

УДК 577.2+616.8-092+612.821(082)

## Кооперативные эффекты экспрессии генов-регуляторов апоптоза при формировании пространственной памяти

Грудень М.А.<sup>1</sup>, Ратмиров А.М.<sup>1</sup>, Сторожева З.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 119034, Москва, Кропоткинский пер., д. 23

**Целью** данного исследования явилось сравнительное изучение особенностей одновременной экспрессии генов апоптоза *Bax*, *Dffb* и *Casp-3*, *Casp-8*, *Casp-9* в гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке в условиях контрольного приключения плавания и при обучении пространственному навыку в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс Вистар.

**Методы.** Для выработки долговременной пространственной памяти в работе использовали поведенческую модель водного лабиринта Морриса. Генетические исследования проведены на релевантных структурах мозга – гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке крыс со сформированной пространственной памятью. Изучали экспрессию генов *Bax*, *Dffb* и *Casp-3*, *Casp-8* и *Casp-9* методом ПЦР в режиме реального времени в данных церебральных структурах животных.

**Результаты исследования.** Обнаружено, что физическая нагрузка и стресс подавляют активность генов-регуляторов апоптоза в гиппокампе (по сравнению с интактными животными). В двух других структурах мозга (в префронтальной коре и мозжечке) отмечается активация гена *Casp-3*, что может скорее указывать на участие фермента *Casp-3* в нейропластических клеточных перестройках, чем в апоптотических реакциях, при подавлении экспрессии других изучаемых генов – *Bax*, *Dffb*, *Casp-8* и *Casp-9*. У животных, обученных навигационному навыку при формировании гиппокамп-зависимой пространственной памяти, отмечается активация генов *Casp-9*, *Casp-3* и *Bax* в гиппокампе (по сравнению с активным контролем – «пассивное плавание»). В префронтальной коре мозга у обученных животных отмечается выраженное увеличение экспрессии всех изучаемых генов-регуляторов апоптоза. Мозжечок у крыс с сформированной пространственной памятью манифестировал значительную активацию генов *Casp-9*, *Bax* и *Dffb*.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о кооперативных эффектах экспрессии генов-регуляторов апоптоза в мозге животных, у которых сформировалась гиппокамп-зависимая пространственная память в водном лабиринте Морриса.

**Ключевые слова:** пространственная память; апоптоз; экспрессия генов; гиппокамп; префронтальная кора; мозжечок; крысы Вистар.

**Для цитирования:** Ратмиров А.М., Грудень М.А., Сторожева З.И. Корпоративные эффекты экспрессии генов-регуляторов нейрогенеза при формировании пространственной памяти. *Патогенез*. 2020; 18(3): 38-44

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2020.03.38-44

**Для корреспонденции:** Грудень Марина Алексеевна, e-mail: mgruden@mail.ru

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Работа выполнена в рамках госзадания ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина».

**Поступила:** 12.05.2020

## Cooperative effects of expression of apoptosis-regulating genes in formation of spatial memory

Gruden M.A.<sup>1</sup>, Ratmirov A.M.<sup>1</sup>, Storozheva Z.I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> V.P. Serbsky Research Centre for Psychiatry and Narcology, Kropotkinsky Pereulok 23, Moscow 119034, Russian Federation

**The aim** of this study was to compare features of simultaneous expression of apoptosis genes, *Bax*, *Dffb*, and *Casp-3*, *Casp-8*, and *Casp-9*, in the hippocampus, prefrontal cortex, and cerebellum under the conditions of forced swimming (control) and during Morris water maze training for spatial skills in adult Wistar rats.

**Methods.** To develop long-term spatial memory, the behavioral model of Morris water maze was used. Genetic studies were performed on the relevant brain structures, the hippocampus, prefrontal cortex, and cerebellum, of rats with formed spatial memory. The expression of *Bax*, *Dffb* and *Casp-3*, *Casp-8*, and *Casp-9* genes was measured with real-time PCR in these cerebral structures.

**Results.** Physical activity and stress were found to exert a suppressive effect on the apoptosis-regulating genes in the hippocampus as compared to control animals. In the prefrontal cortex and cerebellum, the *Casp-3* gene was activated, which

may indicate participation of the *Casp-3* enzyme in neuroplasticity of cell rearrangements rather than in apoptotic reactions upon suppressed expression of the other studied genes, *Bax*, *Dffb*, *Casp-8*, and *Casp-9*. In animals trained for the navigation skill, the formation of hippocampus-dependent spatial memory was associated with activation of the *Casp-9*, *Casp-3*, and *Bax* genes in the hippocampus compared to the "passive swimming" control. In the prefrontal cortex of trained animals, a pronounced increase in the expression of all apoptosis-regulating genes was noted. The cerebellum of rats with formed spatial memory showed a significant activation of the *Casp-9*, *Bax*, and *Dffb* genes.

**Conclusion.** The study showed cooperative effects of the expression of apoptosis-regulating genes in the brain of animals with the hippocampus-dependent spatial memory formed in the Morris water maze.

