asymmetry. // *Front Neuroendocrinol.* - 1997. - Vol. 18. - № 3. - P. 354-381.

326. Gomazkov O.A. Neurochemistry of the ischemic and age-related brain pathologies. - Information & Analytical Edition. - Moscow. - 2003. - 200 p.
327. Gordan M.L., Jungwirth B., Ohl F. et al. Evaluation of neurobehavioral deficits following different severities of cerebral ischemia in rats: a comparison between the modified hole board test and the Morris water maze test. // *Behav. Brain Res.* - 2012. - Vol. 235. - № 1. - P. 7-20.
328. Gould E., Reeves A. J., Graziano M.S. et al. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. // *Science.* - 1999. - Vol. 286. - P. 548-552.
329. Graeber M.B., Moran L.B. Mechanisms of cell death in neurodegenerative diseases: fashion, fiction and facts. // *Brain Pathol.* - 2002. - Vol. 12. - P. 385-390.
330. Grigoryan G., Biella G., Albani D. et al. Stress impairs synaptic plasticity in triple-transgenic Alzheimer's disease mice: rescue by ryanodine. // *Neurodegener. Dis.* - 2014. - Vol. 13. - № 2-3. - P. 135-138.
331. Gu J.H., Ge J.B., Li M. et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B activation is associated with anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of Ginkgolide B in a mouse model of cerebral ischemia/reperfusion injury. // *Eur. J. Pharm. Sci.* - 2012. - Vol. 47. - № 4. - P. 652-660.
332. Gulyaeva N.V., Kudryashov I., Kudriashova I. Caspase activity is essential for long term potentiation. // *J. Neurosci. Res.* - 2003. - Vol. 73. - P. 853-864.
333. Gulyaeva N.V. "Apoptotic" Mechanisms in normal brain plasticity: Caspase-3 and long term potentiation. // *Журнал высшей нервной деятельности.* - 2004. - Т. 54. - № 3. - С. 472-482.
334. Inagaki T., Kaneko N., Zukin R.S. et al. Estradiol attenuates ischemia-induced death of hippocampal neurons and enhances synaptic transmission in aged, long-term hormone-deprived female rats. // *PLoS One.* - 2012. - Vol. 7. - № 6. - e38018.
335. Halford J.C., Harrold J.A. 5-HT(2C) receptor agonists and the control of appetite. // *Handb. Exp. Pharmacol.* - 2012. - № 209. - P. 349-356.

336. Haller J. The link between stress and the efficacy of anxiolytics. A new avenue of research. // *Physiol. Behav.* - 2001. - Vol. 73. - № 3. - P. 337-342.
337. Harman D. The free radical theory of aging. // *Antioxid Redox Signal.* - 2003. - Vol. 5. - P. 557-561.
338. Harman D. Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span. // *Ann N.Y. Acad. Sci.* - 2006. - Vol. 1067. - P. 1021.
339. He X.L., Wang Y.H., Bi M.G. et al. Chrysin improves cognitive deficits and brain damage induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. // *Eur. J. Pharmacol.* - 2012. - Vol. - 680. - № 1-3. - P. 41-48.
340. Hersey P., Zhang X.D. Overcoming resistance of cancer cells to apoptosis. // *J. Cell Physiol.* - 2003. - Vol. 196. - № 1. - P. 9-18.
341. Hill M.F., Singal P.K. Antioxidant and oxidative stress changes Failure Subsequent to Myocardial Infarction in Rats. // *Am. J. Pathol.* - 1996. - Vol. 148. - № 1. - P. 291-300.
342. Hirai K., Hayako H., Kato K. et al. Idebenone protects hippocampal neurons against amyloid beta-peptide-induced neurotoxicity in rat primary cultures. // *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 358. - № 5. - P. 582-585.
343. Hlavacova N., Bakos J., Jezova D. Differences in home cage behavior and endocrine parametres in rats of four strains. // *Endocrine Regulations.* - 2006. - Vol. 40. - № 4. - P. 113-118.
344. Horakova L., Lukovic L., Uraz V. et al. Time course of lipid peroxidation during incomplete ischemia followed by reperfusion in rat brain. // *J. Physiol. Bohemoslov.* - 1990. - Vol. 39. - № 6. - P. 513-517.
345. Hosseini-Sharifabad M., Esfandiari E., Hosseini-Sharifabad A. The effect of prenatal exposure to restraint stress on hippocampal granule neurons of adult rat offspring. // *Iran J. Basic Med. Sci.* - 2012. - Vol. 15. - № 5. - P. 1060-1067.
346. Hsu H., Xiong J., Goeddel D.V. The TNF receptor I-associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa B activation. // *Cell.* - 1995. -

