ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ
вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024

ПОГОДЖУЮ
Директор Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця НАН України,
проф., д.б.н., академік НАН України
Микола ВЕСЕЛОВСЬКИЙ

(підпис)

М.П.

ПРОМІЖНИЙ ЗВІТ
(анотований звіт)
про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
з виконання наукових досліджень і розробок

Біомедичний центр іноваційних досліджень у галузі нейронаук
(назва Проєкту)

Науковий керівник проєкту _____ Галина СКИБО
(підпис)

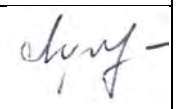
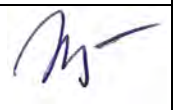
Рік завершення, номер етапу 2024 рік, перший етап

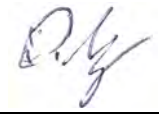
Підготовку звіту завершено «10» грудня 2024 р.

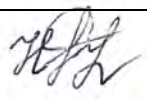
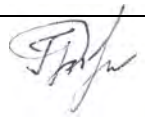
1. **Назва конкурсу** Дослідницькі інфраструктури для проведення передових наукових досліджень
2. **Номер державної реєстрації проєкту** 0124U004172
3. **Номер Договору про надання грантової підтримки** 248/0023 від 01.08.2024 р.
4. **Підстава для реалізації проєкту з виконання наукового дослідження і розробки** Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України протокол від «27» червня 2024 року № 20
5. **Найменування організації/установи грантоотримувача** Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України
6. **Власне ім'я та ПРІЗВИЩЕ наукового керівника проєкту** Галина СКИБО
7. **Місце основної роботи та посада наукового керівника проєкту** Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, завідувач відділу цитології
8. **Терміни та тривалість виконання проєкту:**
   Тривалість проєкту 22,5 місяців
   Початок 01.08.2024
   Закінчення 31.12.2026
   Тривалість звітного етапу 4,5 місяців
   Початок 01.08.2024
   Закінчення 31.12.2024
9. **Обсяги фінансування проєкту:**
   Загальний обсяг фінансування:
   за заявкою на отримання грантової підтримки 30 000,0 тис. грн.
   за рішенням наукової ради НФДУ 30 000,0 тис. грн.
   Обсяг фінансування звітного етапу:
   за заявкою на отримання грантової підтримки 5 000,0 тис. грн.
   за договором на отримання грантової підтримки 4 986,0 тис. грн.
   фактичний 4 951,1 тис. грн.
10. **Перелік виконавців з оплатою праці**

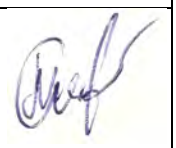
№ з/п	Прізвище, ім'я, науковий ступень, вчене звання	Основне місце роботи або навчання	Наявність статусу молодого вченого (на момент подачі звіту)	Посада за проєктом	Форма залучення виконавця (договір ЦПХ, строковий трудовий договір)	Основні завдання у проєкті (стисло окреслити функції)	Особистий підпис
1	Скибо Галина, д.мед.н., проф.	Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України (ІФБ)	немає	керівник проєкту, завідувач відділу	ЦПХ	Координація роботи усіх наукових груп, розподіл завдань, аналіз отриманих результатів,	

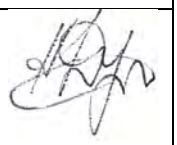
						контроль бюджету проєкту.	
2	Максимюк Олександр, к.б.н., старший дослідник	ІФБ	немає	автор проєкту, пров. наук. спів.	ЦПХ	Розробка методик і протоколів, налагодження експериментів, науковий нагляд, розподіл завдань, вирішення наукових питань, експертиза і консультації, контроль якості досліджень, підготовка звіту.	
3	Ісаєв Дмитро, к.б.н., старший дослідник	ІФБ	немає	автор проєкту, пров. наук. спів.	ЦПХ	Розробка методик, налагодження експериментів, тестування епілептигенних структур мозку, контроль якості, статистична обробка результатів, написання звіту.	
4	Цупиков Олег, д.мед.н., ст.н.с.	ІФБ	немає	виконавець, пров. наук. спів.	ЦПХ	Молекулярно-генетичні досліджен	

						ня культур гіпокампа миші.	
5	Лушнікова Ірина, д.б.н., ст.н.с.	ІФБ	немає	виконавець, пров. наук. спів.	ЦПХ	Співкультивування клітин гіпокампа та кисломолочних бактерій, оцінка життєздатності культивованих клітин гіпокампа.	
6	Пацева Марина, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, наук. спів.	ЦПХ	Імуноцитохімічний аналіз впливу продуктів метаболізму кисломолочних бактерій на стан культивованих клітин гіпокампа миші.	
7	Чернінський Андрій, к.б.н., ст.н.с	ІФБ	немає	виконавець, ст. наук. спів.	ЦПХ	Тестування моделей епілепсії, розробка протоколів, створення моделей *in vivo*, налагодження методик, тестування епілептигенних структур, контроль якості,	

						статистична обробка, написання звіту.	
8	Єгорова Олена, к.б.н., ст.н.с.	ІФБ	немає	виконавець, ст. наук. спів.	ЦПХ	Виділення нейронів, дослідження фармакологічної активності, моніторинг проєкту, управління бюджетом, координація ресурсів, забезпечення комунікації виконавців, аналіз даних, підготовка графіків, фінансова звітність, написання наукового звіту.	
9	Кулик В'ячеслав, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, наук. спів.	ЦПХ	Культивування клітин, електрофізіологічні дослідження, аналіз даних, підготовка графіків, написання наукового звіту.	
10	Лук'янець Олена, д.б.н., проф.	ІФБ	немає	виконавець, завідувач відділу	ЦПХ	Аналіз поточних експериментальних	

						результатів учасників проєкту. Написання публікацій. Дизайн публікацій. Редагування статей. Дизайн і редагування Звіту про виконану роботу.	
11	Розумна Наталія, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, ст. наук. спів.	ЦПХ	Виконання досліджень для оцінки ефекту блокатору CDK-5 росковитину на життєздатність нервових клітин гіпокампа.	
12	Ганжа Віта, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, наук. спів.	ЦПХ	Застосування культивування клітин, конфокальної мікроскопії та флуоресцентних маркерів.	
13	Веселовський Микола, д.б.н., проф.	ІФБ	немає	виконавець, завідувач відділу	ЦПХ	Планування електрофізіологічних експериментів з модуляції синаптичної передачі	

						між нейронами гіпокампа та нейропередачі в кокультурі нейронів сітківки та superficial superior colliculus (SSC) щурів. Налагодження експериментальних методик. Ведення наукового нагляду за дослідженнями. Розподіл завдань між дослідниками та забезпечення вчасного виконання етапів проєкту.	
14	Шипшина Марія, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, ст. наук. спів.	ЦПХ	Дослідження особливостей експресії короткочасної пластичності в синапсах культивованих нейронів гіпокампа в умовах інсулінової депривації	

						та з'ясування нейропротекторного впливу інсуліну на модуляцію синаптичної передачі в *in vitro* моделі гіпоінсулінемії	
15	Думанська Ганна, к.б.н.	ІФБ	немає	виконавець, ст. наук. спів.	ЦПХ	Дослідження механізмів індукованих гіпоксією нейродегенеративних змін синаптичної передачі в кокультурі нейронів сітківки та superficial superior colliculus (SSC) щурів.	

11. Стислий зміст проєкту *(актуальність, мета, основні завдання, ідеї, гіпотези тощо до 20 рядків)* Проєкт "Біомедичний центр іноваційних досліджень у галузі нейронаук" є ініціативою, яка покликана створити передовий дослідницький центр, що спеціалізується на розробці інноваційних підходів та методів у галузі нейронаук. Центр має на меті інтегрувати сучасні наукові знання та дослідження для глибшого розуміння та лікування патології мозку та неврологічних розладів. Передбачається проведення передових досліджень у сфері нейрофізіології, патофізіології, розробка нових терапевтичних стратегій для лікування нейродегенеративних та інших неврологічних захворювань. Основні завдання проєкту:

1) Інтеграція міждисциплінарних підходів: Залучення експертів з різних наукових сфер для створення інтегрованих дослідницьких груп, спрямованих на вивчення мозкових функцій та розладів. 2) Розробка нових терапевтичних стратегій: Створення та тестування інноваційних методів лікування нейродегенеративних захворювань. 3) Проведення фундаментальних досліджень: Зосередження на основних наукових дослідженнях, які сприяють розвитку галузі.

4) Співпраця з міжнародними науковими спільнотами: Встановлення та підтримка зв'язків з провідними науковими центрами та університетами для обміну знаннями та спільних досліджень. 5) Освіта та підготовка майбутніх науковців: Розвиток програм навчання та стажування для аспірантів та молодих вчених, спрямованих на формування нового

покоління фахівців у галузі нейронаук. 6) Публікація та поширення результатів досліджень: Активне висвітлення досягнень центру через наукові статті, конференції та семінари, спрямовані на популяризацію нових знань у галузі.