**Key words:** spatial memory; apoptosis; gene expression; hippocampus; prefrontal cortex; cerebellum; Wistar rats.

**For citation:** Gruden M.A., Ratmirov A.M., Storozheva Z.I. [Cooperative effects of expression of apoptosis-regulating genes in formation of spatial memory]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020; 18(4): 38-44 (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2020.03.38-44

**For correspondence:** Gruden' Marina Alekseeva, e-mail: mgruden@mail.ru

**Funding.** The study was performed as a part of the Government Assignment of the P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received:** 12.05.2020

## Введение

Изучение молекулярных процессов, лежащих в основе организации долговременной пространственной памяти и её нарушений, например, при болезни Альцгеймера, является одной из актуальных проблем современной медицины и нейробиологии [1]. В спектре интегративной деятельности мозга память является одним из важнейших фундаментальных процессов, в котором одним из интегральных составляющих наряду с нейрогенезом является нейроапоптоз — программная гибель нервных клеток [2]. В последнее время подчеркивается значимость изучения влияния генетических факторов и генетической регуляции процессов нейроапоптоза при выработке различных форм памяти [3]. В данном аспекте большинство современных экспериментальных работ по обучению и формированию памяти, в частности, пространственной памяти, в основном посвящены исследованиям экспрессии ранних генов [4], или, как в случае генов-регуляторов апоптоза, лишь в одной из релевантных билатеральных церебральных структур — гиппокампе [5, 6].

Установлено, что в одной из областей гиппокампа, а именно, зубчатой извилине, у млекопитающих постоянно и активно протекает нейрогенез, а избыток вновь образованных клеток или их невостробованность регулируется с помощью апоптоза [7]. В настоящее время выделены три фазы апоптоза: инициаторная (индукция), эффекторная, и процесс деградации. За реализацию эффекторной фазы апоптоза, в частности, в нейроне, ответственны каспазы — протеолитические ферменты, относящиеся к семейству цистеиновых протеаз, расщепляющих белки исключительно после аспарагиновой аминокислоты. Следует отметить, что протеолитические каспазы, расщепляя как ядерные, так и цитоплазматические белковые структуры нейрона, участвуют не только в эффекторной стадии апоптоза, но и в фазе деградации, выступая в качестве основного повреждающего фактора в этом процессе.

Ранее проведенные нами исследования выявили, что выработка долговременной пространственной па-

мяти сопровождается структурно-дифференциальной активацией в мозге взрослых крыс Вистар экспрессии гена-регулятора апоптоза *Casp-3*. При формировании пространственной памяти в водном лабиринте Морриса была выявлена межструктурная корреляция в экспрессии гена *Casp-3* между префронтальной корой мозга и мозжечком [8]. Кроме того, изучена сочетанная активность генов *Casp-8*, *Notch2*, и *Numb*, функциональные белковые продукты которых вовлечены в механизмы как Notch сигнальной трансдукции, так и нейрогенеза / нейроапоптоза, что указывает на функциональное сопряжение этих молекулярных процессов. Установлено, что, экспрессия гена *Casp-8* также преобладала в префронтальной коре при обучении пространственному навыку, что может служить отражением запущенного апоптоза в данной церебральной структуре [9].

Наряду с каспазным каскадом в передаче апоптотического сигнала принимают участие белковые продукты генов *Bax* и *Dffb*. Ген *Bax* является про-апоптотическим представителем генов *Bcl-2* семейства. Белковый продукт *Bax* (*Bcl-2* associated protein X) через образование апоптотических пор на мембране индуцирует прохождение апоптотического сигнала внутрь клетки. Показано, что, как и в случае гена *Casp-3*, экспрессионный уровень гена *Bax* тесно сопряжен с Notch сигнальным путем [5]. Модуляция активности другого изучаемого в данной работе гена *Dffb*, продукт которого белок *Dffb* (DNA fragmentation factor subunit beta) принимает участия в фрагментации ДНК, приводит к реализации одной из конечных стадий программируемой гибели нервных клеток, например, как это происходит при болезни Альцгеймера [10].

Несмотря на приведенные данные, пространственно-временная картина апоптоза в релевантных структурах мозга, связанная с генетической регуляцией отдельных его стадий по активности генетических факторов контроля транскрипции и за счет одновременного изменения экспрессии генов-регуляторов апоптоза нервных клеток при формировании долговременной пространственной памяти исследована недостаточно.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение особенностей одновременной экспрессии генов апоптоза *Bax*, *Dffb* и *Casp-3* *Casp-8* *Casp-9* в гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке в условиях контрольного принудительного плавания и при обучении пространственному навыку в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс.

## Материалы и методы исследования

В работе были выполнены эксперименты на крысах-самцах Вистар ( $n = 36$ ), 3-месячного возраста, массой тела  $250,0 \pm 14,7$  г. Животные содержались в стандартных условиях при 12-часовом световом режиме и свободном доступе к пище и воде. Все манипуляции с животными были проведены с соблюдением требований, изложенных в директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г., а также в соответствии с правилами, утвержденными комиссией по биоэтике ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина».

