

После удаления эндогенной пероксидазы и выдерживания в блокировочном растворе, который содержал 3% бычий сывороточный альбумин (BSA; Sigma, США) и 1% козий альбумин (GSA; Sigma, США), срезы инкубировали в растворе первичных антител, содержащих поликлональные rabbit-anti-CART (55-102) антитела (H-003-62, Phoenix Pharm., Incorp, Belmont, CA, США) при + 4°C в течение 48 часов. Потом срезы промывали и в течение двух часов инкубировали во вторичных goat-anti-rabbit антителах, конъюгированных с авидиновым комплексом (ABC-kit 689321, ICN Biomedicals Inc., США). После промывания срезов, их инкубировали со стрептавидин-пероксидазой (ABC-kit 689321, ICN Biomedicals Inc., США). Перед заключением под стекло, срезы промывали и инкубировали с раствором 3,3-диаминобензидинтетрагидрохлорида (DAB, Sigma, США) на фосфатно-солевом буфере. Контрольные срезы обрабатывали в указанной выше последовательности без использования первичных антител.

В дорсомедиальном ядре нейроны малого и среднего размера, экспрессирующие CART – пептид, располагаются равномерно на всей его территории, формируя сеть с умеренно выраженной иммунореактивностью. На фоне нежной сети хорошо выделяются группы крупных нейронов с угловатыми телами, содержащие большое количество иммунореактивного осадка, при этом он выявляется не только в телах нейронов, но и в отходящих от них толстых первичных дендритах. Крупные нейроны с позитивной иммунореактивностью располагаются на вентральном полюсе ядра и в его латеральных зонах. Локализация этих нейронов и их характерный вид позволяет на основании ранее проведенных исследований нейронной организации дорсомедиального ядра МК у крыс (Ахмадеев, Морфология, 2006, т.129) утверждать, что эти нейроны являются длинноаксонными редковетвистыми нейронами ретикулярного типа. На стадии метэструса сеть слабоокрашенных нейронов не выявляется, а в крупных нейронах CART – пептид определяется менее интенсивно. Количественное определение уровня экспрессии CART – пептида в нейронах дорсомедиального ядра показывает, что выраженность его экспрессии зависит от уровня половых стероидов - она в два раза выше на стадии эструса по сравнению со стадией метэструса.

Полученные результаты имеют научно-практическое значение. Во-первых, они свидетельствуют о вовлеченности дорсомедиального ядра МК в патогенез наркомании. Во-вторых, нарушения в функционировании этого ядра, участвующего в организации пищевого, полового и агрессивно-оборонительного поведения, на фоне приема наркотиков (кокаина, амфетамина и др.) могут приводить (и объяснить) к формированию отклонений в указанных формах поведения, что весьма характерно для клиники наркомании. В-

третьих, они указывают на возможность разработки новых эффективных методов лечения наркомании с использованием интраназального пути лекарственных веществ, т.к. дорсомедиальное ядро МК имеет прямые связи с обонятельными луковицами мозга.

Интраназальный путь может быть использован для введения в мозг отдельных генов при помощи вирусных векторов-носителей (Williams et al., Brain Res, 2005, 165). Данный подход позволяет осуществлять эффективную генную терапию, приводя к синтезу в отдельных областях мозга белков, недостаток которых вызвал патологию. Интраназальный путь введения новых генов в ЦНС является наиболее перспективным.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ МК-865.2008.4

ЭНДОГЕННЫЕ КАННАБИНОИДЫ БЛОКИРУЮТ ЭПИЛЕПТИЧЕСКИЙ СТАТУС В СЕПТО-ГИППОКАМПАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ

Кичигина В.Ф.

*Институт теоретической и экспериментальной
биофизики РАН.
Пуццо, Россия*

Исследование механизмов височной эпилепсии (ВЭ), наиболее трудноизлечимой формы судорожных расстройств, в основном сфокусировано на изучении различных изменений в гиппокампе и энторинальной коре, – основных структурах, поражающихся при ВЭ. Однако, несмотря на значительные успехи в этом направлении, результаты таких исследований пока не привели к созданию средств, надежно защищающих от судорожных приступов. Особенно опасными остаются генерализованные конвульсии (эпилептический статус), ассоциируемые с тяжелым состоянием и смертностью. Для блокады эпилептического статуса используются бензодиазепины, в частности, диазепам и пентобарбитал; однако, как минимум 1/3 пациентов рефрактерны к применению этих препаратов. Этот факт указывает на необходимость поиска новых подходов для терапии ВЭ.

Одним из возможных путей управления судорожной активностью является использование воздействий на эндоканнабиноидную систему мозга (ЭК), представляющую собой часть комплексной системы естественных саморегуляторных процессов в центральной нервной системе. ЭК обеспечивают репарацию и выживание клеток [обзор Ullrich et al., 2006]; однако терапевтический потенциал эндоканнабиноидной системы практически не исследован. В частности, совершенно недостаточно изучена роль ЭК в регуляции судорожной активности в различных структурах мозга.