12. **Основні результати виконання попереднього етапу** не було
13. **Номер та назва звітного етапу** Етап № 1. Нейробіологічні дослідження і розробка електрофізіологічних методик.
14. **Опис процесу реалізації проєкту** *(опишіть хід виконання, які дослідження проводились, які методики використовувались, які гіпотези вдалось довести/спростувати тощо, до 50 рядків)* У рамках виконання проєкту на базі Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України створено "Біомедичний центр іноваційних досліджень у галузі нейронаук" з основним акцентом на нейронауки (Наказ №56 від 09.12.2024, **Додаток 4**). Було налаштовано методику виділення та довгострокового культивування дисоційованих клітин гіпокампа щурів. Розроблено критерії оцінки гіпокампальних клітин, зокрема проаналізовано їх морфологію та проведені МТС- та ЛДГ-тести на 7 та 14 добу культивування. Для дослідження ролі інгібітора протеїнкінази С – хелеритрин хлориду (5 μМ) та інсуліну (100 нМ) на АМПА-опосередковану нейропередачу в *in vitro* моделях гіпоксії та гіпоінсулінемії на культивованих нейронах ЦНС, використовували методи петч-клемп у конфігурації «ціла клітина», локальної позаклітинної електричної стимуляції пресинаптичного аксона та швидкої локальної суперфузії. У результаті виконання проєкту були налаштовані *in vitro* моделі епілепсії та отримані електрографічні записи спонтанної електричної активності на зрізах мозку щурів. Ми використовували методики фармакологічного впливу на нервову тканину з метою порушення збудливо-гальмівного балансу мережі. Така патологічна активність на зрізах мозку щурів була отримана завдяки зниженню гальмівної активності та/або підвищенню збудливої активності нейронів у зрізах мозку піддослідних тварин. Нам вдалось довести гіпотезу, що зменшення співвідношення гальмівної активності до збудливої активності приводить до епілептоподібної активності на зрізах мозку експериментальних щурів.
15. **Результати виконання звітного етапу відповідно до Технічного завдання до проміжного етапу проєкту з виконання наукового дослідження і розробки / Календарного плану виконання наукового дослідження і розробки:**

15.1. Заплановані завдання звітного етапу проєкту ***(перерахуйте завдання звітного етапу, окреслені*** *у Календарному плані виконання наукового дослідження і розробки, до 20 рядків)* Завдання № 3. Проведення фундаментальних досліджень: Зосередження на основних наукових дослідженнях, які сприяють розвитку галузі:

Завдання № 3.1 За допомогою молекулярно-генетичних та цитологічних методів дослідити вплив продуктів метаболізму *Lactococcus lactis* та *Lactobacillus rhamnosus* на стан культивованих клітин гіпокампа миші.

Завдання № 3.2. Зборка та налаштування компонентів електрофізіологічного обладнання, калібровка отриманого сигналу, індукція епілептиформної активності, реєстрація викликаних постсинаптичних потенціалів.

Завдання № 3.3. Оцінка впливу блокатору CDK5 росковитину на життєздатність нервових клітин гіпокампа. Застосування конфокальної мікроскопії та флуоресцентних маркерів.

Завдання № 3.4. Дослідження впливу протеїнкінази С та хелеритрин хлориду на АМПА-опосередковану нейропередачу та роль інсуліну в захисті синапсів культивованих нейронів гіпокампа.

Завдання № 6. Публікація та поширення результатів досліджень: Активне висвітлення досягнень центру через наукові статті, конференції та семінари, спрямовані на популяризацію нових знань у галузі:

Завдання № 6.1. Проведення міжнародної конференції по нейронаукам, присвяченої 100 річчю з дня народження П. Г. Костюка.

15.2. Отримані результаті звітного етапу проєкту *(опишіть отримані результати виконавцями протягом звітного етапу, посилаючись на заплановані та досягнуті цілі, задачі та індикатори виконання, задані в Технічному завданні до проміжного етапу проєкту з*

виконання наукового дослідження і розробки / Календарному плані виконання наукового дослідження і розробки. Включіть посилання на публікації у наукових виданнях, інші показники з п. 18, що є підтвердженням досягнення індикаторів виконання етапу, до 70 рядків)

Протягом І етапу проєкту у 2024 році виконані такі заплановані завдання:

1. Інтеграція міждисциплінарних підходів: за допомогою Консультативної ради проєкту залучено експертів з сучасних методик генетичних та електрофізіологічних досліджень, а також сучасних методик біостатистики, з метою формування чотирьох інтегрованих дослідницьких груп.

2. Розробка нових терапевтичних стратегій: отримані контрольні записи електричної активності в зрізах мозку щурів: спонтанної епілептиформної активності в різних моделях епілепсії *in vitro* та на тваринних моделях епілепсії *in vivo* та викликаних постсинаптичних потенціалів.

3. Проведення фундаментальних досліджень:

3.1. Отримано дані щодо ефекту продуктів метаболізму *Lactococcus lactis* та *Lactobacillus rhamnosus* на стан культивованих клітин гіпокампа миші. Були визначені умови для напрацювання стандартизованого кондиційованого середовища (КС), що містить бактеріальні продукти метаболізму. КС використовували на 9 добу культивування у концентрації 1, 10, 50 мкл/мл протягом 24 год. Виявлено, що при додаванні у гіпокампальні культури 50 мкл/мл КС проявлялися певні ознаки погіршення стану клітин, тоді як менші концентрації не викликали суттєвих замін. Відповідно, у подальших дослідженнях на моделі ішемічного ушкодження *in vitro*, передбачається використання КС у концентрації 10 мкл/мл.

3.2. Отримано контрольні записи електричної активності в зрізах мозку щурів: спонтанної епілептиформної активності в різних моделях епілепсії *in vitro* та на тваринних моделях епілепсії *in vivo* викликаних постсинаптичних потенціалів. Здійснена зборка та налаштування компонентів електрофізіологічного обладнання. Після фінального налаштування була проведена калібровка отриманого сигналу, якість контрольних сигналів відповідала стандарту, що демонструє готовність установки до експериментальних випробувань. З метою отримання епілептоподібного електричного сигналу від нервової тканини мозку щурів були використані фармакологічні агенти у складі штучної спино мозкової рідини, за допомогою якої відбувається аплікація експерементальних препаратів. У результаті аплікації проепілептичних препаратів на нервову тканину мозку щурів були отримані електрографічні реєстрації активності досліджуваної мережі. Отримані записи у таких епілептичних моделях: бікукулінова молель, 4АП модель, низькомагнієва модель епілепсії. Реєстрації сигналів електричної активності під час аплікації проіктальних препаратів продемонстрували повну відповідність характеристик цих сигналів до моделей епілепсії, що досліджуються.

3.3. Отримано характеристики життєздатності клітин у присутності блокатору CDK5 росковитину для аналізу дії блокатора на життєздатність нервових клітин гіпокампа. CDK5 (циклічно-залежна кіназа 5) є ферментом, який відіграє важливу роль у регуляції багатьох процесів у нервовій системі, зокрема розвиток нейронів, формування синапсів та транспортування молекул. Проте надмірна активація CDK5 за патологічних умов, таких як нейродегенеративні захворювання, може спричиняти загибель нервових клітин. Було показано, що в контрольних експериментах сам по собі росковітин не впливає на життєздатність клітин, яка оцінювалась за допомогою конфокального мікроскопу і подвійного фарбування пропідієм йодидом та Hoechst. Актуальність таких досліджень полягає в розумінні механізмів регуляції виживання нейронів, що є критичним для розробки терапевтичних підходів до лікування нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, де активація CDK5 може відігравати ключову роль у загибелі клітин.

3.4. Визначено молекулярні механізми, завдяки яким протеїнкіназа С та хелеритрин хлорид впливають на АМПА-опосередковану нейропередачу, а також роль інсуліну в захисті нейронів гіпокампа в умовах гіпоінсулінемії. Показано різноспрямований вплив інсуліну на короткочасну пластичність в синапсах гіпокампа при гіпоінсулінемії в залежності від базової ймовірності вивільнення в них глутамату. В умовах гіпоінсулінемії в синапсах з депресією

при парній стимуляції інсулін відновлював деякі властивості пластичності до нормоінсулінемічного рівня завдяки збільшенню ймовірності вивільнення глутамату. Дані свідчать про неоднорідність синапсів гіпокампа в їх стійкості до попереднього дефіциту інсуліну. Також виявили нейропротекторну дію інгібітора протеїнкінази С – хелеритрин хлориду на гіпоксія-індуковане тимчасове пригнічення АМПА-опосередкованої нейропередачі в кокультивованих проєкціях гангліозних клітин сітківки на нейрони superficial superior colliculus. Інгібування сигнального каскаду ПКС призводило до повного відновлення амплітудних характеристик нейропередачі та до часткового відновлення – частотних.

4. Співпраця з міжнародними науковими спільнотами: 10 грудня о 16:00 проведено онлайн воркшоп «Сучасний інструментарій досліджень у галузі нейронаук» за участю членів Консультативної ради. 12 грудня о 17:00 проведено онлайн вебінар "Silicon probes and seizure models: A new wave in determining mechanisms in hypersynchrony" за участю проф. Jeremy Barry (Університет Вермонта, США), який розповів про сучасні підходи до дослідження механізмів гіперсинхронії за допомогою кремнієвих зондів і моделей епілепсії. http://biph.kiev.ua/uk/

5. Освіта та підготовка майбутніх науковців: створено новий освітньо-науковий компонент (ОНП) «Використання методів машинного навчання в біомедичних дослідженнях» та впроваджено його в ОНП Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України за спеціальністю Е1 "Біологія та біохімія" галузі знань Е "Природничі науки, математика та статистика " за спеціальністю І2 «Медицина» галузі знань І «Охорона здоров'я та соціальне забезпечення» для здобуття третього освітньо-наукового рівня вищої освіти (**Додаток 5**).

6. Публікація та поширення результатів досліджень: 19-21 листопада 2024 року в Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України проведено міжнародну конференцію з нейронаук, присвячену 100-річчю від дня народження П. Г. Костюка: https://biph.kiev.ua/uk/NeuroConference2024. Отримані результати були представлені на цій конференції у формі 4 тез доповідей. Опубліковано 1 статтю та прийнято до друку 1 статтю в журналі "Фізіологічний журнал" (Scopus, Q4); 1 статтю у періодичному виданні інших країн, що мають ISSN, "Regenerative Medicine Reports".