При исследовании крысы были разделены на 3 группы: 1 – интактные животные ( $n = 12$ ), 2 – группа «активного контроля»: «принудительное плавание» без платформы ( $n = 12$ ), 3 – «обученные» в водном лабиринте животные ( $n = 12$ ).

Поведенческие эксперименты на животных были проведены с использованием пространственного водного лабиринта Морриса (Columbus Instruments, USA) по протоколу, описанному ранее [8]. Экспериментальный протокол был составлен таким образом, что каждому обучавшемуся животному по времени и паттерну плавания соответствовала одна «контрольная» особь. Водный лабиринт Морриса представляет собой бассейн, окрашенный в светло серый цвет, круглой формы (140 см в диаметре, с высотой бортиков 40 см), который заполняли до высоты 60 см водой ( $22,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ), добавляя обезжиренное сухое молоко.

Поведение животных фиксировали с помощью автоматизированной системы видеонаблюдения (EthoVision System, Noldus Information Technology, Netherlands). Во время обучения платформу диаметром в 11 см располагали на 1 см ниже уровня воды всегда в одном и том же месте водного лабиринта. Визуальные ориентиры (изображения, конструкции) были расположены вне установки водного лабиринта. Каждому животному в течение 4-х последовательных дней предоставляли 4 попытки поиска скрытой платформы, каждый раз помещая животное в разные сектора водного бассейна при длительности одной попытки в 60 с. В случае нахождения платформы животное могло находиться на ней в течение 30 с. Интервал между обучающими попытками составлял 5 мин. В дни эксперимента индивидуальное обучение пространственному навыку оценивали по уменьшению латентного времени достижения платформы животным. На 5-е сутки эксперимента платформу убрали из водного бассейна и проводили сессию

тестирования с регистрацией у крыс время достижения целевого сектора, где находилась платформа, при этом, животное помещали в удаленный от «целевого» сектор и в течение 60 с тестировали время достижения животным места, где ранее находилась платформа.

Через 24 часа по окончании поведенческих экспериментов всех крыс декапитировали и извлекали на холоду ( $+4^\circ\text{C}$ ) следующие структуры мозга: гиппокамп, префронтальную кору и мозжечок, которые использовали для изучения экспрессии генов *Bax*, *Dffb* и *Casp-3* *Casp-8* и *Casp-9* методом ПЦР в режиме реального времени по описанному ранее протоколу [9], применяя в качестве референсного ген  $\beta$ -актина для последующего расчёта относительно уровня экспрессии изучаемых генов по методу  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  [11]. Уровень экспрессии генов *Bax*, *Dffb*, *Casp-3* *Casp-8* и *Casp-9* во 2-й и 3-й группах был подсчитан относительно данных их экспрессии у интактных животных 1-й гр. На рис. 2 экспрессия изучаемых генов *Bax*, *Dffb*, *Casp-3*, *Casp-8* и *Casp-9* у «обученных» животных представлена в % от таковой у животных из группы «активный контроль».

Статистическую обработку полученных результатов проводили по алгоритмам программы «Statistica 7,0». При оценке динамики обучения использовали парный критерий Вилкоксона, при сравнении нескольких независимых выборок применяли однофакторный непараметрический дисперсионный анализ по методу Крускалла-Уолиса ( $H$ -критерий) с последующим post-hoc анализом по  $U$ -критерию Манна-Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным величине 0,05.

## Результаты исследования и обсуждение

Для выполнения задач данной работы по обучению крыс навигационному навыку и изучению экспрессии генов *Bax*, *Dffb*, *Casp-3*, *Casp-8* и *Casp-9* в церебральных структурах, на начальном этапе исследования были проведены поведенческие эксперименты по выработке долговременной пространственной памяти в водном лабиринте Морриса (рис.1). Анализ средних значений для 2-го, 3-го и 4-го сеансов обучения в сравнении с 1-м сеансом помещения в водный бассейн в каждый конкретный день выявил статистически значимое снижение данного показателя в динамике всех экспериментальных дней. Сравнение и анализ группового времени достижения платформы животными в водном лабиринте Морриса показали следующие существенные отличия: во 2-й и 4-й дни время достижения платформы для первых испытаний значительно отличались от первых сеансов в дни 1-й и 3-й, соответственно ( $p < 0,05$ ). Документировано, что общие показатели для всех временных испытаний в дни 2, 3 и 4 значительно отличались от таковых в предыдущие дни, соответственно ( $p < 0,05$ ). Так как время достижения платформы в конце 4-го сеанса на 4-й день обучения составляло менее 10 с, это указывало на установ-

ление стабильной долговременной пространственной памяти у экспериментальных животных – в отличие от крыс из группы «активного контроля», подвергшихся принудительному плаванию в бассейне (рис. 1).