- Vol. 81. - P. 495-504.
347. Hu Z., Bian X., Liu X. Honokiol protects brain against ischemia-reperfusion injury in rats through disrupting PSD95-nNOS interaction. // *Brain Res.* - 2013. - Vol. 1491. - P. 204-212.
348. Huesmann G.R., Clayton D.F. Dynamic role of postsynaptic caspase-3 and BIRC4 in zebra finch song-response habituation. // *Neuron.* – 2006. - Vol. 52. - № 6. – P. 1061-1072.
349. Hug H. Fas-mediated apoptosis in tumor formation and defense. // *Biol. Chem.* - 1997. - Vol. 378. - P. 1405-1412.
350. Hunter A.J., Hatcher J., Virley D. et al. Functional assessments in mice and rats after focal stroke. // *Neuropharmacology.* - 2000. - Vol. 39. - № 5. - P. 806-816.
351. Ibayashi S., Fujishima M., Sadoshima S. et al. Cerebral blood flow and tissue metabolism in experimental cerebral ischemia of spontaneously hypertensive rats with hyper-, normo-, and hypoglycemia. // *Stroke.* - 1986. - Vol. 17. - № 2. - P. 261-266.
352. Ishige K., Chen Q., Sagara Y. et al. The activation of dopamine D4 receptors inhibits oxidative stress-induced nerve cell death. // *J. Neurosci.* - 2001. - Vol. 21. - № 16. - P. 6069-6076.
353. Inagaki T., Kaneko N., Zukin R.S. Estradiol attenuates ischemia-induced death of hippocampal neurons and enhances synaptic transmission in aged, long-term hormone-deprived female rats. // *PLoS. One.* - 2012. - Vol. 7. - № 6. - e38018.
354. Irie H., Koyama H., Kugo H. et al. Herpes simplex virus hepatitis in macrophage – depleted mice – the role of massive, apoptotic cell death in pathogenesis. // *J. General Virol.* - 1998. - Vol. 79. - P. 1225-1231.
355. Israels L.G., Israels E.D. Apoptosis. // *Stem Cells.* - 1999. - Vol. 17. № 5. - P. 306-313.
356. Jen-Jacobson L. Structural-perturbation approaches to thermodynamics of site-specific protein-DNA interactions. // *Methods Enzymol.* - 1995. - Vol.

259. - P. 305-344.
357. Jeremias I., Kupatt C., Martin-Villalba A. Involvement of CD95/Apo1/Fas in cell death after myocardial ischemia. // *Circulation*. - 2000. - Vol. 102. - P. 915-920.
358. Jiang C.H., Tsien J.Z., Schultz P.G., Hu Y. The effects of aging on gene expression in the hypothalamus and cortex of mice. // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. - 2001. - Vol. 98. - P. 1930-1934.
359. Johnson L.J., Meacham S.L., Kruskall L.J. The antioxidants – vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. // *J. Agromedicine*. - 2003. - Vol. 9. - P. 65-82.
360. Jones D.G., Harris R.J. An analysis of contemporary morphological concepts of synaptic remodeling in the CNS: perforated synapses revisited. // *Rev. Neurosci*. - 1995. - Vol. 6. - № 3. - P. 177-219.
361. Kamijo M., Kojima K., Maruyama K. Neuropeptide Y in tiger puffer (*Takifugu rubripes*): distribution, cloning, characterization, and mRNA expression responses to prandial condition. // *Zoolog. Sci*. - 2011. - Vol. 28. - № 12. - P. 882-890.
362. Kanamori A., Catrinescu M.M., Kanamori N. et al. Superoxide is an associated signal for apoptosis in axonal injury. // *Brain*. - 2010. - Vol. 133. - P. 2612-2625.
363. Kamibayashi T., Maze M. Clinical uses of  $\alpha$ -adrenergic agonists. // *Anesthesiology*. - 2000. - Vol. 93. - P. 1345-1349.
364. Keller J.N., Kindy M.S., Holtsberg F.W. Mitochondrial manganese superoxide dismutase prevents neural apoptosis and reduces ischemic brain injury: suppression of peroxynitrite production, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction // *J. Neurosci*. - 1998. - Vol. 18. - P. 687-697.
365. Keynes R.G., Garthwaite J. Nitric oxide and its role in ischemic brain injury // *Curr. Mol. Med*. - 2004. - Vol. 4. - № 2. - P. 179-191.
366. Kheirandish L., Gozal D., Pequignot J.M. et al. Intermittent hypoxia during development induces long-term alterations in spatial working memory,

- monoamines, and dendritic branching in rat frontal cortex. // *Pediatr. Res.* – 2005. - Vol. 58. - № 3. - P. 594-599.
367. King B.M., Arceneaux E.R., Cook J.T. et al. Temporal lobe lesion-induced obesity in rats: an anatomical investigation of the posterior amygdala and hippocampal formation. // *Physiol. Behav.* - 1996. - Vol. 59. - № 4-5. - P. 843-848
368. Knapp L.T., E. Klann Role of reactive oxygen species in hippocampal long-term potentiation: contributory or inhibitory? // *J. Neurosci. Res.* - 2002. - Vol. 70. - P. 1-7.
369. Kochanowski K., Volkmer B., Gerosa L. Functioning of a metabolic flux sensor in *Escherichia coli*. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2013. - Vol. 110. - № 3. - P. 1130-1135.
370. Koltover V.K. Antioxidant and prooxidant effects of magnetic isotopes in biomolecular nanoreactors. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. - Vol. 43. - S. 67-68.
371. Krijnen P.A., Nijmeijer R., Meijer C.J. et al. Apoptosis in myocardial ischemia and infarction. // *J. Clin. Pathol.* - 2002. - Vol. 55. - P. 801-811.
372. Kryukov V.I. The role of the hippocampus in long-term memory: is it memory store or comparator? // *J. Integr. Neurosci.* - 2008. - Vol. 7. - № 1. - P. 117-184.
373. Kuan C.-Y., Roth K.A., Flavell R.A. et al. Mechanism of programmed cell death in the developing brain // *Trends Neurosci.* - 2000. - Vol. 23. - P. 291-297.
374. Kubos K.L., Robinson R.G. Asymmetrical effects of cortical island lesions in the rat // *Behav. Brain Res.* – 1984. – Vol.11. - № 1. – P. 89-93.
375. Kudrina P.I., Arev A.L., Ovsianikova N.A. The cerebrovascular pathology and the condition of brain blood circulation according to ultrasonic dopplerographic investigation depending on ethnos. // *Adv Gerontol.* - 2012. - Vol. 25. - № 3. - P. 493-496.