15.3. Відхилення від Календарного плану виконання наукового дослідження і розробки (за наявності) *(вкажіть та детально обґрунтуйте можливі відхилення від Технічного завдання до проміжного етапу проєкту з виконання наукового дослідження і розробки / Календарного плану виконання наукового дослідження і розробки, до 30 рядків)* немає

16. Наукова цінність і актуальність отриманих результатів *(науково-технічної продукції), їх порівняння з українськими та/або кращими закордонними аналогами, до 30 рядків)* Наукова цінність проєкту полягає в отриманні нових даних щодо ефекту продуктів метаболізму *Lactococcus lactis* та *Lactobacillus rhamnosus* на стан культивованих клітин гіпокампа миші; отриманні контрольних записів електричної активності в зрізах мозку щурів: спонтанної епілептиформної активності в різних моделях епілепсії *in vitro* та на тваринних моделях епілепсії *in vivo* та викликаних постсинаптичних потенціалів, що відповідають найкращим вітчизняним та міжнародним стандартам реєстрацій епілептичних нападів; отриманні характеристик життєздатності клітин у присутності блокатору CDK5 росковитину для аналізу дії блокатора; отриманні нових даних стосовно механізмів нейропротекторної дії інсуліну та хелеритрин хлориду на модуляцію синаптичної передачі в нейронах ЦНС в *in vitro* моделях гіпоксії та гіпоінсулінемії.

17. Практична цінність результатів для потреб оборони, безпеки, економіки та/або суспільства України *(у разі наявності, до 30 рядків)* Результати роботи можуть бути використані науково-дослідними установами, біотехнологічними компаніями, що працюють у галузі розробки та використання пробіотиків та метабіотиків у терапевтичних стратегіях лікування та реабілітації неврологічних розладів. Отримані дані можуть використовуватись в освітньому процесі вищими навчальними закладами під час первинної підготовки та підвищення кваліфікації фізіологів, медиків, біотехнологів. Результати можуть розглядатися як рекомендації для підвищення ефективності лікування наслідків ішемічного ушкодження та

інших неврологічних патологій. У результаті нашого дослідження та акумуляції всіх даних створюються умови для винаходу методів ефективного терапевтичного втручання у хід перебігу епілептичного розладу. Зменшення кількості та інтенсивності епілептичних нападів у людей, що страждають на цей розлад зменшить витрати на лікування та покращить якість життя пацієнтів. Позитивні зміни як у фізіологічному так і психологічному стані пацієнтів відобразяться на всіх рівнях функціонування суспільства.

18. Основні кількісні індикатори виконання звітного етапу *(у таблиці мають бути відображені індикатори, які було заплановано в Технічному завданні до проміжного етапу проєкту з виконання наукового дослідження і розробки із зазначенням відповідного фактичного кількісного виконання цих індикаторів. Якщо у Технічному завданні до проміжного етапу проєкту з виконання наукового дослідження і розробки кількісні показники не планувались, то у таблиці відображаються лише показники у разі їх наявності / виконання)*

№ з/п	Індикатори виконання	Заплановано (відповідно до КП), кількість	Фактично отримано (відповідно до КП), кількість
1.	**Публікація результатів:**	**1**	**7**
1.1.	Статті у журналах, що індексуються наукометричними базами даних:		
	- Scopus та/або Web of Science Core Collection, всього, од.	1	2
	з них із квартилем Q1 і Q2 на момент опублікування, од.		
	з них із квартилем Q3 і Q4 на момент опублікування, од.	1	2
1.2.	Статті у наукових журналах (без квартилю), збірниках наукових праць, матеріалах конференцій тощо, що індексуються наукометричними базами даних Scopus або Web of Science Core Collection (крім тих, що увійшли до п.1.1) , од.		
1.3.	Статті у фахових виданнях України категорії «Б» , од.		
1.4.	Статті у періодичних виданнях інших країн, що мають ISSN, од.	–	1
1.5.	Публікації у матеріалах конференцій, тезах доповідей та виданнях, що не включені до переліку наукових фахових видань України та не індексуються наукометричними базами даних Scopus або Web of Science Core Collection, од.		
1.6.	Монографії та розділи монографій, опубліковані (або підготовлені і подані до		

	друку) у закордонних видавництвах іноземними мовами, од.		
1.7.	Монографії та розділи монографій, опубліковані (або підготовлені і подані до друку) в українських видавництвах, од.		
1.8	Словники, довідники, енциклопедії, видані українськими та/або закордонними видавництвами , од.		
1.9	Інші публікації, які не описані у пп. 1.1-1.8, од.	–	4
2.	**Презентація та дисемінація результатів:**	**2**	**2**
2.1.	Міжнародні науково-комунікативні заходи, конференції, од.	1	1
2.2.	Всеукраїнські та регіональні науково-технічні/промислові виставкові заходи, од.		
2.3.	Представлення розробки/бізнес-плану/результатів проєкту на:		
	інноваційних фестивалях, од.		
	конкурсах стартапів, од.		
	акселераційних програмах, од.		
	хакатонах, од.		
2.4.	Науково-популярні публікації з метою поширення інформації про результати проєкту для загальної (широкої) аудиторії, од.	1	1
2.5.	Представлення інформації про результати проєкту на науково-популяризаційних заходах (Дні науки, Наукові пікніки тощо) , од.		
2.6.	Інші заходи, які не описані у пп. 2.1-2.5, од.		
3.	**Охоронні документи на об'єкти права інтелектуальної власності (ОПІВ)**		
3.1.	Отримано патентів України на винахід, од.		
3.2.	Отримано свідоцтв України на промисловий зразок , од.		
3.3.	Отримано патентів України на корисну модель, од.		
3.4	Отримано охоронний документ на ОПІВ інших країн, од.		

3.5	Інші ОПІВ, які не описані у пп. 3.1-3.4, од.		
3.6	Подано заявок на отримання охоронного документу на ОПІВ України та /або інших країн, од.		
4.	**Впровадження та використання наукових або науково-практичних результатів:**	**1**	**2**
4.1.	Підписання (укладання) договорів (угод) на впровадження (використання) результатів проєкту (окрім індивідуальних), серед них:		
4.1.1	Господарських договорів/контрактів, од./тис.грн.		
4.1.2	Ліцензійних договорів/договорів на ноу-хау, од./тис.грн.		
4.1.3	Грантових угод, од./тис.грн.		
4.1.4	Інші договори (угоди), які не описані у пп. 4.1.1-4.1.3, од./тис. грн.		
4.4	Документально підтверджено використання результатів у практиці органів державної/місцевої влади, суспільних практиках тощо, од.	1	2
4.5	Проведено маркетингові дослідження, перемовини з потенційними замовниками із підписанням протоколу (меморандуму, угоди) про наміри комерційного впровадження результатів, од.		
4.6	Подано заявок на державні, міжнародні наукові гранти (окрім індивідуальних) , од.		
5.	**Створено чи істотно удосконалено/покращено існуючі:**		
5.1.	Пристрої (макет, експериментальний/дослідний зразок) , од.		
5.2.	Матеріали, процеси, технології, технологічні регламенти, цифрові продукти та електронні сервіси, од.		
5.3.	ТУ, ДСТУ, будівельні норми, зареєстровані проєкти законодавчих актів, од.		
5.4.	Наукові (науково-технічні) послуги, од.		
5.5	Іншу продукцію, яка не описана у пп. 5.1-5.4, од.		

19. Відхилення від запланованих індикаторів, зазначених у п. 18 *(у разі наявності зазначити і обґрунтувати причини таких відхилень та їх вплив на подальше виконання проєкту, до 20 рядків)* Відхилення в позитивний бік, оскільки опублікували більше статей і тез.

20. Вихідні дані щодо показників виконання відповідно до п. 18 *(зазначити дані про публікації, конференції, отримання ОПІВ, впровадження, створення НТП, залучення молодих вчених тощо з додаванням Web-посилання (за наявності) на ресурси, де вони розміщенні)*

№ 1.1. – Опублікована 1 стаття в журналі, що індексується у Scopus, квартиль Q4:
Gorbachenko V. A., Olianin V. V., Lukyanets O. O. Physiological mechanisms of stress and post-traumatic stress disorder. *Фізіологічний журнал*. 2024. № 70(6), С. 98-109. https://doi.org/10.15407/fz70.06.098
https://fz.kiev.ua/index.php?abs=2102
– Принято до друку 1 статтю в журнал, що індексується у Scopus, квартиль Q4:
Розумна Н. М., Ганжа В. В., Лук'янець О. О. Вплив інгібітора CDK5 росковитину на цитологічний стан культур нейронів гіпокампа щурів. *Фізіологічний журнал*. 2025. № 71(1), (прийнята до друку).

№ 1.4. Опублікована 1 стаття у періодичному виданні інших країн, що мають ISSN:
Kostiuchenko O,. Lushnikova I., Skibo G. The role of gut microbiota metabolites in the regeneration and protection of nervous tissue. *Regenerative Medicine Reports*. 2024. № 1(1), P. 12-30. https://doi.org/10.4103/REGENMED.REGENMED-D-24-00004
https://journals.lww.com/rmr/fulltext/2024/01010/the_role_of_gut_microbiota_metabolites_in_the.3.aspx

№ 1.9. Опубліковані 4 тези доповідей:
1. Шипшина М. С., Федулова С. А., Веселовський М. С. Інсулін-індуковані зміни параметрів короткочасної пластичності глутаматергічної нейропередачі в культивованих нейронів гіпокампа при гіпоінсулінемії. *Фізіологічний журнал*. 2024. № 70(5)S, С. 124. https://doi.org/10.15407/fz70.05S.001
2. Dumanska H., Veselovsky N. Protein kinase C mediates hypoxia-induced effects on excitatory neurotransmission in the visual retinocollicular pathway *in vitro*. *Фізіологічний журнал*. 2024. № 70(5)S, С. 30-31. https://doi.org/10.15407/fz70.05S.001
3. Клименко М. Ю., Запухляк О. С., Єгорова О. В., Максимюк О. П., Ісаєв Д. С. Ефект канабідіолу на епілептиформну активність пірамідних нейронів гіпокампа в різних моделях епілепсії *in vitro*. *Фізіологічний журнал*. 2024. № 70(5)S, С. 39-40. https://doi.org/10.15407/fz70.05S.001
4. Лук'янець О. О. Механізми нейродегенерації та нейропротекції при хворобі Альцгеймера. *Фізіологічний журнал*. 2024. № 70(5)S, С. 57-58. https://doi.org/10.15407/fz70.05S.001

№ 2.1. Проведено міжнародну конференцію з нейронаук, присвячену 100-річчю від дня народження П. Г. Костюка: https://biph.kiev.ua/uk/NeuroConference2024.