По окончании поведенческих экспериментов были проведены молекулярно-генетические исследования экспрессии генов *Bax*, *Dffb* и *Casp-3*, *Casp-8* и *Casp-9* в гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке. В исследованиях транскрипционной активности изучаемых генов были обнаружены следующие закономерности.

Проведенные в работе эксперименты показали, что у животных, которых подвергли физической нагрузке и стрессу в водном лабиринте Морриса (группа «активный контроль») в гиппокампе наблюдали снижение активности большинства изучаемых генов: *Bax* – на 99,5% ( $p < 0,01$ ), *Dffb* – на 98,2% ( $p < 0,01$ ), *Casp-8* – на 62,0% ( $p < 0,05$ ), *Casp-9* – на 98,4% ( $p < 0,01$ ). Кроме гена *Casp-3*, для которого оказалось характерным повышение активации в 26,2 раза. ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными крысами, пребывавшими в домашних клетках.

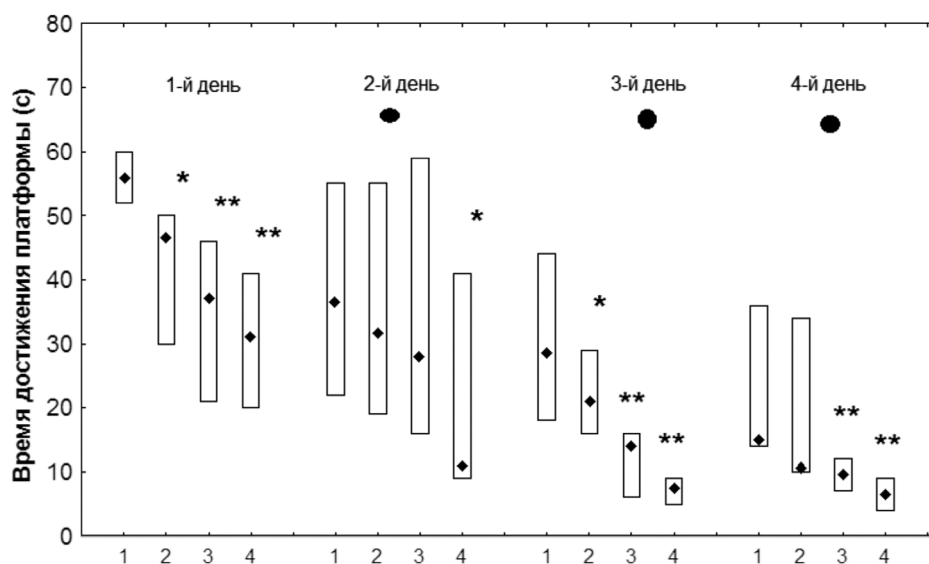
При этом в префронтальной коре мозга при принудительной физической нагрузке и стрессе также синхронно наблюдали подавление активности генов *Bax* (на 80,8%,  $p < 0,05$ ), *Dffb* (на 97,0%,  $p < 0,01$ ), *Casp-8* (на 95,8%,  $p < 0,01$ ) и *Casp-9* (86,0%,  $p < 0,05$ ) по сравнению с их эндогенной экспрессией у интактных животных. В данных экспериментальных условиях, аналогично с гиппокампом в случае гена *Casp-3*, в префронтальной коре мозга выявлена его активация (на 355%,  $p < 0,01$ ) по сравнению с интактными животными.

В мозжечке отмечается следующая реакция генома на принудительное плавание: генетические компонен-

ты каспазного каскада *Casp-8* и *Casp-9* манифестировали подавление своей эндогенной активности (на 73%,  $p < 0,05$ , и на 98,5%,  $p < 0,05$ , соответственно), в отличие от гена *Casp-3*, который был активирован (на 321%,  $p < 0,01$ ). В случае двух других генов *Bax* и *Dffb* физическая нагрузка и стресс приводили к снижению их активности по сравнению с интактным контролем (на 97,7%,  $p < 0,01$ , и 96,3%,  $p < 0,01$ , соответственно).

Таким образом, полученные данные указывают на то, что физическая нагрузка и стресс оказывают подавляющее влияние на экспрессию генов-регуляторов апоптоза в гиппокампе при формировании гиппокамп-зависимой пространственной памяти. В двух других структурах отмечается факт активации гена *Casp-3*, что может скорее указывать на участие фермента *Casp-3* в нейропластических клеточных перестройках, чем в апоптотических реакциях в префронтальной коре и мозжечке при подавлении экспрессии других изучаемых генов *Bax*, *Dffb*, *Casp-8* и *Casp-9* [12, 13].

