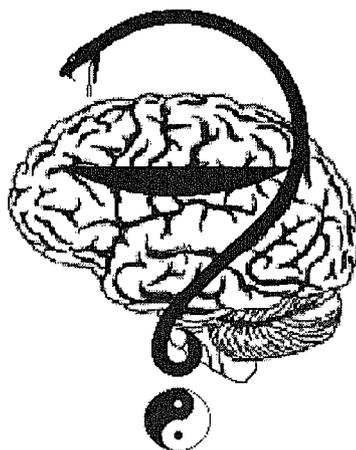


**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМ. И.П. ПАВЛОВА  
УРАН ИНСТИТУТ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ РАН  
ГУ НИ ИНСТИТУТ НОРМАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. П.К. АНОХИНА РАМН  
УРАН ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН  
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ НАН УКРАИНЫ**



**Седьмой  
международный междисциплинарный конгресс  
НЕЙРОНАУКА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И  
ПСИХОЛОГИИ**

**Школа  
МЕХАНИЗМЫ И ЭФФЕКТИВНЫЕ СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ  
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

**Школа-семинар  
ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ НЕЙРОИССЛЕДОВАНИЯ**

**Судак, Крым, Украина, 3-13 июня 2011 года**

# ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ КОНГРЕССА

## ПОЧЕТНЫЙ ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

**М.Г. Айрапетянц**, академик МАН, Засл. деят. науки РФ (Россия)

## ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

**Е.В. Лосева**, д.б.н. (Россия)

## ПРОГРАММНЫЙ НАУЧНЫЙ КОМИТЕТ

Э.Г. Акмаев, академик РАМН (Россия)	А.М. Иваницкий, чл.-корр. РАН (Россия)
К.В. Судаков, академик РАМН (Россия)	В.Г. Скребицкий, чл.-корр. РАН и РАМН (Россия)
П.М. Балабан, проф. (Россия)	Е.А. Умрюхин, чл.-корр. РАМН (Россия)
Е. Kobylansky, prof. (Israel)	В.М. Ковальзон, д.б.н. (Россия)
В.В. Шульговский, проф. (Россия)	Г.Р. Иваницкий, чл.-корр. РАН (Россия)
В.Н. Казаков, академик НАНУ (Украина)	В.Г. Пинелис, проф. (Россия)
С.И. Сороко, чл.-корр. РАН (Россия)	В.М. Кавсан, чл.-корр. НАНУ (Украина)
Ю.П. Герасименко, проф. (Россия, США)	А.В. Сидоренко, проф. (Беларусь)
Г.А. Куликов, проф. (Россия)	В.Л. Дунин-Барковский, проф. (Россия)
А.Ю. Егоров, проф. (Россия)	
М.А. Александрова, д.б.н. (Россия)	

## РАБОЧИЙ ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Елена Владимировна Лосева  
Надежда Александровна Логинова  
Владимир Викторович Гаврилов  
Григорий Юрьевич Ватолин  
Алина Александровна Крючкова

117485, Москва, ул. Бутлерова 5а,  
ИНД и НФ РАН; к.415  
Тел.: (495) 3348219;  
Факс: (499)7430056

E-mail: [sudak2011@gmail.com](mailto:sudak2011@gmail.com)  
Web site: <http://brainres.ru>

Рабочие языки – русский и английский

multidirectional behavior utilizing serotonin and noradrenaline as a substrate. It is determined that animals coming out of hibernation not only have activation of the noradrenergic brain system but also reciprocally connected with it suppression of the serotonergic brain system activity if we compare it to the winter season. In contrast, in preparation of animals for hibernation, we notice activation of serotonergic brain system, accompanied by suppression of the noradrenergic brain system if we compare it to the summer season. Specific effects of 5-HTP and L-DOPA on the exploratory activity of hibernators have evident sign of seasonal dependence. Secondary to the activation of the noradrenergic brain system, created by administration of the precursor substance to the noradrenaline synthesis, L-DOPA (Sigma, USA, 20 mg/kg, i/p, 30 minutes before the experiment) the evident signs of the exploratory activity level increase are noticed during spring phase of the annual cycle. The activation of the ground squirrels serotonergic brain system, created by the administration of the precursor substance serotonin synthesis, 5-HTP (Sigma, USA, 20 mg/kg) accompanied seasonally – related to the slowdown of the exploratory behavior, mostly noticed during the autumn phase of the annual cycle. Therefore, the specific effects from interference into the brain serotonin- and noradrenergic systems of hibernators - Yakutian ground squirrels (*Spermophilus undulatus*), and the nature of this impact onto the exploratory behavior during varies phases of the annual cycle determined by reciprocal character of the relationship of the monoaminergic brain systems.

### МЕХАНИЗМЫ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ МОЗГА КРЫС

Сергеев В.Г., Сергеева Т.Н.