№ 2.4. На сайті Національної академії наук розміщено науково-популярну публікацію з метою поширення інформації щодо проєкту для широкої аудиторії: https://www.nas.gov.ua/news/naukovci-akademi-poglibleno-vivchayut-mozok--i-shukayut-shlyahiv-likuvannya-nevrologichnih-rozladiv

№ 4.4. – Результати, отримані під час виконання проєкту "Біомедичного центру інноваційних досліджень у галузі нейронаук" активно використовуються в діяльності Українського Фізіологічного Товариства ім. П. Г. Костюка. Довідка №16 від 10 грудня 2024 р.

– 14-15.11.2024 р. автор проєкту Олександр Максимюк узяв участь у воркшопі, організованому безпековою організацією «COALESCION» та U.S. Department of State «Перевірка гібридних досліджень, індивідуальна кібербезпека та безпека знань для українських науковців, техніків та інженерів (HTI), дотичних до питань подвійного використання». На панельних дискусіях обговорювалися проблеми безпеки наукових та науково-технічних досліджень, індивідуальної та корпоративної кібербезпеки, академічної доброчесності, організації взаємодії між науковцями, а також підготовки грантових заявок. Олександр Максимюк поділився з учасниками воркшопу декількома успішними кейсами за тематикою заходу, зокрема організацією наукової колаборації в рамках грантів НФДУ та створенням міждисциплінарних наукових центрів на прикладі проєкту НФДУ 2023.05/0023. Під час заключного обговорення представники та експерти «COALESCION» високо оцінили професійні навички грантоотримувачів НФДУ, зокрема й команди проєкту НФДУ 2023.05/0023. Сертифікат участі у воркшопі, організованому безпековою організацією «COALESCION». (**Додаток 6).**

До звіту додаються електронні копії наукових публікацій, охоронних документів, інша наукова продукція із вказанням DOI *(окрім матеріалів, які містять інформацію з обмеженим доступом, **Додаток 1** до Проміжного звіту)*.

- у випадку необхідності надання друкованої версії звіту, до нього додаються друковані додатки *(окрім великих (більше 50 сторінок) за обсягом - монографії, підручники, словники тощо та інші матеріали).*

21. **Рішення вченої (наукової, науково-технічної, технічної) ради або іншого керівного (дорадчого) органу (за відсутності зазначеної ради) організації/установи грантоотримувача щодо результатів розгляду Проміжного звіту** *(стисло зазначити текст висновку ради про відповідність/невідповідність виконаних за проєктом робіт Технічному завданню до проміжного етапу проєкту з виконання наукового дослідження і розробки)* Витяг № 16 з протоколу засідання вченої ради Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України від 9 грудня 2024 р.: «Ухвалили: Проєкт "Біомедичний центр іноваційних досліджень у галузі нейронаук" за результатами виконання І-го проміжного етапу виконаний в цілому, заплановані результати отримані, роботи, виконані за Проєктом, відповідають Технічному завданню та Календарному плану. Рекомендувати звіт до подання до НФДУ. Рішення ухвалено відкритим голосуванням одноголосно».

Додаток 2 – копія витягу з протоколу вченої (наукової, науково-технічної, технічної) ради або іншого керівного (дорадчого) органу (за відсутності зазначеної ради) організації/установи грантоотримувача.

22. **Анотація основних результатів звітного етапу проєкту** *(готується українською та англійською мовами, до 30 рядків кожною мовою, викладається науково-популярним стилем)*

Додаток 3

23. **За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з аналогами, що існують, до 10 рядків** немає

24. **Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці**. Для створеного "Біомедичного центру іноваційних досліджень у галузі нейронаук" було придбано високотехнологічне обладнання (система для ПЛР у реальному часі QuantStudio® 5 та комплекс комп'ютерний електроенцефалографічний НЕЙРОКОМ 19), яке доступне для колективного користування науковцями з інститутів НАН України, галузевих академій та закладів вищої освіти для проведення наукових досліджень за профілем діяльності Інституту в галузі молекулярної фізіології, біофізики, нейрофізіології, патологічної фізіології. Співробітники Інституту можуть виконувати сучасні дослідження в рамках запланованих науково-дослідних робіт, для післядипломної освіти, а також для підготовки студентів і аспірантів за різними спеціальностями в галузі біології та медицини. Створений Центр сприяє розвитку інновації у лікуванні нейродегенеративних захворювань, розробкам та впровадженням передових методів лікування. Центр налагодив тісну взаємодію з провідними міжнародними науковими центрами: Harward Medical School (USA), University of Torino (Italy), University of Vermont (USA), University of Pittsburg School of Medicine (USA). Така співпраця не лише підсилює дослідницькі можливості, але й сприятиме обміну знаннями, досвідом та найкращими практиками. Також Центр підвищує обізнаність громадськості щодо важливості нейронаук.

Примітка: Проміжний звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування.

Науковий керівник Проєкту
Завідувач відділу цитології, д.мед.н., проф.,
Галина СКИБО

(підпис)

Додаток 1

УДК 612.821+616.89-008.441.13

Фізіологічні механізми стресу та посттравматичний стресовий розлад

В.А. Горбаченко, В.В. Олянін, О.О. Лук'янець

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: gva@biph.kiev.ua

Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) є складним психічним станом, що розвивається після сильних травматичних подій і характеризується такими симптомами, як повторне переживання травми, підвищена тривожність та гіперзбудливість. Останні дослідження показують, що патофізіологія ПТСР значною мірою зумовлена дисфункцією гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі (HPA) та порушенням нейромедіаторної регуляції, що впливає на ключові мозкові структури, такі як мигдалина, гіпокамп та префронтальна кора. Мигдалина відіграє центральну роль у формуванні та зберіганні страху, посилюючи емоційні реакції на травматичні стимули. Гормони стресу, такі як кортизол, адреналін та норадреналін, у поєднанні з нейромедіаторами (серотонін, дофамін, глутамат) модулюють активність мигдалини, що впливає на розвиток ПТСР. Огляд підкреслює значення вивчення біомаркерів для ранньої діагностики ПТСР, а також перспективи нових терапевтичних стратегій, які зосереджені на корекції HPA-осі та відновленні нейромедіаторного балансу для полегшення симптомів ПТСР.

Ключові слова: посттравматичний стресовий розлад; нейробіологія; мигдалина; префронтальна кора; гіпокамп; ендокринна система; кортизол; стресові гормони; страх; пам›ять; біомаркера; нейронні зв›язки.

ВСТУП

Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) – це складний психічний стан, що виникає у відповідь на важкі травматичні події та супроводжується інтенсивними симптомами, такими як повторне переживання події, емоційне оніміння та гіперзбудливість [1]. Протягом останніх десятиліть значна кількість досліджень була присвячена вивченню нейробіологічних аспектів ПТСР, що дало змогу виявити ключові мозкові структури, включаючи мигдалину, префронтальну кору та гіпокамп, які мають значний вплив на патофізіологію цього розладу.

Дослідження, що зосереджуються на психофізіологічних, ендокринних та генетичних аспектах ПТСР, виявили важливу роль гормонів стресу, таких як кортизол, які змінюють реакцію організму на загрози та впливають на функціонування мозкових структур, пов›язаних зі страхом та пам›яттю [1, 2]. Більш новітні генетичні дослідження підкреслюють значення певних генетичних варіантів і гаплотипів у розвитку ПТСР, пропонуючи потенційні біомаркери для визначення схильності до цього розладу та розробки профілактичних заходів [3].

Хвороба Альцгеймера є наслідком довго-тривалого стресу, може сприяти розвитку дегенеративних захворювань через кілька біологічних механізмів, що впливають на мозок. Одним із ключових факторів є хронічна активація гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової (HPA) осі, яка призводить до стійкого підвищення вмісту кортизолу - головного гормону стресу. Це впливає на структури мозку, зокрема гіпокамп, який є важливим для процесів пам'яті та

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2024
© Видавець ВД "Академперіодика" НАН України, 2024

навчання. Довготривала дія кортизолу може пошкоджувати нейрони гіпокампа, знижуючи його об'єм і спричиняючи когнітивні порушення [4, 5].

Інший механізм пов'язаний із накопиченням β-амілоїдних білків, характерних для хвороби Альцгеймера. Дослідження показують, що тривалий стрес може підсилювати процеси, що призводять до скупчення β-амілоїдних бляшок і утворення τ-білків. Це зменшує пластичність нейронів та погіршує зв'язки між ними, що негативно впливає на когнітивні функції [4, 5].

Також важливою є роль запалення: хронічний стрес активує запальні процеси в організмі та мозку, що може посилити прогресування нейродегенеративних змін, характерних для хвороби Альцгеймера [6].

Останні дані також свідчать про ефективність альтернативних підходів до лікування: методики на основі усвідомленості (mindfulness-based therapy), які можуть сприяти відновленню нейронних зв'язків і підвищувати стійкість до симптомів ПТСР. Попри значний прогрес у дослідженнях, ефективність існуючих терапевтичних підходів залишається обмеженою, що підкреслює необхідність глибшого розуміння біологічних механізмів ПТСР і подальшого розвитку нових терапій та профілактичних заходів [7, 8].