376. Kujoth G.C. Hiona A., Pugh T.D. et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. // *Science*. - 2005. - Vol. 309. - P. 481-484.
377. Kumral A., Uysal N., Tugyan K. et al. Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. // *Behav Brain Res*. - 2004. - Vol. 153. - № 1. - P. 77-86.
378. Lacour M. Histamine. Vestibular function and vestibular compensation. - Paris: Elsevier. - 1998. - 55 p.
379. Lam P.Y., Chen N., Chiu P.Y. et al. Neuroprotection against oxidative injury by a nucleic acid-based health product (Squina DNA) through enhancing mitochondrial antioxidant status and functional capacity. // *J. Med. Food*. - 2012. - Vol. 15. - № 7. - P. 629-638.
380. Lash G.E., Cartwright J.E. The effects of angiogenic growth factors on extra villous trophoblast invasion and motility. // *Placenta*. - 1999. - Vol. 20. - № 8. - P. 661-667.
381. Lee C.K., Weindruch R., Prolla T.A. Gene-expression profile of the ageing brain in mice. // *Nature Genet*. - 2000. - Vol. 25. - P. 294-297.
382. Lee S., Kim C.K., Rivier C. Nitric Oxide Stimulates ACTG Secretion and the Transcription of the Genes Encoding for NGFI-B, Corticotropin-Releasing Factor, Corticotropin-Releasing Factor Receptor Type 1, and Vasopressin in the Hypothalamus of the Intact Rat. // *J. of Neuroscience*. - 1999. - Vol. 19. - № 17. - P. 7640-7647.
383. Leibowitz S.F. Brain monoamines and peptides: Role in the control of eating behavior. // *Federal Proceeding*. - 1986. - Vol. 45. - P. 1396-1403.
384. Lemaire V., Lamarque S., Le Moal M. et al. Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. // *Biol. Psychiatry*. - 2006. - Vol. 59. - P. 786-792.
385. Le May D.R., Gehua L., Zelenock G.B. et al. Insulin administration protects neurologic function in cerebral ischemia in rats. // *Stroke*. - 1988. - Vol. 19. - № 11. - P. 1411-1419.

386. Levine S. Infantile experience and consummatory behavior in adulthood. // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1957. - Vol. 50. - № 6. – P. 609-612.
387. Li Y., Barger S.W., Liu L. et al. S100 $\beta$  induction of the pro-inflammatory cytokine interleukin-6 in neurons. // J. Neurochem. - 2000. - Vol. 74. - P. 143-150.
388. Li L.Y., Luo X., Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. // Nature. - 2001. - Vol. 412. - №6842. - P. 95-99.
389. Lin T.N., He Y.Y., Wu G. et al. Effect of brain edema on infarct volume in a focal cerebral ischemia model in rats. // Stroke. - 1993. - Vol. 24. - № 1. - P. 117-121.
390. Linnik M.D., Zobrist R.H., Hatfield M.D. Evidence supporting a role for programmed cell death in focal cerebral ischemia in rats. // Stroke. - 1993. - Vol. 24. - № 12. - P. 2002-2009.
391. Liou A.K., Clark R.S., Henshall D.C. et al. To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: a review on the stress-activated signalling pathways and apoptotic pathways. // Progress Neurobiology. - 2003. - Vol. 69. - P. 103-142.
392. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. // Physiol. Rev. - 1999. - Vol. 79. - P. 1431-1568.
393. Liu J., Head E., Gharib A.M. et al. Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R- $\alpha$ -lipoic acid. // Proc. Natl Acad. Sci. - USA. - 2002. - Vol. 99. - P. 2356-2361.
394. Loerch P.M., Lu T., Dakin K.A. et al. Evolution of the aging brain transcriptome and synaptic regulation. // PLoS ONE. - 2008. - Vol. 3. - e3329.
395. Loria C.J., Stevens A.M., Crummy E. et al. Respiratory and behavioral dysfunction following loss of the GABAA receptor  $\alpha$ 4 subunit. // Brain Behav. - 2013. - Vo. 3. - № 2. - P. 104-113.