ГОУ ВПО Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия, [cellbio@ya.ru](mailto:cellbio@ya.ru)

Нарушение метаболизма белков -синуклеина в дофаминергических нейронах компактной части черной субстанции мозга, инициирует цепь молекулярных событий, ведущих к гибели нейронов и развитию болезни Паркинсона. Поскольку этиология этого заболевания остается малоизученной, нами было предпринято исследование, посвященное экспериментальному обоснованию гипотезы о том, что дофаминергическая нейродегенерация является результатом гуморальной аутоиммунной реакции. В ее основе может лежать способность антигенпрезентирующих клеток усиливать синтез и презентацию -синуклеина в условиях антигенной стимуляции. Презентация лимфоцитам эндогенного макрофагального -синуклеина может индуцировать гуморальный иммунный ответ, способный нарушить метаболизм нейронального  $\alpha$ -синуклеина и активировать патофизиологический механизм хронического воспаления в области локализации дофаминергических нейронов.

Эксперименты проведены на 56 самцах белых крыс линии Вистар массой 250-300г., содержащихся в стандартных условиях, с соблюдением правил обращения с животными, установленных локальным этическим комитетом УдГУ. Проточная цитофлуорометрия лейкоцитарной взвеси, полученной из брыжеечных узлов крыс после интраперитонеального введения бактериального липополисахарида (ЛПС) продемонстрировала феномен достоверного повышения в этих условиях числа лимфоцитов и макрофагов с высокой экспрессией иммунореактивного  $\alpha$ -синуклеина по сравнению с контрольными животными. Растровая электронная микроскопия показала, что в культивируемой лейкоцитарной взвеси, при добавлении в среду ЛПС, значительно увеличивается число контактирующих с макрофагами лимфоцитов, что может свидетельствовать об усилении антигенпрезентирующей функции макрофагов. Активация бактериальным эндотоксином макрофагов, выделенных из интраперитонеального смыва, и перенос их обратно животному - хозяину, в 34% случаев вызывали достоверное увеличение концентрации в крови антител к  $\alpha$ -синуклеину (о чем судили по данным иммуноферментного анализа) с достижением пика на пятой неделе после клеточного переноса. Иммуногистохимическое исследование срезов мозга этих животных позволило обнаружить накопление иммунореактивного  $\alpha$ -синуклеина в виде цитоплазматических включений в  $9,4 \pm 3,2\%$  дофаминергических нейронах черной субстанции, а также наблюдать в микроглиоцитах этой области мозга экспрессию провоспалительного цитокина Ил-1 $\beta$ .

Таким образом, результаты экспериментального исследования свидетельствуют о ключевой роли иммунной системы в индукции нейровоспаления и нарушений метаболизма -синуклеина в дофаминергических нейронах черной субстанции мозга, что может лежать в основе развития паркинсоноподобных состояний.

### MECHANISMS OF LPS-INDUCED NEURODEGENERATIVE DISORDERS IN THE SUBSTANCE NIGRA OF RATS BRAIN.

Sergeev V. G, Sergeeva T.N.

Udmurt State University, Izhevsk, Russia, [cellbio@ya.ru](mailto:cellbio@ya.ru)

Disturbance of  $\alpha$ -synuclein metabolism in dopaminergic neurons of substance nigra initiates a chain of molecular events resulting to destruction of neurons and manifestation of Parkinson disease. Since the etiology of this disease remains unknown, we had been undertook the research devoted to an experimental investigation of a hypothesis that dopaminergic neurodegeneration is a consequence of the humoral autoimmune reaction. In its basis lies ability of antigenpresented cell to enhance synthesis and presentation of  $\alpha$ -synuclein in the conditions of an antigen challenge. The presentation of endogenous  $\alpha$ -synuclein to lymphocytes can induce the humoral immune reaction, capable to break a metabolism of neurons  $\alpha$ -synuclein and to activate the pathophysiological mechanism of a chronic inflammation in the area of dopaminergic neurones localization.

56 male Vistar rats (b. wt. 250-300g) were used in the present study. All animals were treated according to guidelines approved by a local ethical committee (Udmurt state university). Flow cytometry of leukocyte suspension received from mesenteric lymph node after intraperitoneal LPS injection has shown a rising of lymphocytes and macrophages number with a high expression of immunoreactive  $\alpha$ -synuclein in comparison with control animals. Scanning electron microscopy has shown that there was increasing of lymphocytes number contacting to macrophages in a leukocyte suspension cultivated with addition of LPS. It can testify to intensifying of macrophages antigen presented functions.

Transfection of LPS-stimulated macrophages from intraperitoneal washout to host animals induced growth antibodies to  $\alpha$ -synuclein in 34 % of cases (according to an enzyme immunoassay method) with peak achievement on the fifth week after cell transfection. Immunohistochemical study of brain sections of these animals has allowed to find accumulation of immunoreactive  $\alpha$ -synuclein in cytoplasmic inclusions of  $9,4 \pm 3,2$  % dopaminergic neurones of a substance nigra, and an expression of a IL-1  $\beta$  in microgliaocytes in these area.