Визначення та актуальність досліджень стресу та ПТСР

Стрес є комплексною реакцією організму на подразники зовнішнього або внутрішнього середовища, що має широкий спектр фізіологічних та психологічних проявів. Він виникає внаслідок загрози або необхідності адаптації до умов, що змінюються, і активує різні біологічні системи, зокрема, нервову, ендокринну та імунну [9, 10]. Короткотривалому стресу властива адаптивна функція, допомагаючи організму швидко реагувати на виклики. Однак тривалий або надмірний стрес може призводити до порушень у регуляторних системах, сприяючи розвитку хронічних захворювань, депресії, тривожних розладів і ПТСР [3, 9].

ПТСР є складним психічним станом, що розвивається внаслідок переживання травматичних подій, таких як війна, катастрофи, насилля або інші події, що загрожують життю та здоров'ю. Він супроводжується різноманітними симптомами, включаючи повторне переживання травми, емоційне оніміння, підвищену збудливість та уникнення ситуацій, пов›язаних із травмою [2, 11]. З огляду на високий рівень соціальної та психологічної дезадаптації пацієнтів з ПТСР, цей розлад стає важливою проблемою громадського здоров'я [2].

Актуальність вивчення біологічних механізмів стресу та ПТСР зумовлена необхідністю розуміння основних фізіологічних шляхів, залучених до розвитку цих станів. HPA-вісь та нейромедіатори: кортизол, адреналін і норадреналін відіграють ключову роль у регуляції відповіді на стрес та в патогенезі ПТСР [7, 8]. Вивчення цих механізмів може сприяти вдосконаленню діагностичних та терапевтичних підходів, які враховуватимуть індивідуальні особливості нейромедіаторної регуляції та функціонування HPA-осі.

HPA: її роль у розвитку стресу та ПТСР

Механізми HPA-осі: огляд активації, взаємодії гіпоталамуса*, гіпофіз***а та надниркових залоз**. HPA є центральною системою, що координує фізіологічні реакції організму на стрес [8, 10, 12]. Під дією стресового стимулу гіпоталамус виділяє кортикотропін-рилізинг-гормон (CRH), який стимулює передню частку гіпофіза до секреції адренокортикотропного гормону (АСТН). Останній, потрапляючи у кровообіг, досягає надниркових залоз, де активує синтез кортизолу – основного гормону стресу, що забезпечує фізіологічну мобілізацію ресурсів для відповіді на загрозу (рис. 1).

Кортизол впливає на метаболізм, підвищуючи вміст глюкози для забезпечення енергії, зменшує активність імунної системи,

що тимчасово знижує ризик запалень, і підвищує кров'яний тиск для покращення кровопостачання до органів. За нормальних умов цей механізм дає змогу організму адаптуватися до стресу. Проте при надмірній активації НРА-осі через повторюваний або хронічний стрес, ця адаптаційна система може виснажуватись, що призводить до різноманітних порушень [14–16].

Вплив на розвиток стресових реакцій: роль НРА-осі в фізіологічних і поведінкових реакціях на стрес

Активація НРА-осі викликає різноманітні фізіологічні зміни, спрямовані на швидку мобілізацію енергетичних і фізичних ресурсів. Кортизол та інші гормони стресу діють на органи й тканини, підвищуючи їхню здатність відповідати на загрозу. Це включає підвищення глюконеогенезу в печінці, який збільшує вміст глюкози, необхідної для енергії, зниження функції імунної системи та підвищення артеріального тиску для забезпечення ефективної циркуляції крові [8, 17, 18].

Короткотривала активація НРА-осі забезпечує захисну функцію, але тривалий стрес з надмірним вмістом кортизолу може викликати патологічні зміни. Наприклад, хронічний стрес посилює запальні процеси і сприяє розвитку психопатологічних станів, таких як депресія та тривожні розлади. Це пояснюється надмірним тиском на систему НРА та впливом кортизолу на мозкові структури, мигдалину і гіпокамп, що беруть участь у регуляції емоцій та пам'яті [12, 15].

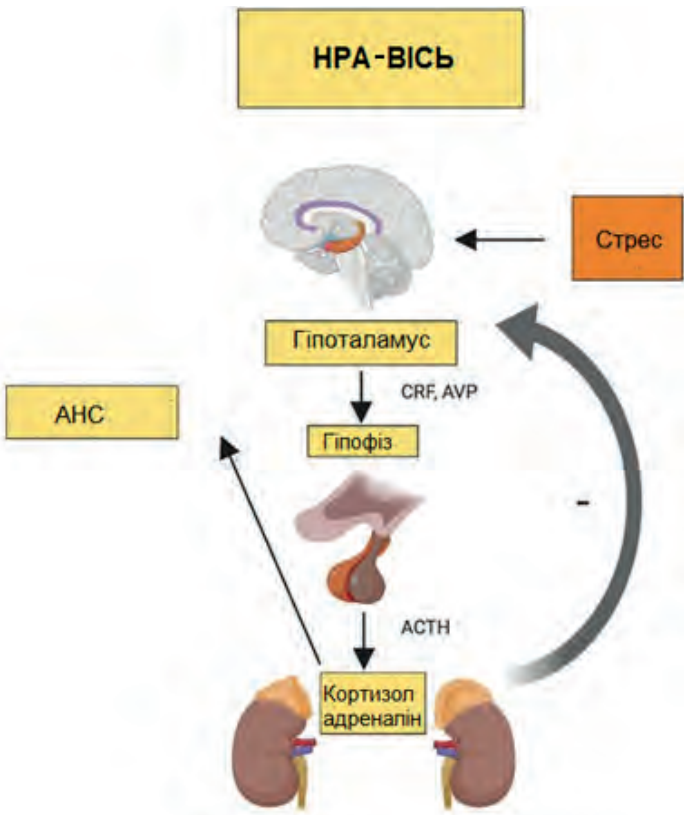


Рис. 1. Вплив стресу на гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову (НРА) вісь. Активація НРА стимулює гіпофіз. Вивільнення адренокортикотропного гормону (АКТГ) призводить до підвищення вмісту кортизолу з надниркових залоз, що впливає на вегетативну нервову систему (ВНС). AVP – аргінін-вазопресин; CRF – кортикотропін-рилізинг фактор; NA – норадреналін. Модифіковано з [13]

HPA-вісь і ПТСР: дисрегуляція HPA-осі у пацієнтів з ПТСР, біологічні маркери та довготривалі ефекти

У пацієнтів з ПТСР часто спостерігається порушення функціонування HPA-осі. Це може проявлятися як у зниженні базового вмісту кортизолу, так і в надмірній реактивності HPA-осі на стресові стимули. Зокрема, деякі дослідження показують, що пацієнти з ПТСР можуть мати знижений вміст кортизолу в спокої, але при цьому демонструють надмірну реакцію на нові стресові фактори, що підсилює тривожність та емоційну нестабільність [16, 19, 20].

Ця дисрегуляція HPA-осі впливає на такі структури мозку, як мигдалина, гіпокамп та префронтальна кора, котрі пов'язані з регуляцією пам'яті та страху. Наприклад, було показано, що порушення в роботі мигдалини й гіпокампа сприятиме появі симптомів ПТСР через підвищену тривожність та негативні спогади, що є ознакою дисбалансу у процесах зберігання й обробки емоційної інформації [10, 15]. Вивчення цих змін у функціонуванні HPA-осі та мозкових структур (мигдалини) допомагає в розробці нових методів діагностики та лікування ПТСР. Вміст кортизолу або зміни в структурі мигдалини можуть слугувати біомаркерами для визначення схильності до цього розладу та підвищеного ризику тривалої когнітивної та емоційної дисфункції [7, 17].

Роль нейромедіаторів у відповідях організму на стрес

Кортизол: механізм дії кортизолу як головного гормону стресу, його вплив на тканини та органи. Кортизол, що є головним гормоном стресу, відіграє ключову роль у регуляції реакції організму на стресові ситуації. Він виділяється надниркovими залозами після активації HPA-осі і відіграє багатофункціональну роль у підтримці гомеостазу. Кортизол діє на різні органи та тканини, забезпечуючи організм необхідною енергією за допомогою стимуляції глюконеогенезу та мобілізації жирних кислот з жирових депо, що підвищує вміст глюкози у крові для негайного використання енергії м›язами і мозком. Цей процес є необхідний для швидкої реакції на загрозу [8, 10].

Кортизол також діє на імунну систему, пригнічуючи запальні процеси, що забезпечує тимчасове послаблення імунної відповіді. Це знижує ризик запальних реакцій в організмі під час стресових ситуацій, коли потрібна швидка мобілізація енергетичних ресурсів. Проте при хронічній дії кортизолу така імуносупресія може призводити до підвищеної схильності до інфекцій та зниження здатності організму боротися із захворюваннями [12, 14].

Адреналін і норадреналін: реакція симпатичної нервової системи на стрес, взаємодія з HPA-віссю. Адреналін та норадреналін є основними нейромедіаторами симпатичної нервової системи, які активно залучаються до стресової відповіді, доповнюючи дію HPA-осі. При впливі стресора ці нейромедіатори швидко вивільняються з надниркових залоз і нервових закінчень, підвищуючи частоту серцевих скорочень, збільшуючи кров›яний тиск і розширюючи дихальні шляхи. Адреналін та норадреналін готують тіло до реакції «бий або біжи», забезпечуючи швидке постачання кисню та поживних речовин до життєво важливих органів [8, 15].

Норадреналін також взаємодіє з HPA-віссю, підвищуючи виділення кортизолу, що підтримує реакцію організму на тривалий стрес. Взаємодія адреналіну та норадреналіну з кортизолом забезпечує швидку і подовжену відповідь на стрес: адреналін і норадреналін відповідають за короткочасні ефекти, такі як підвищена активність серця і мобілізація енергії, тоді як кортизол забезпечує довготривалі адаптаційні процеси [14, 16].