396. Los M., Stroh C., Jänicke R.U. et al. Caspases: more than just killers? // Trends Immunol. - 2001. - Vol. 22. - № 1. - P. 31-34.
397. Lu T., Pan Y., Kao S.Y. et al. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. // Nature. - 2004. - Vol. 429. - P. 883-891.
398. Magno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, necrosis. // Amer. J. Pathol. - 1995. - Vol. 146. - № 1. - P. 3-15.
399. Mannick J.B., Hausladen A., Liu L. et al. Fas-induced caspase denitrosylation. // Science. - 1999. - Vol. 284. - P. 651-654.
400. Maragakis N.J., Rothstein J.D. Mechanisms of Disease: astrocytes in neurodegenerative disease. // Nat. Clin. Pract. Neurol. - 2006. - Vol. 2. - № 12. - P. 679-689.
401. Massion J., Woollacott M.H. Posture and equilibrium. / From book.: London: Arnold Publishers. - 1996. - P. 1-19.
402. Mattson M.P., Chan S.L., Duan W. Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. // J. Neurosci. Res. - 1999. - Vol. 58. - P. 152-156.
403. Mattson M.P., Duan W. "Apoptotic" biochemical cascades in synaptic compartments: Roles in adaptive plasticity and neurodegenerative disorders. // Physiol. Rev. - 2002. - Vol. 82. - P. 637-672.
404. McConkey D.J., Orrenius S. Signal transduction pathways in apoptosis // Stem Cells. - 1996. - Vol. 14. - P. 619-631.
405. McKenna S.L., Cotter T.G. Functional aspects of apoptosis in hematopoiesis and consequences of failure. // Adv. Cancer Res. - 1997. - Vol. 71. - P. 121-164.
406. McLaughlin B. The kinder side of killer proteases: caspase activation contributes to neuroprotection and CNS remodeling. // Apoptosis. - 2004. - Vol. 9. - № 2. - P. 111-121.
407. Meier P., Silke J., Leever S. J. et al. The Drosophila caspase DRONC is regulated by DIAP1. // EMBO J. - 2000. - Vol. 19. - P. 598-611.

408. Mendzheritski A.M., Lysenko A., Uskova N. et al. Study of the mechanism of anticonvulsive effect of the DSIP in hyperoxic conditions. // Neuroscience and behavioral physiology. – 1997. – Vol. 27. - № 6. - P. 437-440.
409. Mendzheritski A.M., Karantysh G.V., Kosenko Y.V. Effect of an inhibitor of inducible NO-synthase on the indices of free radical-mediated process in rats with different lateralization profiles under conditions of impaired cerebral blood flow. // Neurochemical J. - 2008. - Vol. 25. - № 3. P. 1-6.
410. Mendzheritski A.M., Karantysh G.V., Kosenko Y.V. Effect of an inhibitor of inducible NO-synthase on the indices of free radical-mediated process in rats with different lateralization profiles under conditions of impaired cerebral blood flow. // Neurochemical J. - 2008. - Vol. 25. - № 3. P. 1-6.
411. Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain. // Brain Res. Bull. - 1999. - Vol. 48. - P. 233-238.
412. Miyazaki I., Asanuma M. Approaches to prevent dopamine quinone-induced neurotoxicity. // Neurochem Res. - 2009. - Vol. 34. - № 4. - P. 698-706.
413. Miyazaki I., Asanuma M., Kikkawa Y. et al. Astrocyte-derived metallothionein protects dopaminergic neurons from dopamine quinone toxicity. // Glia. - 2011. - Vol. 59. - № 3. - P. 435-451.
414. Mohammadi M.T., Shid-Moosavi S.M., Dehghani G.A. Contribution of nitric oxide synthase (NOS) in blood-brain barrier disruption during acute focal cerebral ischemia in normal rat. // Pathophysiology. - 2012. - Vol. 19. - № 1. - P. 13-20.
415. Moll U.M., Zaika A. Nuclear and mitochondrial apoptotic pathways of p53. // FEBS Lett. - 2001. - Vol. 493. - № 2-3. - P. 65-69.
416. Morris R.G. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. // J. Neurosci. Meth. - 1984. - Vol. 11. - P. 47-60.
417. Muller F.L., Lustgarten M.S., Jang Y. et al. Trends in oxidative aging

- theories. // *Free Radic. Biol. Med.* - 2007. - Vol. 43. - P. 477-503.
418. Mychasiuk R., Harker A., Ilnytsky S., Gibb R. Paternal Stress Prior to Conception Alters DNA Methylation and Behaviour of Developing Rat Offspring. // *Neuroscience.* - 2013. - Vol. 241. - P. 100-105.
419. Muresanu D.F. Neurotrophic factors - Bucuresti.: Libripres. - 2003. - 252 p.
420. Naegeli K.J., O'Connor J.A., Banerjee P. et al. Effects of milnacipran on cognitive flexibility following chronic stress in rats. // *Eur. J. Pharmacol.* - 2013. - Vol. 703. - № 1-3. - P. 62-66.
421. Negoescu A., Guillermet C., Lorimier P. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity. // *Biomed-Pharmacother.* - 1998. - Vol. 52. - № 6. - P. 252-258.
422. Nicholson D.W., Thornberry N.A. Caspases: Killer proteases. // *Trends Biochem Sci.* - 1997. - Vol. 22. - P. 299-306.
423. Niv F., Keiner S., Krishna-K et al. Aberrant neurogenesis after stroke: a retroviral cell labeling study. // *Stroke.* - 2012. - Vol. 43. - №9. - 2468-2475.
424. Nyakas C., Buwalda B., Luiten P.G.M. Hypoxia and brain development. // *Progress in Neurobiology.* - 1996. - Vol. 49. - P. 1-51.
425. Nyakas C., Felszeghy K., Bohus B. et al. Permanent upregulation of hippocampal mineralocorticoid receptors after neonatal administration of ACTH(4-9) analog ORG 2766 in rats. // *Brain Res. Dev. Brain. Res.* - 1997. - Vol. 99. - № 2. - P. 142-147.
426. Oberholzer C., Oberholzer A., Clare-Salzler M. et al. Apoptosis in sepsis: new target for therapeutic exploration // *FASEB J.* - 2001. - Vol. 15. - P. 879-892.
427. Ohtaki H., Ohara K., Song D. et al. Accumulation of autofluorescent storage material in brain is accelerated by ischemia in chloride channel 3 gene-deficient mice. // *J. Neurosci Res.* - 2012. - Vol. 90. - № 11. - P. 2163-2172.
428. Onufriev M.V., Yakovlev A.A., Lyzhin A.A. et al. A secreted caspase-3-