В условиях данного экспериментального протокола парное сравнение крыс опытной группы с активным контролем мы посчитали нецелесообразным, так как это всё-таки разные животные, сопоставимые только по уровню стресса и физической нагрузки, но не по способности к обучению и базовому уровню экспрессии генов. При анализе усреднённых данных (рис. 2) обнаружено, что формирование пространственной памяти приводило к смене вектора экспрессии всех апоптотических генов в гиппокампе. Эта структура действительно является одним из основных центров формирования памяти, в частности, одной из её форм – гиппокамп-зависимой пространственной памяти



**Рис 1.** Формирование долговременной пространственной памяти у половозрелых крыс Вистар в водном лабиринте Морриса. Представлены значения медиан, а также верхнего и нижнего квартилей. По оси абсцисс – номер пробы, по оси ординат – время достижения платформы (с). Обозначения статистической значимости: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с первой пробой соответствующего дня; ● – статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение среднего значения по всем пробам относительно аналогичного показателя предыдущего дня.

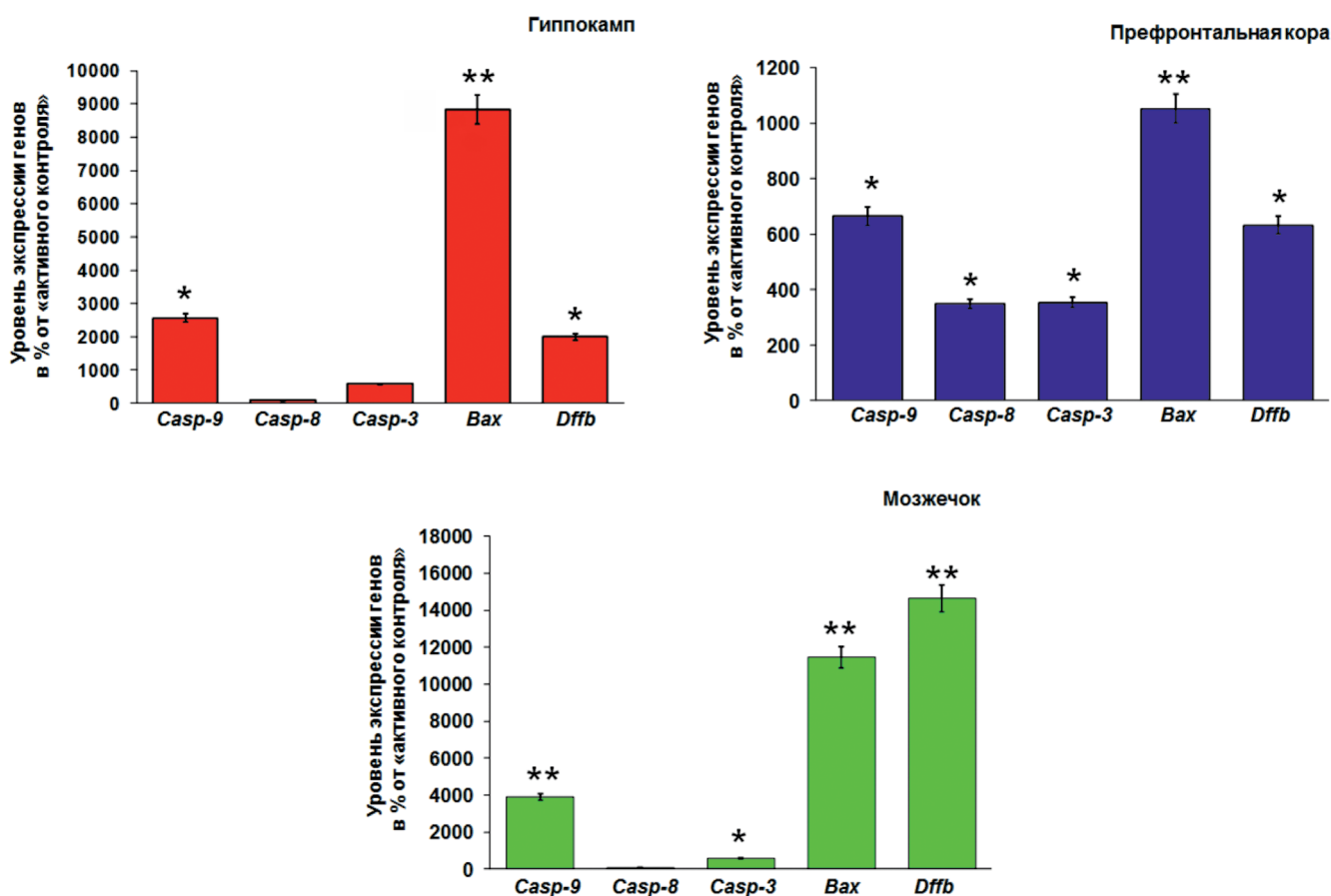
[14]. В гиппокампе памятная информация задерживается не очень надолго – это ее кратковременное хранилище.