Інші медіатори стресу: залучення дофаміну, серотоніну та інших нейромедіаторів у відповіді на стрес

Дофамін і серотонін, інші важливі нейромедіатори, також беруть участь у регуляції стресових відповідей. Дофамін, що виділяється у відповідь на стресові стимули, відіграє ключову роль у мотивації та поведінковій адаптації, посилюючи прагнення до подолання загроз і оптимізуючи поведінкові реакції. Стресові ситуації можуть збільшити вміст дофаміну у мозкових структурах, таких як мигдалини і префронтальній корі, що відповідає за реакції на загрозу та прийняття рішень [16, 21].

Серотонін також залучається до регуляції настрою та емоційного стану, знижуючи рівень тривожності та стресу. Під впливом стресу вміст серотоніну може знижуватися, що сприяє появі симптомів тривоги та депресії. Це пояснює, чому порушення серотонінергічної системи часто асоціюється з тривожними та депресивними розладами, які можуть виникати у відповідь на хронічний стрес [8, 12].

Таким чином, різні нейромедіатори відіграють взаємопов'язані ролі у відповідях організму на стрес, забезпечуючи як негайні реакції, так і тривалі адаптаційні процеси.

Дисфункція системи регуляції стресу у пацієнтів з ПТСР

Гіперактивність чи гіпоактивність НРА-осі: дослідження щодо зниженого або підвищеного вмісту кортизолу. У пацієнтів з ПТСР спостерігається порушення в роботі НРА. Дослідження показують, що реакція НРА-осі на стрес у цих пацієнтів може відрізнятися, проявляючись як гіперактивністю, так і гіпоактивністю. Наприклад, деякі дослідження відзначають знижений вміст кортизолу у спокої у пацієнтів з ПТСР, що може бути наслідком хронічної активації НРА-осі та її виснаження, коли надмірний стрес призводить до зниження реактивності цієї осі на нові стресові стимули [12, 21].

Зниження базового вмісту кортизолу може відображати адаптацію до тривалого стресу, але може і ускладнювати адекватну відповідь на гострі стресові ситуації, залишаючи організм у стані недостатньої активації для захисту. З іншого боку, у деяких пацієнтів з ПТСР спостерігається підвищена реакція кортизолу на певні стимули, що свідчить про гіперактивність НРА-осі в певних умовах. Така варіативність у реакціях НРА-осі може залежати від індивідуальних характеристик, виду травматичного досвіду і рівня тяжкості ПТСР [8, 14].

Нейромедіаторний дисбаланс: вплив на поведінкові та когнітивні симптоми ПТСР

Одним із ключових факторів у патофізіології ПТСР є зміна вмісту нейромедіаторів, які впливають на когнітивні та емоційні симптоми. Норадреналін та адреналін відіграють головну роль у реакції «бий або біжи», що сприяє переживанню симптомів підвищеної тривожності та гіперзбудженості у пацієнтів з ПТСР. Підвищений вміст норадреналіну в мозку може посилювати когнітивну упередженість щодо травматичних спогадів, що призводить до повторного переживання та уникання [15, 21].

Серотонін та дофамін також мають важливе значення у симптомах ПТСР. Зниження вмісту серотоніну може призводити до депресивних симптомів та підвищеної тривожності, тоді як дисбаланс дофаміну пов'язаний з труднощами в регуляції емоцій та реакцій на стрес. Такий нейромедіаторний дисбаланс може посилювати ще емоційну нестабільність та сприятимуть розвитку патологічних змін у поведінці, таких як надмірна дратівливість і уникання, що є характерними для ПТСР [12, 16].

Генетичні та епігенетичні фактори: вплив на ризик розвитку ПТСР та можливі механізми

Генетичні та епігенетичні механізми значною мірою впливають на індивідуальну схильність до розвитку ПТСР. Дослідження показують, що певні генетичні варіанти, наприклад, гени, які регулюють роботу НРА-осі та вміст кортизолу, можуть підвищувати ризик роз-

витку ПТСР у відповідь на стрес. Наприклад, варіації в гені FKBP5, який впливає на чутливість рецепторів до кортизолу, пов'язані з підвищеною реактивністю до стресу, що збільшує ризик ПТСР [16, 21].

Такі епігенетичні зміни, як метилювання ДНК та модифікація гістонів, також можуть впливати на ризик ПТСР, змінюючи експресію генів, що беруть участь у регуляції реакцій на стрес. Наприклад, тривала активація HPA-осі у відповідь на стрес може спричинити стабільні зміни в генетичній експресії, що збільшує ризик ПТСР, зокрема через епігенетичні модифікації, які впливають на вміст кортизолу та інші аспекти стресової реакції [12, 15].

Таким чином, комбінація генетичних, епігенетичних факторів та нейромедіаторних порушень створює основу для розвитку ПТСР, а дисбаланс у роботі HPA-осі, норадреналін- і серотонінергічної систем є важливими біомаркерами цього розладу.

Провідна роль мигдалини в процесах стресу та ПТСР

Структура та функції мигдалини. Мигдалина (amygdala) є важливим підкорковим центром у медіальній частині скроневої частки мозку, що бере участь у процесах емоційної обробки, зокрема страху та тривоги [21, 22]. Вона складається з кількох комплексів ядер, зокрема базолатерального та центромедіального, які виконують різні функції у реакції на емоційні стимули (рис. 2). Наприклад, базолатеральна мигдалина отримує сенсорну інформацію та сприяє формуванню емоційної компоненти спогадів через механізми пластичності синапсів [14, 23, 24].

Мигдалина і формування страху. Мигдалина є ключовим компонентом у формуванні та зберіганні страху. Через систему умовних рефлексів вона здатна асоціювати нейтральні стимули з загрозою, що є основою для формування та закріплення страху. Після багаторазових асоціацій сигналу та небезпеки нейронні зв›язки в мигдалині зміцнюються, що зумовлює швидку емоційну відповідь навіть на мінімальні натяки на загрозу. Це відіграє важливу роль у розвитку таких патологій, як ПТСР, оскільки міцно закріплені страхові асоціації можуть активуватися навіть після припинення загрози, що призводить до нав'язливих спогадів і уникнення травматичних ситуацій [11, 22].

Дисфункція мигдалини при ПТСР. У пацієнтів з ПТСР спостерігається підвищена активність мигдалини, що призводить до гіперреакції на потенційні загрози, навіть якщо вони не є небезпечними. Така гіперактивність мигдалини зумовлює прояви гіперзбудливості, частіше спрямовані на подразники, що нагадують травматичну подію [21]. У пацієнтів з ПТСР часто спостерігаються структурні та біохімічні зміни у мигдалині, зокрема зменшення її об›єму, що може бути пов'язано із надмірною активацією під час постійних стресових ситуацій [26-32].

Взаємодія мигдалини з іншими структурами мозку. Мигдалина тісно пов'язана з префронтальною корою, яка допомагає регулювати емоційні реакції через когнітивні процеси. Однак при ПТСР регуляція з боку префронтальної кори може бути порушеною, що призводить до втрати контролю над емоційними реакціями, пов'язаними зі страхом [21]. Також важливими є зв'язки між мигдалиною та гіпокампом, який бере участь у формуванні контекстуальних спогадів. У пацієнтів з ПТСР такі спогади можуть спричиняти неконтрольовані реакції на подразники, що асоціюються з травматичними спогадами [28, 33, 34].

Вивчення ролі мигдалини у розвитку ПТСР відкриває нові можливості для розробки методів нейромодуляції, спрямованих на зниження гіперактивності мигдалини. Наприклад, нейробіологічні підходи, такі як нейрофідбек, дають змогу пацієнтам вчитися

контролювати рівень активації мигдалини, що може знижувати інтенсивність симптомів ПТСР. Ці методи можна поєднувати з когнітивно-поведінковими терапіями для досягнення тривалого позитивного ефекту [35, 36].

Вплив гормонів і нейромедіаторів на активність мигдалини у процесах стресу та ПТСР

Мигдалина є ключовою структурою у формуванні страху та регуляції емоційних реакцій, її активність сильно залежить від вмісту різних гормонів і нейромедіаторів. Ці речовини модулюють здатність мигдалини швидко реагувати на загрози, а їхній дисбаланс може сприяти розвитку патологічних станів, таких як ПТСР.

Кортизол*: г*оловний гормон стресу. Кортизол є основним гормоном, що вивільняється під час активації HPA-осі у відповідь на стресові стимули. Він підвищує активність мигдалини, стимулюючи її відповідь на емоційні стимули, зокрема страх. Цей гормон посилює синаптичні зв›язки в нейронних мережах мигдалини, що може підвищувати реакцію на потенційні загрози [11, 37, 38].

При тривалому стресі високий вміст кортизолу може призводити до гіперактивності мигдалини, що сприяє формуванню надмірної тривожності та гіперзбудливості. Однак у пацієнтів з ПТСР спостерігаються як підвищені, так і знижені концентрації кортизолу, що вказує на можливість виснаження HPA-осі після хронічного впливу стресу. Це виснаження може обмежувати здатність організму регулювати відповідь на нові стресові стимули, збільшуючи ризик повторного переживання травматичних спогадів [33, 39, 40].