- substrate-cleaving activity at low pH belongs to cathepsin B: a study on primary brain cell cultures. // *Biochemistry*. - Mosc. - 2009. - Vol. 74. - № 3. - P. 281-287.
429. Ostrovskaya R.U., Gruden M.A., Bobkova N.A. et al. The nootropic and neuroprotective proline-containing dipeptide noopept restores spatial memory and increases immunoreactivity to amyloid in an Alzheimer's disease model. // *J. Psychopharmacol.* – 2007. - Vol. 21. -№ 6. – P. 611-619.
430. Pan W., Kastin A.J. Tumor necrosis factor and stroke: role of the blood-brain barrier. // *Prog. Neurobiol.* - 2007. - Vol. 83. - № 6. - P. 363-374.
431. Pan Y., Lin W., Wang W. et al. The effects of central pro- and antiinflammatory immune challenges on depressive-like behavior induced by chronic forced swim stress in rats. // *Behav. Brain Res.* - 2013. - Vol. 247. - P. 232-240.
432. Pandey A.K., Patnaik R., Muresanu D.F. et al. Quercetin in hypoxia-induced oxidative stress: novel target for neuroprotection. // *Int. Rev. Neurobiol.* - 2012. - Vol. 102. - P. 107-146.
433. Park D.C., Reuter-Lorenz P. The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. // *Annu. Rev. Psychol.* - 2009. - Vol. 60. - P. 173-196.
434. Pendina A.A., Efimova O.A., Fedorova I.D. et al. DNA methylation patterns of metaphase chromosomes in human preimplantation embryos. // *Cytogenet. Genome Res.* - 2011. - Vol. 132. - № 1-2. - P. 1-7.
435. Peng B., Guo Q.L., He Z.J. et al. Remote ischemic postconditioning protects the brain from global cerebral ischemia/reperfusion injury by up-regulating endothelial nitric oxide synthase through the PI3K/Akt pathway. // *Brain Res.* - 2012. - Vol. 1445. - P. 92-102.
436. Perfettini J.L., Kroemer G. Caspase activation is not death. // *Nat. Immunol.* - 2003. - Vol. 4. - № 4. - P. 308-310.
437. Petit C.K., Olarte J.P., Roberts B. et al. Selective glial vulnerability following transient global ischemia in rat brain. // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* - 1998. - Vol. 57. - № 3. - P. 231-238.

438. Piantadosi C.A., Zhang J., Levin E.D. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. // *Experimental Neurology*. - 1997. - Vol. 147. - № 1. - P. 103-114.
439. Pinna L.A., Meggio R. Protein kinase CK2 (casein kinase-2) and its implication in cell division and proliferation. // *Prog. Cell Cycle Res.* - 1997. - Vol. 3. - P. 1-21.
440. Pijlman F.T., van Ree J.M. Physical but not emotional stress induces a delay in behavioural coping responses in rats. // *Behav. Brain Res.* - 2002. - Vol. 136. - P. 365-373.
441. Placer Z.A., Lind L., Cushmann M. et al. Estimation of product of lipid peroxidation (MDA) in biological systems. // *Anal Biochem.* - 1966. - № 16. - P. 359-364.
442. Pobezhimova T.P., Voinikov V.K. Biochemical and physiological aspects of ubiquinone function. // *Membr. Cell. Biol.* - 2000. - Vol. 13. - P. 595-602.
443. Prasad K., Lee P., Mantha S.V. Detection of ischemia-reperfusion cardiac injury by cardiac muscle chemiluminescence. // *Mol. Cell. Biochem.* - 1992. - Vol. 115. - P. 49-58.
444. Pulsinelli W.A., Brierley J.B., Plum F. Temporal prolife of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. // *Ann. Neurol.* - 1982. - Vol. 11. - P. 491-498.
445. Quistorff B., Secher N.H., Van Lieshout J.J. Lactate fuels the human brain during exercise. // *FASEB J.* - 2008. - Vol. 22. - № 10. - P. 3443-3449.
446. Rich T., Allen L., Wyllie H. Defying death after DNA damage. // *Nature.* - 2000. - Vol. 407. - P. 777-783.
447. Roberts J., Kahle M.P., Bix G.J. Perlecan and the blood-brain barrier: beneficial proteolysis? // *Front. Pharmacol.* - 2012. - Vol. 3. - P. 155.
448. Rossiter J. P., Anderson L. L., Yang F. et al. Caspase-3 activation and caspase-like proteolytic activity in human perinatal hypoxic-ischemic brain injury. // *Acta Neuropathol.* - 2002. - Vol. 103. - P. 66-73.