Далее происходит так называемый этап «консолидации» памяти, превращение её из кратковременной в долговременную; при этом информация переходит из гиппокампа в нейронные сети других зон мозга, в частности в префронтальную кору и мозжечок [15]. Отмечается значительная активация гена *Casp-9* ( $p < 0,01$ ), продукт которого белок *Casp-9* – инициаторный фермент каспазного каскада [16]. Известно, что апоптотический сигнал внутри клеток передается с инициаторных на эффекторные каспазы [17]. Документировано, что сигнал с *Casp-9* передается *Casp-3*, поэтому особый интерес в экспериментальной парадигме данного исследования привлекают данные по изменению экспрессии гена *Casp-3* в церебральных областях при формировании долговременной пространственной памяти. Обнаружено, что обучение навигационному навыку приводит к дальнейшей активации гена *Casp-3* ( $p < 0,05$ ) по сравнению с стадией «принудительного плавания», а также сохранению активности гена *Casp-8*

в гиппокампе, что еще раз подтверждает участие апоптоза как клеточного механизма обучения и памяти при овладении сложным навыком и его запоминанию.

Другим доказательством данного положения может служить выраженное повышение экспрессии генов *Bax* ( $p < 0,01$ ) и *Dffb* ( $p < 0,05$ ) в гиппокампе. Усиление активности гена *Dffb* в клетках гиппокампа свидетельствует, вероятно, о прохождении апоптотического сигнала до терминальной его стадии – специфической фрагментации ДНК.

При формировании долговременной пространственной памяти гиппокампальная система запоминания передает свой памятный сигнал корковым структурам. Это отражается на функциональном состоянии генетической регуляции апоптотического процесса в изучаемых в данной работе релевантных структурах мозга. Так, в данном исследовании в префронтальной коре мозга была обнаружена специфическая активация (с более низкой модальностью по сравнению с гиппокампом) всех изучаемых апоптотических генов (рис. 2). В префронтальной коре мозга однонаправленная активация генов кодирующих все три каспазы, в от-



**Рис. 2.** Уровень экспрессии генов-регуляторов апоптоза в структурах головного мозга при формировании пространственной памяти у крыс Вистар. По оси абсцисс – наименование генов-регуляторов апоптоза, по оси ординат – уровень экспрессии данных генов у обученных крыс Вистар в % от «активного контроля». Обозначения статистической значимости: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с уровнем экспрессии генов-регуляторов апоптоза у «активного контроля» (пассивно плавающих крыс).

личии от гиппокампа, где экспрессия генов *Casp-3* и *Casp-8* является индикаторной и близка к эндогенной, может свидетельствовать об инициации и пролонгации стадий апоптоза в клетках данной церебральной структуры при развитии долговременной памяти. Обращает на себя внимание выраженная экспрессия гена *Bax* ( $p < 0,01$ ), что может указывать на усиление прохождения апоптотического сигнала в префронтальной коре при формировании долговременной памяти. На это указывает тот факт, что *Bax* – белковый продукт данного гена – образует гетеродимер с белком *Bcl2* и действует как активатор апоптоза. Связь их и соотношение *Bax* к *Bcl2* также определяет выживание или гибель клетки после апоптотического стимула. В данном экспериментальном случае речь, в большей степени, может идти о прохождении апоптотического сигнала до клеточного ядра, что подтверждается усилением экспрессии гена *Dffb* ( $p < 0,05$ ), транскрипт которого участвует в специфической фрагментации ДНК.

Ранее было показано участие мозжечка не только в обеспечении двигательной активности, но и процессах формирования гиппокамп-зависимой памяти [9]. В данном исследовании обнаружен специфический паттерн экспрессии генов-регуляторов апоптоза в мозжечке, несколько отличающийся от гиппокампа и префронтальной коры. Однако при организации долговременной пространственной памяти в мозжечке выявлено сходное с гиппокампом увеличение экспрессии гена *Casp-9*, что, как и в случае гиппокампа, свидетельствует о поступлении апоптотического сигнала на реализацию каспазным каскадом [18]. Документировано, что в мозжечке экспрессия генов двух других эффекторных каспаз оставалась на уровне выявляемой экспрессии при «принудительном плавании». В сочетании со значительной активацией экспрессии генов *Bax* и *Dffb*, что указывает нахождение сигнала в ядро при выработке и сохранении навигационного навыка в водном лабиринте Морриса, можно предположить волновую реактивацию апоптотического сигнального пути в клетках мозжечка с повторным усилением экспрессии гена *Casp-9*. Выявленная генетическая молекулярно-структурная конфигурация важна для создания новых нейронных схем для консолидации и реконсолидации следа пространственной памяти с участием связанных процессов апоптоза или нейронной пластичности [19].

### Заключение

Полученные результаты расширяют и углубляют современные представления о молекулярно-клеточных механизмах когнитивных функций. Кроме того, эти данные позволяют приблизиться к пониманию патогенеза заболеваний нервной системы, обусловленных нарушениями генетической регуляции, в частности, активности генов-регуляторов апоптоза, а также могут быть использованы при разработке новых ме-

тодов диагностики, прогноза и лечения заболеваний, сопровождающихся дефицитом памяти.