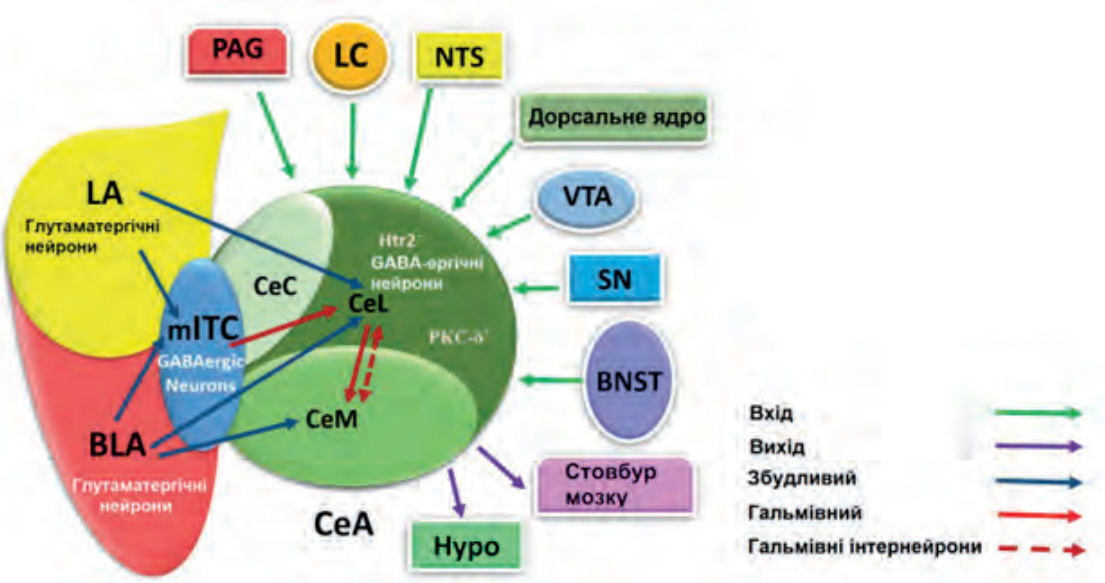


Рис. 2. Схематичне зображення внутрішніх і зовнішніх вхідних/вихідних зв'язків центральної мигдалини (CeA). Латеральна мигдалина (LA) і базолатеральна мигдалина (BLA) впливають на медіальні інтеркальовані клітини (mITC) (які з'єднані з CeA) через свої глутаматергічні нейрони. CeA складається з медіальної частини (CeM), капсулярної частини (CeC) і латеральної частини (CeL), переважно з ГАМК-ергічними нейронами. LA і BLA збуджують CeL і CeL/M відповідно, через глутаматергічні проєкції. CeA отримує внутрішні вхідні сигнали від LA і BLA в амігдалярних контурах. Крім того, вона отримує інформацію з кількох регіонів, таких як періакведуктальна сіра речовина (PAG), блакитне ядро (LC), ядро одиночного шляху (NTS), дорсальне ядро шва, вентральна тегментальна зона (VTA), чорна речовина (SN) і ядро ложі термінальної смуги (BNST). Також CeA, і здебільшого CeM, посилають вихідні сигнали до стовбура мозку та гіпоталамуса. PKC-δ^+, протеїнкіназа C-Δ^+; Htr2a$^+$, серотоніновий рецептор 2a$^+$; PSTN, парасубталамічне ядро; DMC, дорсальний моторний комплекс; Hypo: гіпоталамус. Модифіковано з [25]

Адреналін і норадреналін: медіатори швидкої відповіді на загрозу. Адреналін та норадреналін відіграють важливу роль у миттєвій реакції на стрес. Вони виділяються надниркoвими залозами внаслідок активації симпатичної нервової системи та впливають на мигдалину, підвищуючи її чутливість до загроз. Ці нейромедіатори посилюють стан гіперзбудженості та підвищують увагу до загрозливих сигналів, що забезпечує швидку реакцію «бий або біжи» [24, 41].

Норадреналін також взаємодіє з префронтальною корою, допомагаючи зосередити увагу на важливих емоційних сигналах і стимулюючи вибіркову увагу. Однак при ПТСР ця взаємодія може порушитися, що призведе до надмірної уваги на травматичних спогадах і посилить відчуття тривожності. Наявність високих концентрацій норадреналіну асоціюється з нав'язливими спогадами про травму, оскільки цей медіатор сприяє закріпленню емоційних аспектів спогадів, зберігаючи їх у мигдалині [11, 26, 32, 42, 43].

Серотонін: модулятор емоційної стабільності. Серотонін, нейромедіатор, що бере участь регуляції настрою та тривожності, також впливає на активність мигдалини. Він діє як «гальмівний» медіатор, допомагаючи знизити емоційну реактивність. Знижений вміст серотоніну в мигдалині асоціюється з підвищеною тривожністю і схильністю до агресивної поведінки. Під час стресу він допомагає регулювати емоційні реакції, але при ПТСР його дефіцит може призводити до неконтрольованих емоційних реакцій [22, 44, 45].

У терапії ПТСР використовують інгібіто_ри зворотного захоплення серотоніну (SSRIs), що підвищують його вміст, допомагаючи знизити активність мигдалини і тривожність, пов'язану з травматичними спогадами. Це дає змогу пацієнтам більш ефективно контролювати свої емоції, зменшуючи ризик розвитку гіперзбудливості [33, 45, 46].

Дофамін*: р*оль у мотивації та емоційній реакції. Дофамін впливає на мотивацію, задоволення та активність мигдалини, беручи участь у формуванні емоційної реакції на стресові стимули. У мигдалині дофамінові рецептори допомагають посилювати емоційні асоціації, що сприяє закріпленню травматичних спогадів. Під час травматичних подій активність дофаміну в мигдалині може сприяти формуванню стійких страхових асоціацій, особливо коли травматичний досвід супро—воджується сильними емоційними реакціями [47-49].

Дефіцит дофаміну може знижувати здат–ність до адаптації, тоді як його надлишок сприяти надмірній емоційній реактивності та ризику розвитку нав›язливих спогадів. Це пояснює, чому порушення в системі дофаміну також можуть бути пов'язані з ПТСР та тривожними розладами [11, 26].

Глутамат і ГАМК: баланс між збудженням та гальмуванням. Глутамат та γ-аміномасляна кислота (ГАМК) є основними нейромедіаторами, що регулюють збудження та гальмування в мигдалині. Глутамат сприяє активації нейронів мигдалини, підсилюючи реакцію на загрози, тоді як ГАМК діє як гальмівний медіатор, знижуючи надмірну збудливість. У нормальних умовах баланс між глутаматом і ГАМК дає змогу ефективно регулювати емоційні реакції, але при ПТСР цей баланс порушується, що сприяє гіперзбудженості та тривожності [21, 24, 41].

У пацієнтів з ПТСР часто спостерігається підвищена активність глутамату в мигдалині, що призводить до патологічного посилення емоційних реакцій. Використання медикаментів, що знижують вміст глутамату або підвищують вміст ГАМК, може зменшувати активність мигдалини, знижуючи симптоми ПТСР [22].

Взаємодія з іншими структурами мозку. Мигдалина функціонує у взаємодії з

префронтальною корою та гіпокампом, що забезпечує когнітивний контроль над емоціями. Префронтальна кора, особливо її медіальна частина, допомагає приглушувати активність мигдалини, заспокоюючи емоційні реакції на потенційно небезпечні стимули. Однак у пацієнтів з ПТСР префронтальна кора часто неефективно контролює мигдалину, що ускладнює приглушення страху та тривоги. Гіпокамп, який відповідає за контекстуальну пам›ять, також модулює активність мигдалини, допомагаючи ідентифікувати ситуації, коли емоційна реакція не є доцільною, але порушення у його роботі сприяють виникненню неконтрольованих страхових реакцій [7, 46].

Таким чином, гормони та нейромедіатори здійснюють складний, багаторівневий контроль над мигдалиною, що впливає на формування стресових реакцій та розвиток ПТСР.

Перспективи та напрями майбутніх досліджень

Необхідність подальшого вивчення біологічних маркерів ПТСР. Визначення біологічних маркерів для ПТСР є важливим кроком у розробці точних методів діагностики та прогнозування розвитку розладу. Дослідження HPA-осі та нейромедіаторів, таких як норадреналін, серотонін і кортизол, показали, що ці системи відіграють ключову роль у патофізіології ПТСР. Однак, щоб досягти практичних результатів, слід уточнити, які саме зміни в концентраціях або функціях цих речовин можуть бути надійними біомаркерами, здатними передбачити схильність до ПТСР, його виникнення та важкість перебігу [8, 12].

Новітні дослідження використовують нейровізуалізаційні та молекулярні методи для вивчення структурних і функціональних змін у мозку, а саме: об’єми мигдалини, гіпокампа та префронтальної кори, які пов›язані з процесами пам›яті та страху. Впровадження методів, що дають змогу вимірювати рівні кортизолу та норадреналіну, а також генетичних варіантів і епігенетичних модифікацій у пацієнтів з ПТСР, є перспективним напрямом для дослідження та допомагає ідентифікувати вразливі групи людей з високим ризиком розвитку розладу [14, 16].

Впровадження нових підходів для лікування та профілактики ПТСР з урахуванням нейромедіаторної дисфункції

Розвиток нових підходів до терапії ПТСР потребує врахування дисбалансу нейромедіаторів, який є характерним для цього розладу. Оскільки порушення вмісту серотоніну, дофаміну та норадреналіну значно впливає на емоційні та когнітивні симптоми ПТСР, перспективним напрямом є розробка фармакологічних і нефармакологічних методів, спрямованих на відновлення їхнього балансу. Наприклад, серотонінергічні антидепресанти, а також препарати, що впливають на норадреналін і дофамін, можуть зменшувати тривожні симптоми та підвищувати стабільність настрою, але їхня ефективність і механізми дії потребують подальшого вивчення [8, 16].

Нові підходи до лікування також включають нефармакологічні методи, такі як терапії, що базуються на усвідомленості та когнітивно-поведінкових техніках, які довели свою ефективність у корекції негативних поведінкових моделей. Впровадження комбінованих підходів, що поєднують фармакологічне лікування з психотерапією, може мати синергічний ефект, сприяючи більш глибокому та тривалому відновленню пацієнтів з ПТСР [15].

