

L-ГЛУТАМАТДЕКАРБОКСИЛАЗА И ГАММА-АМИНОМАСЛЯНАЯ КИСЛОТА В МИОЦИТАХ И ЗРЕЛЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКНАХ КРЫСЫ: ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Сибгатуллина Гузель Валерьевна, Мухитов Александр Ринатович,
Маломуж Артем Иванович

Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, kam-guz@yandex.ru

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) – соединение, которое принято рассматривать в качестве основного тормозного медиатора в синапсах ЦНС, где оно играет ключевую роль в процессах развития, созревания и функционирования зрелого мозга. Однако, в ряде исследований были получены данные, свидетельствующие о том, что ГАМК способна играть сигнальную функцию и в периферической нервной системе и, в частности, в нервно-мышечном контакте. Так, у не иннервированных миоцитов выявлены ГАМКА рецепторы (Borodinsky and Spitzer, 2007), тогда как в области зрелого нервно-мышечного контакта показано наличие L-глутаматдекарбоксилазы (GAD; основного фермента для синтеза ГАМК), обнаружены собственно молекулы ГАМК (Nurullin et al., 2018), а также ГАМКБ рецепторы (Malomouzh et al., 2015). Встал вопрос о том, в каком именно компартменте периферического синапса (в нервном окончании или в мышечном волокне) локализуется фермент и происходит синтез молекул ГАМК?

Эксперименты проводили на культуре миоцитов, выделенных из икроножной мышцы 3-х дневных крыс и на мышечных волокнах половозрелых животных с использованием методов иммуноцитохимии.

В миоцитах на вторые сутки была обнаружена яркая иммуноположительная реакция с антителами к ГАМК. На 6-е сутки выраженность иммуноположительной реакции в миоцитах снижалась. В зрелых мышечных волокнах иммунореактивность к ГАМК отсутствовала вовсе. Специфичность окрашивания была подтверждена контрольными экспериментами, в которых либо опускали этап добавления первичных антител, либо эти антитела заранее инкубировали в растворе с 50 мМ ГАМК. Во всех контрольных случаях иммунопозитивной реакции не наблюдалось. Далее, в экспериментах с антителами к GAD, ни в одном случае (ни в двух-, ни в шестидневной культуре, ни в зрелых мышечных волокнах) какой-либо иммуноположительной реакции обнаружено не было.

Таким образом, было установлено, что мышечные клетки способны синтезировать ГАМК, однако, это имеет место лишь на раннем этапе развития и, судя по всему, синтез происходит за счет активности не GAD, а других, альтернативных ферментов (Tillakaratne et al., 1995). В зрелом же скелетном мышечном волокне ни молекул ГАМК, ни фермента GAD не наблюдается. Следовательно, синтез ГАМК в периферическом синапсе

происходит в нервном окончании и /или в глиальной клетке, но не в мышечном волокне.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 17-15-01279.

КАРТИРОВАНИЕ БОЧОНКОВОЙ КОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАФИИ

Синцов Михаил Юрьевич

Лаборатория нейробиологии развития, КФУ, Казань, Россия,

mjsincov@kpfu.ru

Неинвазивное картирование коры мозга млекопитающих в раннем онтогенезе является актуальной задачей биологии развития. Общепринятые решения на основе регистрации внутренних оптических сигналов (ВОС) или функциональной магнитной-резонансной томографии неэффективны на тех этапах, когда нейроваскулярная связь развита слабо для формирования острого гемодинамического ответа. Ранее было показано, что в бочонковой коре крыс зарегистрировать ВОС возможно только с постнатального возраста P4 (P0 - рождение крысы). Тем не менее, электрическая активность в бочонковой коре крыс достоверно наблюдается уже с рождения. Неонатальная активность проявляется в виде дельта-волн, веретенообразных всплесков и гамма-осцилляций с пространственной локализацией в IV слое коры. В данной работе показано, что картирование коры новорожденных крыс осуществимо на основе такого слабо инвазивного электрофизиологического метода, как электрокортикография (ЭКоГ). Для этого был изготовлен пленочный 16-канальный электрод на полиимидной основе общей площадью 2 мм². Для регистрации активности электрод был размещен эпидурально на бочонковую кору новорожденных крыс возрастом P0-P7. Активность в бочонках была вызвана отклонением отдельных вибрисс. Было показано, что с помощью ЭКоГ возможна регистрация неонатальной активности крыс вплоть до гамма-осцилляций уже с возраста P1. Также показано, что на основе сигнала ЭКоГ возможно локализовать отдельные кортикальные колонки в бочонковой коре новорожденный крыс. К тому же, благодаря оптической прозрачности электрода, показана потенциальная возможность мультимодальной регистрации ВОС и ЭКоГ у крыс, начиная с P4. Учитывая широкое распространение технологий изготовления пленочных электродов, мы предлагаем рутинное использование электрокортикографии при картировании мозга в раннем онтогенезе.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.