449. Row B.W., Liu R., Xu W. et al. Intermittent hypoxia is associated with oxidative stress and spatial learning deficits in the rat. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2003. - Vol. 167. - № 11. - P. 1548-1553.
450. Rybnikova E., Gluschenko T., Tulkova E. et al. Preconditioning induces prolonged expression of transcription factors pCREB and NF-kappaB in the neocortex of rats before and following severe hypobaric hypoxia // *Journal of Neurochemistry.* - 2008. - Vol. 106. - P. 1450-1458.
451. Sahay A., Hen R. Adult hippocampal neurogenesis in depression. // *Nat. Neurosci.* - 2007. - Vol. 10. - № 9. - P. 1110-1115.
452. Sakagami H., Kawano M., Thet M.M. et al. Anti-HIV and immunomodulation activities of cacao mass lignin-carbohydrate complex. // *In Vivo.* - 2011. - Vol. 25. - № 2. - P. 229-236.
453. Sangiao-Alvarellos S., Helmling S., Vázquez M.J. et al. Ghrelin neutralization during fasting-refeeding cycle impairs the recuperation of body weight and alters hepatic energy metabolism. // *Molecular and Cellular Endocrinology.* - 2011. - Vol. 335. - № 2. - P. 177-188.
454. Sanguinetti S.M., Batthyany C., Trostchansky A. Nitric oxide inhibits prooxidant actions of uric acid during copper-mediated LDL oxidation. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 2004. - Vol. 423. - P. 302-308.
455. Schaffer S.W., Croft C.B., Solodushko V. Cardioprotective effect of chronic hyperglycemia: effect on hypoxia-induced apoptosis and necrosis. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2000. - Vol. 278. - № 6. - P. H1948–1954.
456. Schwab M., Schaller R., Bauer R. et al. Morphofunctional effects of moderate forebrain ischemia combined with short-term hypoxia in rats-protective effects of Cerebrolysin. // *Experimental and Toxicologic Pathology.* - 1997. - Vol. 49. - № 1-2. - P. 29-37.
457. Seif-El-Nasr M., Atia A.S., Abdelsalam R.M. Effect of MAO-B inhibition against ischemia-induced oxidative stress in the rat brain. Comparison with a

- rational antioxidant. // *Arzneimittelforschung.* – 2008. - Vol. 58. - № 4. – P. 160-167.
458. Seredenin S.B., Semenova T.P., Kozlovskaja M.M. The peculiarity of individual and genetically determined effects of tuftsin and its analogue on the emotional animal behaviour. // 1st PAN Asion Oceanic Congress of Neuroscience. - Thailand. - 1996. - P. 159.
459. Serrano A., Pavón F.J., Tovar S. et al. Oleoylethanolamide: effects on hypothalamic transmitters and gut peptides regulating food intake. // *Neuropharmacology.* - 2011. - Vol. 60. - № 4. - P. 593-601.
460. Shang H., Yang D., Zhang W. et al. Time course of Keap1-Nrf2 pathway expression after experimental intracerebral haemorrhage: correlation with brain oedema and neurological deficit. // *Free Radic. Res.* - 2013. - Vol. 47. - № 5. - P. 368-375.
461. Shen H., Wu X., Zhu Y. et al. Intravenous administration of *Achyranthes bidentata* polypeptides supports recovery from experimental ischemic stroke in vivo. // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 8. - № 2. - e57055.
462. Sheng M., Greenberg M.E. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. // *Neuron.* - 1990. - Vol. 4. - P. 477.
463. Sheng M. Molecular organization of the postsynaptic specialization. // *PNAS.* - 2001. - Vol. 98. - № 13. - P. 7058-7061.
464. Sherstnev V.V., Skvortsova V.I., Gruden' M.A. et al. Protein HLDF and antibodies to it as molecular pathogenetic factors and new markers of acute cerebral blood circulation disturbances. // *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova.* – 2004. - Suppl 12. – P. 53-59.
465. Sherstnev V.V., Yurasov V.V., Storozheva Z.I. Biochemical markers of apoptosis in different parts of the brain during learning. // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2006. - Vol. 36. - № 9. – P.915-919.