Thus, results of our research testify to a key role of immune system in an induction of neuroinflammation and metabolism disturbances of  $\alpha$ -synuclein in substance nigra dopaminergic neurones that can underlie in development of parkinsonlike states.

### **ВОЗМОЖНОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕПАРАЦИИ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК.**

**Сергеев С.А.<sup>1</sup>, Храмова Ю.В.<sup>1</sup>, Кошелева Н.В.<sup>1,2</sup>, Сабурин И.Н.<sup>2</sup>, Семенова М.Л.<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>МГУ им. М.В.Ломоносова, <sup>2</sup>НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия  
[embryossa@gmail.com](mailto:embryossa@gmail.com)

Применение методов клеточных технологий позволило добиться существенного прогресса в лечении дефектов сетчаткой оболочки глаза. Уже разработаны протоколы, позволяющие обеспечить нейрональную дифференцировку трансплантированных клеток, адекватную новому микроокружению сетчатки. Однако вопросы функционального замещения утраченных нейронов сетчатки трансплантированными клетками остаются открытыми. Для доказательства возможности трансдифференцировки трансплантированных клеток стромы костного мозга с последующей функциональной интеграцией в нейрональные структуры сетчатки, в данной работе был применен метод органоטיפического культивирования, позволяющий детально охарактеризовать поведение клеток после трансплантации.

Культивирование сетчатки проводили в виде эксплантатов в среде DMEM/F12 с 20нг/мл FGF и EGF, 7% FCS, гепарином, добавками B12 и N2. Повреждение сетчатки вызывали лазером Zilos-tk (300мВ, 1000мс). Для трансплантации использовали EGFP+ клетки стромы костного мозга (ММСК) 4-го пассажа мышей линии C57BL/6-Tg(ACVB-EGFP)/Osb/J GFP+ в концентрации 1000-3000 клеток в 0,1мл среды. АСМ-изображения были получены на атомно-силовом микроскопе Solver BIO Olympus (НТ-МДТ, Россия, Зеленоград), с полем сканирования 100x100x7 мкм<sup>3</sup>. Анализ изображений был проведен в программах Nova (НТ-МДТ) и STATISTICA 8.0. Измерение реакции трансплантированных клеток на внешнее раздражение проводили с применением электростимулятора АСЛ-2 и потенциал-чувствительного красителя RH 795.

Методами атомно-силовой микроскопии показано достоверное отличие ( $p < 0,01$ ) в толщине отростков, формируемых глиальными и эндотелиальными компонентами сетчатки, и толщине отростков нейронов и трансплантированных ММСК, а также формирование синаптических расширений диаметром до  $2,5 \pm 0,06$ мкм введенными ММСК на 4-е сутки после трансплантации. При наложении импульсов мощностью 20В, 0,5Гц и длительностью 200мс наблюдалось отчетливое изменение деполяризации мембраны нейрональных клеток и их отростков, выселившихся за пределы эксплантата сетчатки. Наблюдения за трансплантированными EGFP+ ММСК при наложении стимуляции показали, что те ММСК, которые в процессе сокультивирования с нейрональной составляющей сетчатки изменили свою морфологию на нейроноподобную, в некоторых случаях отвечали деполяризацией мембраны на прилагаемое возбуждение. Таким образом, в популяции трансплантированных ММСК наблюдалась гетерогенность. Клетки, обладавшие способностью к активной миграции и формированию нейритоподобных отростков с синаптическими расширениями, как правило, деполяризовались при стимуляции. Крупные (>30мкм), практически неподвижные клетки, принимавшие в процессе культивирования фибробластоподобную морфологию, никак не реагировали на внешние стимулы. Но, вместе с этим, в культуре присутствовало значительное количество ММСК, изменивших свою морфологию, но не отвечавших на внешнее раздражение. Так как при исследовании распределения GFP+ ММСК и клеток сетчатки, меченных Dil, обе метки не регистрировались совместно, была отвергнута возможность приобретения нейронального фенотипа трансплантированными ММСК при слиянии введенных клеток с нейронами сетчатки, что позволяет сделать предположение о присутствии малой субпопуляции ММСК, способной к трансдифференцировке в клетки нейронального ряда.

*Работа выполнена при реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы.*

### **OPPORTUNITY OF FUNCTIONAL RETINA REPARATION AFTER STEM CELLS' TRANSPLANTATION**

**Sergeev S.A.<sup>1</sup>, Khramova Y.V.<sup>1</sup>, Kosheleva N.V.<sup>1,2</sup>, Saburina I.N.<sup>2</sup>, Semenova M.L.<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, <sup>2</sup>Institute of general pathology and pathophysiology RAMS, Moscow, Russia, [embryossa@gmail.com](mailto:embryossa@gmail.com)

Application of stem cell technologies in retina defects reparation therapies lead to beneficial results. Nowadays there are numerous protocols of neural differentiation induction of stem cells, but questions about functional replacement of lost retina neurons by transplanted cells are still opened. In this work the organotyping