Перспективным способом влияний на ЭК механизмы для модуляции судорожной активности в височных структурах мозга может быть воздействие на септо-гиппокампальную систему, которая составляет часть эндоканнабиноидной системы мозга. В то время как функционирование ЭК системы в гиппокампе в последние годы активно изучается [обзор Freund et al., 2003], ЭК механизмы в септуме совершенно не исследованы. Имеющиеся в литературе морфологические и электрофизиологические данные свидетельствуют о том, что степень возбуждения гиппокампальных клеток находится под постоянным контролем холинергических нейронов медиальной септальной области (МС), проецирующихся к гиппокампу. На терминалях холинергических клеток МС находятся каннабиноидные рецепторы (CB1), регулирующие выделение ацетилхолина; возможно, что воздействуя на эти рецепторы, можно контролировать возбудимость гиппокампальных нейронов.

Целью работы было выяснение роли ЭК в контроле эпилептического статуса у бодрствующих животных, при регистрации электрической активности в септо-гиппокампальной системе.

Эксперименты проведены на бодрствующих морских свинках ($n=5$). Во время предварительной хирургической операции над гиппокампом и боковыми желудочками мозга устанавливали канюли, через которые во время опытов вводили бикакуллин (2.5 нМ), пентобарбитал (25 мМ) и агонист CB1 рецепторов метанандамид (1.5 мМ). В гиппокамп и медиальную септальную область вживляли монополярные регистрирующие электроды, посредством которых регистрировали суммарную полевую активность (ЭЭГ) во время экспериментов.

Введение в гиппокамп бикакуллина вызывало эпилептический статус в поведении животных и характерные эпилептические разряды в активности обеих структур (модель ВЭ). Введение в гиппокамп метанандамида за 3-5 мин до инъекции бикакуллина значительно снижало интенсивность судорог. Предварительное (за 3-10 мин) введение метанандамида в боковые желудочки мозга в подавляющем большинстве случаев блокировало эпилептический статус в поведении и судорожные разряды в активности септо-гиппокампальной системы. Необходимо отметить, что эффекты метанандамида были более выраженными, чем таковые пентобарбитала, который лишь частично снижал тяжесть эпилептического статуса.

Таким образом, впервые на бодрствующих животных в модели ВЭ продемонстрировано, что агонист ЭК оказывает выраженное антиэпилептическое действие. Данная работа подтверждает результаты, полученные ранее на переживающих срезах гиппокампа [Ameri, Simmet, 2000; Ameri et al., 1999] и на культуре гиппокампальных нейронов [Deshpande et al., 2007]. Одна-

ко представленные данные, полученные на целом мозге, в значительно большей мере позволяют оценить терапевтический эффект ЭК. Кроме этого, нами впервые показано, что в протекторный эффект ЭК существенный вклад вносит септальный вход в гиппокамп.

Полученные результаты могут помочь в разработке новых препаратов для лечения ВЭ.

Работа поддержана грантом Российскойского фонда фундаментальных исследований (№ 06-04-48637)

ВОЗМОЖНОСТИ КОНСТРУКТИВНЫХ РЕШЕНИЙ ПРОБЛЕМЫ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

Новожилов А.А.

Сибирский государственный технологический университет

Вопросы актуальности переработки промышленных и бытовых отходов в общемировом глобальном или хотя бы региональном масштабах поднимаются в связи с угрозами экологической катастрофы. Последняя, как бомба замедленного действия, накапливает поражающий потенциал постепенно, не так заметно для большинства обывателей и промышленных магнатов. Тем не менее, последствия будут необратимы, как заявляют ученые. Поэтому необходимо именно перерабатывать, то есть возвращать вещества и материалы в производственную сферу, а не заниматься полигонным захоронением, сжиганием, затрачивая ценное топливо. Последние мероприятия, как виды борьбы с отходами, показали на примерах Европы, США, и некоторых развитых стран, свою неэффективность, экономически невыгодные и затратные вложения, экологический и природно-симбиотический временной резонанс. В то же время необходимо подходить к вопросу комплексно, системно, учитывая смежные области проявления человеческой деятельности.

Так существуют проблемы нормативно-правительственного, общеорганизационного, технико-экономического, культурно-сознательного характеров, которые должны решаться в тех странах или регионах, в которых вопрос переработки только встает в связи с накоплением отходов.

Реализация комплексного решения проблемы рециклинга отходов должна проводиться, как показывает практика, начиная с государственной инициативы.

Государственными нормативами, законодательными актами, госрегулированием необходимо обеспечить управление потоками вторсырья, поддержание перерабатывающих предприятий, служащих и населения, занятых в переработке отходов города и населенных пунктов, а также организацию поощрительных мер в отно-