466. Sies H. Oxidative Stress II: Oxidants and Antioxidants. / From book: London.: Academic Press. - 1991. - P. 3-22.
467. Shi Z.Q., Sunico C.R., McKercher S.R. S-nitrosylated SHP-2 contributes to NMDA receptor-mediated excitotoxicity in acute ischemic stroke. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2013. - Vol. 110. - № 8. - P.3137-3142.
468. Smythies J. Redox mechanisms at the glutamate synapse and their significance: a review. // Eur. J. Pharmacol. - 1999. - Vol. 370. - P. 1-7.
469. Sonijen G. Mechanisms of cerebral ischemia and stroke. – N.Y.: Plenum Press. - 1987. - 474p.
470. Sominsky L., Fuller E.A., Bondarenko E. et al. Functional programming of the autonomic nervous system by early life immune exposure: implications for anxiety. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. - № 3. – e57700.
471. Sousa N., Lukoyanov N.V., Madeira M.D. et al. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. // Neuroscience. - 2000. - Vol. 97. - P. 253-266.
472. Steckert A.V., Valvassori S.S., Varela R.B. et al. Effects of sodium butyrate on oxidative stress and behavioral changes induced by administration of d-AMPH. // Neurochem. Int. – 2013. – Vol. 62. - № 4. – P. 425-432.
473. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. // Science. - 1995. - Vol. 267. - P. 1445-1449.
474. Stepanichev M.Y., Kudryashova I.V., Yakovlev A.A. et al. Central administration of a caspase inhibitor impairs shuttle-box performance in rats. // Neuroscience. – 2005. - Vol. 136. - № 2. –P. 579-591.
475. Stokes A.H., Hastings T.G., Vrana K.E. Cytotoxic and genotoxic potential of dopamine. // J. Neurosci. Res. - 1999. - Vol. 55. - № 6. - P. 659-665.
476. Stone E.A., Zhang Y. Adrenoceptor antagonists block c-fos response to

- stress in the mouse brain. // *Brain Res.* - 1995. - Vol. 694. - № 1-2. P.279-286 (a).
477. Stone E.A., Najimi M., Quartermain D. Potentiation by propranolol of stress-induced changes in passive avoidance and open-field emergence tests in mice. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* - 1995. - Vol. 51. - № 2-3. - P. 297-300 (b).
478. Stone E.A., Manavalan S.J., Zhang Y. Beta adrenoceptor blockade mimics effects of stress on motor activity in mice. // *Neuropsychopharmacology.* - 1995. - Vol. 12. - № 1. - P. 65-71 (c).
479. Su X., Zhu Ch.-L., Shi W. et al. Transient global cerebral ischemia induces up-regulation of MLTK $\alpha$  in hippocampal CA1 neurons. // *Journal of Molecular Histology.* - 2012. - Vol. - 43. - № 2. - P. 187-193.
480. Sun F., Wang X., Mao X. et al. Ablation of neurogenesis attenuates recovery of motor function after focal cerebral ischemia in middle-aged mice. // *PLoS One.* - 2012. - Vol. 7. - № 10. - e46326.
481. Takahashi K., Takatani T., Uozumi Y. Molecular mechanisms of cardioprotection by taurine on ischemia-induced apoptosis in cultured cardiomyocytes. // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2006. - Vol. 583. - P. 257-263.
482. Takemura G., Ohno M., Hayakawa Y. et al. Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction. // *Circulat. Res.* - 1998. - Vol. 82. - № 11. - P. 1130-1138.
483. Tang H., Wang Y., Xie L. et al. Effect of neural precursor proliferation level on neurogenesis in rat brain during aging and after focal ischemia. // *Neurobiol. Aging.* - 2009. - Vol. 30. - № 2. - P. 299-308.
484. Taylor D.L., Edwards A.D., Mehmet H. Oxidative metabolism, apoptosis and perinatal brain injury. // *Brain Pathol.* - 1999. - Vol. 9. - P. 93-117.
485. Tishkina A.O., Levshina I.P., Lazareva N.A. et al. Chronic stress induces nonapoptotic neuronal death in the rat hippocampus. // *Dokl. Biol. Sci.* -

2009. - Vol. 428. - P. 403-406.
486. Thatte U., Dahanukar S. Apoptosis – clinical relevance and pharmacological manipulation // *Drugs*. - 1997. - Vol. 54. - P. 511-532.
487. Thomsen W.J., Grottick A.J., Menzaghi F. et al. Lorcaserin, a novel selective human 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> agonist: in vitro and in vivo pharmacological characterization. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2008. - Vol. 325. - № 2. - P. 577-587.
488. Thornberry N.A., Lazebnik Y. Caspases: enemies within. // *Science*. - 1998. - Vol. 281. - P. 12-16.
489. Tomimatsu Y., Idemoto S., Mariguchia S. et al. Proteases involved in long-term potentiation // *Life Sci.* - 2002. - Vol. 72. - P. 355-361.
490. Tordera R.M., Garcia-García A.L., Elizalde N. et al. Chronic stress and impaired glutamate function elicit a depressive-like phenotype and common changes in gene expression in the mouse frontal cortex. // *Eur Neuropsychopharmacol.* - 2011. - Vol. 21. - № 1. - P. 23-32.
491. Toumi M.L., Merzoug S., Baudin B. et al. Quercetin alleviates predator stress-induced anxiety-like and brain oxidative signs in pregnant rats and immune count disturbance in their offspring. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* - 2013. - Vol. 107. - P. 1-10.
492. Troadec J.D., Marien M., Mourlevat S. et al. Activation of the mitogen-activated protein kinase (ERK(1/2)) signaling pathway by cyclic AMP potentiates the neuroprotective effect of the neurotransmitter noradrenaline on dopaminergic neurons. // *Molecular Pharmacology*. - 2002. - Vol. 62. - № 5. - P. 1043-1052.
493. Tuteja N., Chandra M., Tuteja R. et al. Nitric Oxide as a Unique Bioactive Signaling Messenger in Physiology and Pathophysiology. // *J. Biomed. Biotechnol.* - 2004. - Vol. 4. - P. 227-237.
494. Vaibhav K., Shrivastava P., Khan A. et al. *Azadirachta indica* mitigates behavioral impairments, oxidative damage, histological alterations and