### Список литературы

1. Haubrich J., Bernabo M., Baker A.G., Nader K. Impairments to Consolidation, Reconsolidation, and Long-Term Memory Maintenance Lead to Memory Erasure. *Annu. Rev. Neurosci.* 2020; 43: 297-314. DOI: 10.1146/annurev-neuro-091319-024636
2. Lyu D., Tang N., Womack A.W., He Y.J., Lin Q. Neonatal ketamine exposure-induced hippocampal neuroapoptosis in the developing brain impairs adult spatial learning ability. *Neural. Regen. Res.* 2020. 15(5): 880-886. DOI: 10.4103/1673-5374.268929
3. Ma L., Chen X., Zhao B., Shi Y., Han F.J. Enhanced apoptosis and decreased ampa receptors are involved in deficit in fear memory in *rin1* knockout rats. *Affect. Disord.* 2020. 268: 173-182. DOI: 10.1016/j.jad.2020.02.040
4. Heroux N.A., Osborne B.F., Miller L.A., Kawan M., Buban K.N., Rosen J.B., Stanton M.E. Differential expression of the immediate early genes *c-Fos*, *Arc*, *Egr-1*, and *Npas4* during long-term memory formation in the context preexposure facilitation effect (CPFE). *Neurobiol. Learn. Mem.* 2018. 147: 128-138. DOI: 10.1016/j.nlm.2017.11.016
5. Xiao P., Zhang X., Li Y., Ma Z., Si S., Gao X. miR-9 inhibition of neuronal apoptosis and expression levels of apoptosis genes *Bcl-2* and *Bax* in depression model rats through Notch pathway. *Exp. Ther. Med.* 2020. 19(1): 551-556. DOI: 10.3892/etm.2019.8228
6. Lisman J., Buzsáki G., Eichenbaum H., Nadel L., Ranganath C., Redish A.D. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nat. Neurosci.* 2017. 20(11): 1434-1447. DOI: 10.1038/nn.4661
7. Gonçalves J.T., Schafer S.T., Gage F.H. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. *Cell.* 2016. 167(4): 897-914. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.021
8. Gruden M.A., Storozheva Z.I., Sewell Robert D.E., Kolobov V.V., Sherstnev V.V. Distinct functional brain regional integration of *Casp3*, *Ascl1* and *S100a6* gene expression in spatial memory. *Behav. Brain Res.* 2013. 252: 230-238. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.06.024
9. Грудень М.А., Сторожева З.И., Ратмиров А.М., Шерстнев В.В. Паттерн экспрессии генов *NOTCH2*, *NUMB* и *CAS8* в релевантных структурах мозга крыс при формировании пространственной памяти. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017; 163(6): 751-754.
10. Колобов В.В., Давыдова Т.В., Захарова И.А., Горбатов В.Ю., Фомина В.Г. Репрессирующее влияние антител к глутамату на экспрессию гена *DFFB* в мозге крыс при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Молекулярная биология.* 2012; 46(5): 757-765.
11. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)) method. *Methods.* 2001. 25(4): 402-408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
12. Gulyaeva N.V., Kudryashov I.E., Kudryashova I.V. Caspase activity is essential for long-term potentiation. *J. Neurosci. Res.* 2003. 73(6): 853-864. DOI: 10.1002/jnr.10730
13. Гуляева Н.В. Неапоптотические функции каспазы 3 в нервной ткани. *Биохимия.* 2003; 68(11): 1459-1470.
14. Ross R.S., Slotnick S.D. The hippocampus is preferentially associated with memory for spatial context. *J. Cogn. Sci.* 2008; 20(3):432-446. DOI: 10.1162/jocn.2008.20035
15. Slotnick S.D., Thakral P.P. The hippocampus operates in a threshold manner during spatial source memory. *Neuroreport.* 2013; 24(5): 265-269. DOI: 10.1097/WNR.0b013e32835f282d
16. Li P., Zhou L., Zhao T., Liu X., Zhang P., Liu Y., Zheng X., Li Q. Caspase-9: structure, mechanisms and clinical application. *Oncotarget.* 2017. 8(14): 23996-24008. DOI: 10.18632/oncotarget.15098
17. Bredesen D.E. Neural apoptosis. *Ann. Neurol.* 1995. 38(6): 839-851. DOI: 10.1002/ana.410380604
18. Kuida K. Caspase-9. *J. Biochem. Cell Biol.* 2000. 32(2): 121-124. DOI: 10.1016/s1357-2725(99)00024-2
19. Réus G.Z., Scaini G., Jeremias G.C., Furlanetto C.B., Morais M.O., Mello-Santos L.M., Quevedo J., Streck E.L. Brain apoptosis signaling pathways are regulated by methylphenidate treatment in young and adult rats. *Brain Res.* 2014. 1583: 269-276. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.08.010