- apoptosis in focal cerebral ischemia-reperfusion model of rats. // *Neurol Sci.* - 2012.
495. Vaibhav K., Shrivastava P., Javed H. et al. Piperine suppresses cerebral ischemia-reperfusion-induced inflammation through the repression of COX-2, NOS-2, and NF- $\kappa$ B in middle cerebral artery occlusion rat model. // *Mol Cell Biochem.* - 2012. - Vol. 367. - № 1-2. - P. 73-84.
496. Vallee M., MacCari S., Dellu F. et al. Long-term effects of prenatal stress and postnatal handling on age-related glucocorticoid secretion and cognitive performance: a longitudinal study in the rat. // *Eur. J. Neurosci.* - 1999. - Vol. 11. - P. 2906-2916.
497. Vaux D.L., Weissmann I.L., Kim S.K. Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* by human bel-2. // *Ibid.* - 1992. - Vol. 258. - P. 1955-1959.
498. Waczak H., Los M. Caspases: their role in cell death and cell survival. - 2002. - 344 p.
499. Ward H.E., Johnson E.A., Salm A.K. et al. Effects of prenatal stress on defensive withdrawal behavior and corticotrophin releasing factor systems in rat brain. // *Physiol. Behav.* - 2000. - Vol. 70. - P. 359-366.
500. Weiland U., Haendeler J., Ihling C. et al. Inhibition of endogenous nitric oxide synthase potentiates ischemia-reperfusion-induced myocardial apoptosis via a caspase-3 dependent pathway. // *Cardiovasc. Res.* - 2000. - Vol. 45. - № 3. - P. 671-678.
501. Wu J., Song T.B., Li Y.J. et al. Prenatal restraint stress impairs learning and memory and hippocampal PKC $\beta$ 1 expression and translocation in offspring rats. // *Brain Res.* - 2007. - Vol. 1141. - P. 205-213.
502. Xuan A., Long D., Li J. Neuroprotective effects of valproic acid following transient global ischemia in rats. // *Life Sci.* - 2012. - Vol. 90. - № 11-12. - P. 463-468.

503. Yakovlev A.A., Gorokhovatsky A.Y., Onufriev M.V. et al. Brain cathepsin B cleaves a caspase substrate. // *Biochemistry*. - Mosc. - 2008. - Vol. 73. - № 3. - P. 332-336.
504. Yan N., Y. Shi Mechanisms of apoptosis through structural biology // *Anny. Rev. Cell Dev. Biol.* - 2005. - Vol. 21. - P. 35-56.
505. Yang W., Van Duyne G.D. Protein-nucleic acid interactions. Editorial overview. // *Current opinion in Structural Biology*. - 2004. - Vol. 14. - P. 1-3.
506. Yang E.S., Park G.W. Regulation of nitric oxide-induced apoptosis by sensitive to apoptosis gene protein. // *Free Radic. Res.* - 2006. - Vol. 40. - P. 279-284.
507. Yang T., Zhuang L., Terrando N. et al. A clinically relevant model of perinatal global ischemic brain damage in rats. // *Brain Res.* - 2011. - Vol. 1383. - P. 317-23.
508. Yasojima K., Schwab K.C., McGeer E.G. et al. Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: Upregulation in Alzheimer`s disease. // *Brain Res.* - 2000. - Vol. 887. - P. 80-89.
509. Yin K.J., Fan Y., Hamblin M. et al. KLF11 mediates PPAR $\gamma$  cerebrovascular protection in ischaemic stroke. // *Brain*. - 2013. - Vol. 136. - Pt. 4. - P. 1274-87.
510. Yu S., Yang S., Holsboer F. et al. Glucocorticoid regulation of astrocytic fate and function. // *PLoS. One.* - 2011. - Vol. 6. - № 7. - e22419.
511. Yuan J., Yankner B.A. Apoptosis in the nervous system. // *Nature*. - 2000. - Vol. 407. - P. 802-809.
512. Zea Longa E.L, Weinstein P.R. Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. // *Stroke*. - 1989. - Vol. 20. - P. 84-91.
513. Zhang H., Zhang Y.W., Chen Y. et al. Appoptosin is a novel pro-apoptotic protein and mediates cell death in neurodegeneration.// *J Neurosci*. - 2012a. - Vol. 32. - № 44. - P. 15565-15576.

514. Zhang R.L., Chopp M., Roberts C. et al. Sildenafil enhances neurogenesis and oligodendrogenesis in ischemic brain of middle-aged mouse. // PLoS One. – 2012. – Vol. 7. - № 10. - e48141.
515. Zhao Z.Q., Vinten-Johansen J. Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning // Cardiovasc. Res. - 2002. - Vol. 55. - P. 438-455.
516. Zhou J., Zhuang J., Li J. et al. Long-term post-stroke changes include myelin loss, specific deficits in sensory and motor behaviors and complex cognitive impairment detected using active place avoidance. // PLoS One. - 2013. - Vol. 8. - № 3. - e57503.
517. Zucchi F.C., Yao Y., Ward I.D. et al. Maternal stress induces epigenetic signatures of psychiatric and neurological diseases in the offspring.// PLoS One. – 2013. – Vol. 8. - № 2. - e56967.