## References

1. Haubrich J., Bernabo M., Baker A.G., Nader K. Impairments to Consolidation, Reconsolidation, and Long-Term Memory Maintenance Lead to Memory Erasure. *Annu. Rev. Neurosci.* 2020; 43: 297-314. DOI: 10.1146/annurev-neuro-091319-024636
2. Lyu D., Tang N., Womack A.W., He Y.J., Lin Q. Neonatal ketamine exposure-induced hippocampal neuroapoptosis in the developing brain impairs adult spatial learning ability. *Neural. Regen. Res.* 2020. 15(5): 880-886. DOI: 10.4103/1673-5374.268929
3. Ma L., Chen X., Zhao B., Shi Y., Han F.J. Enhanced apoptosis and decreased ampa receptors are involved in deficit in fear memory in rin1 knockout rats. *Affect. Disord.* 2020. 268: 173-182. DOI: 10.1016/j.jad.2020.02.040
4. Heroux N.A., Osborne B.F., Miller L.A., Kawan M., Buban K.N., Rosen J.B., Stanton M.E. Differential expression of the immediate early genes c-Fos, Arc, Egr-1, and Npas4 during long-term memory formation in the context preexposure facilitation effect (CPFE). *Neurobiol. Learn. Mem.* 2018. 147: 128-138. DOI: 10.1016/j.nlm.2017.11.016
5. Xiao P., Zhang X., Li Y., Ma Z., Si S., Gao X. miR-9 inhibition of neuronal apoptosis and expression levels of apoptosis genes Bcl-2 and Bax in depression model rats through Notch pathway. *Exp. Ther. Med.* 2020. 19(1): 551-556. DOI: 10.3892/etm.2019.8228
6. Lisman J., Buzsáki G., Eichenbaum H., Nadel L., Ranganath C., Redish A.D. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nat. Neurosci.* 2017. 20(11): 1434-1447. DOI: 10.1038/nn.4661
7. Gonçalves J.T., Schafer S.T., Gage F.H. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. *Cell.* 2016. 167(4): 897-914. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.021
8. Gruden M.A., Storozheva Z.I., Sewell Robert D.E., Kolobov V.V., Sherstnev V.V. Distinct functional brain regional integration of Casp3, Ascl1 and S100a6 gene expression in spatial memory. *Behav. Brain Res.* 2013. 252: 230-238. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.06.024
9. Gruden M.A., Storozheva Z.I., Ratmirov A.M., Sherstnev V.V. [Pattern of *Notch2*, *Numb*, and *Cas8* Gene Expression in Relevant Structures of the Rat Brain during Formation of Spatial Memory]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2017. 63(6): 785-788. DOI: 10.1007/s10517-017-3903-y (in Russian)
10. Kolobov V.V., Davydova T.V., Zakharova I.A., Gorbатов V.Yu., Fomina V.G. [Glutamate antibodies repress expression of *DFFB* gene in brain of rats in experimental Alzheimer's disease]. *Molekulyarnaya biologiya [Molecular biology]*. 2012. 46(5):757-765 (in Russian)
11. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods.* 2001. 25(4): 402-408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
12. Gulyaeva N.V., Kudryashov I.E., Kudryashova I.V. Caspase activity is essential for long-term potentiation. *J. Neurosci. Res.* 2003. 73(6): 853-864. DOI: 10.1002/jnr.10730
13. Gulyaeva N.V. [Non-apoptotic functions of Caspase-3 in nervous tissue]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2003; 68(11): 1459-1470. (in Russian)
14. Ross R.S., Slotnick S.D. The hippocampus is preferentially associated with memory for spatial context. *J. Cogn. Sci.* 2008; 20(3):432-446. DOI: 10.1162/jocn.2008.20035
15. Slotnick S.D., Thakral P.P. The hippocampus operates in a threshold manner during spatial source memory. *Neuroreport.* 2013; 24(5): 265-269. DOI: 10.1097/WNR.0b013e32835f282d
16. Li P., Zhou L., Zhao T., Liu X., Zhang P., Liu Y., Zheng X., Li Q. Caspase-9: structure, mechanisms and clinical application. *Oncotarget.* 2017. 8(14): 23996-24008. DOI: 10.18632/oncotarget.15098
17. Bredesen D.E. Neural apoptosis. *Ann. Neurol.* 1995. 38(6): 839-851. DOI: 10.1002/ana.410380604
18. Kuida K. Caspase-9. *J. Biochem. Cell Biol.* 2000. 32(2): 121-124. DOI: 10.1016/s1357-2725(99)00024-2
19. Réus G.Z., Scaini G., Jeremias G.C., Furlanetto C.B., Morais M.O., Mello-Santos L.M., Quevedo J., Streck E.L. Brain apoptosis signaling pathways are regulated by methylphenidate treatment in young and adult rats. *Brain Res.* 2014. 1583: 269-276. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.08.010

### Сведения об авторах:

**Грудень Марина Алексеевна** — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина»; <https://orcid.org/0000-0001-6066-8908>

**Ратмиров Александр Максимович** — младший научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина»; <https://orcid.org/0000-0001-9551-8416>

**Сторожева Зинаида Ивановна** — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина»; ведущий научный сотрудник лаборатории клинической нейрофизиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-6280-5312>