Можливості корекції HPA-осі та нейромедіаторного балансу

HPA-вісь є центральною ланкою відповіді організму на стрес, тому її корекція може бути перспективним напрямом у терапії ПТСР. Наприклад, регуляція вмісту кортизолу за допомогою глюкокортикоїдних антагоністів чи інших медикаментів допо-

могає зменшити симптоми ПТСР у пацієнтів із гіперактивністю НРА-осі. З іншого боку, при гіпоактивності осі можливе застосування засобів, що стимулюють вироблення кортизолу в потрібних для адаптації дозах [15, 17].

Дослідження також фокусуються на можливості використання генетичних і епігенетичних методів для впливу на експресію генів, що регулюють НРА-вісь. Наприклад, вплив на такі епігенетичні механізми як метилювання генів НРА-осі, може забезпечити нові шляхи корекції дисфункції осі у пацієнтів з ПТСР. Це відкриває можливість індивідуалізованого підходу до лікування, враховуючи унікальні генетичні та епігенетичні особливості кожного пацієнта, що підвищуватиме ефективність терапії та зменшитиме ризик рецидивів [12, 16].

Загалом, майбутні дослідження зосереджуватимуться на покращенні розуміння механізмів НРА-осі, мигдалини та нейромедіаторної регуляції для розробки нових методів діагностики і лікування ПТСР, що сприятиме поліпшенню якості життя пацієнтів та ефективності наданої допомоги.

Подяка. Ця робота була підтримана грантом Національного фонду досліджень України № 2023.05/0023.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

V.A. Gorbachenko, V.V. Olianin, O.O. Lukyanets

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF STRESS AND POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER

Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: gva@biph.kiev.ua

Post-Traumatic Stress Disorder (PTSD) is a complex mental disorder that develops following exposure to severe traumatic events and is characterized by symptoms such as re-experiencing the trauma, heightened anxiety, and hyperarousal. Recent studies indicate that the pathophysiology of PTSD is largely influenced by dysfunction in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and disruptions in neurotransmitter regulation, which affect key brain structures, including the amygdala, hippocampus, and prefrontal cortex. The amygdala plays a central role in the formation and retention of fear, amplifying emotional responses to traumatic stimuli. Stress hormones, such as cortisol, adrenaline, and noradrenaline, in combination with neurotransmitters (serotonin, dopamine, glutamate), modulate amygdala activity, influencing the development of PTSD. This review highlights the importance of investigating biomarkers for early PTSD diagnosis and explores promising therapeutic strategies focused on correcting HPA axis dysfunction and restoring neurotransmitter balance to alleviate PTSD symptoms.

Key words: post-traumatic stress disorder; traumatic events; neurobiology; amygdala; prefrontal cortex; hippocampus; endocrine system; cortisol; stress hormones; fear; memory; biomarkers; neural connections.

REFERENCES

1. Kuznetsov O, Kokorev D, Sustretov O, Kozlov A, Lyamin A, Sheyfer M, et al. Genetic factors of PTSD: The role of single nucleotide variants, gene interactions, and haplotypes in developing preventive measures for PTSD. Psychiatr Danubina. 2023;35(Suppl 2):141-9.
2. Yehuda R, LeDoux J. Response variation following trauma: a translational neuroscience approach to understanding PTSD. Neuron. 2007;56(1):19-32.
3. Pitman RK, Rasmusson AM, Koenen KC, Shin LM, Orr SP, Gilbertson MW, et al. Biological studies of post-traumatic stress disorder. Nature Rev Neurosci. 2012;13(11):769-87.
4. Tyshchenko Yu N, Lukyanetz EA. The role of beta-amyloid in norm and at Alzheimer`s disease. Fiziol Zh. 2020;66(06):88-96.
5. Ganzha vv, lukyanetz ea. Role of mitochondrial disfunction in the development of Alzheimer's disease. Fiziol Zh. 2021;67(1):57-66.
6. Kang JE, Cirrito JR, Dong H, Csernansky JG, Holtzman DM. Acute stress increases interstitial fluid amyloid-beta via corticotropin-releasing factor and neuronal activity. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104(25):10673-8.
7. Shin LM, Liberzon I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. Neuropsychopharmacology. 2010;35(1):169-91.
8. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. Nature Rev Neurosci. 2009;10(6):423-33.
9. McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. Eur J Pharmacol. 2008;583(2-3):174-85.
10. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. Nature Rev Neurosci.

2009;10(6):397-409.
11. Brewin CR, Gregory JD, Lipton M, Burgess N. Intrusive images in psychological disorders: characteristics, neural mechanisms, and treatment implications. Psychol Rev. 2010;117(1):210-32.
12. Gallagher M, Chiba AA. The amygdala and emotion. Current Opin Neurobiol. 1996;6(2):221-7.
13. Ball J, Darby I. Mental health and periodontal and peri-implant diseases. Periodontology 2000. 2022;90(1):106-24.
14. Krabbe S, Gründemann J, Lüthi A. Amygdala inhibitory circuits regulate associative fear conditioning. Biol Psychiatr. 2018;83(10):800-9.
15. Bath KG, Schilit A, Lee FS. Stress effects on BDNF expression: effects of age, sex, and form of stress. Neuroscience. 2013;239:149-56.
16. Young EA, Korszun A. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis in mood disorders. Endocrinol Metab Clin North America. 2002;31(1):63-78.
17. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. Comprehen Physiol. 2016;6(2):603-21.
18. Nosenko ND, Tarasenko LV, Sinitsyn PV, Sachyns'ka OV, Hanzhy I, Reznikov OH. The dynamics of hormonal changes in female rats exposed to chronic stress and androgen excess during pubescence. Fiziol Zh. 2012;58(3):3-8.
19. Davis LL, Hamner MB. Post-traumatic stress disorder: the role of the amygdala and potential therapeutic interventions - a review. Front Psychiatr. 2024;15:1356563.
20. Joseph L. The amygdala and emotion: a view through fear. Amygdala. 2000:289-310.
21. Harnett NG, Goodman AM, Knight DC. PTSD-related neuroimaging abnormalities in brain function, structure, and biochemistry. Exp Neurol. 2020;330:113331.
22. Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. Physiol Rev. 2003;83(3):803-34.
23. Mahan AL, Ressler KJ. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. Trends Neurosci. 2012;35(1):24-35.
24. Toyoda H, Li XY, Wu LJ, Zhao MG, Descalzi G, Chen T, et al. Interplay of amygdala and cingulate plasticity in emotional fear. Neural Plastic. 2011;2011:813749.
25. Izadi MS, Radahmadi M. Overview of the central amygdala role in feeding behaviour. Br J Nutrit. 2021;127(6):953-60.
26. Nutt DJ, Malizia AL. Structural and functional brain changes in posttraumatic stress disorder. J Clin Psychiatr. 2004;65 Suppl 1:11-7.
27. Zilcha-Mano S, Zhu X, Lazarov A, Suarez-Jimenez B, Helpman L, Kim Y, et al. Structural brain features signaling trauma, PTSD, or resilience? A systematic exploration. Depress Anxiety. 2022;39(10-11):695-705.
28. Bremner JD, Southwick SM, Johnson DR, Yehuda R, Charney DS. Childhood physical abuse and combat-related posttraumatic stress disorder in Vietnam veterans. Am J Psychiatr. 1993;150(2):235-9.
29. Davis LL, Hamner MB. Post-traumatic stress disorder: the role of the amygdala and potential therapeutic interventions – a review. Front Psychiatr. 2024;15.
30. Holzel B, Carmody J, Evans K, Hoge EA, Dusek J, Morgan L, et al. Stress reduction correlates with structural changes in the amygdale. Soc Cogn Affect Neurosci. 2009;5:11-7.
31. Yang L, Li H, Meng Y, Shi Y, Ge A, Zhang G, et al. Dynamic changes in brain structure in patients with post-traumatic stress disorder after motor vehicle accident: A voxel-based morphometry-based follow-up study. Front Psychol. 2022;13.
32. Morey RA, Gold AL, LaBar KS, Beall SK, Brown VM, Haswell CC, et al. Amygdala volume changes in posttraumatic stress disorder in a large case-controlled veterans group. Arch Gen Psychiatr. 2012;69(11):1169-78.
33. Bremner JD, Wittbrodt MT. Stress, the brain, and trauma spectrum disorders. Int Rev Neurobiol. 2020;152:1-22.
34. Shin LM, Rauch SL, Pitman RK. Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD. Ann New York Acad Scie. 2006;1071:67-79.
35. Goldway N, Jalon I, Keynan JN, Hellrung L, Horstmann A, Paret C, et al. Feasibility and utility of amygdala neurofeedback. Neurosci Biobehav Rev. 2022;138:104694.
36. Williams LM. Amygdala-guided neurofeedback for major depression. Am J Psychiatr. 2017;174(8):717-8.
37. Vaisvaser S, Lin T, Admon R, Podlipsky I, Greenman Y, Stern N, et al. Neural traces of stress: cortisol related sustained enhancement of amygdala-hippocampal functional connectivity. Front Human Neurosci. 2013;7:313.
38. Sherin JE, Nemeroff CB. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. Dialog Clin Neurosci. 2011;13(3):263-78.
39. Bremner JD. Traumatic stress: effects on the brain. Dialog Clin Neurosci. 2006;8(4):445-61.
40. Bremner JD, Elzinga B, Schmahl C, Vermetten E. Structural and functional plasticity of the human brain in posttraumatic stress disorder. Progr Brain Res. 2008;167:171-86.
41. Bocchio M, Nabavi S, Capogna M. Synaptic plasticity, engrams, and network oscillations in amygdala circuits for storage and retrieval of emotional memories. Neuron. 2017;94(4):731-43.
42. Ben-Zion Z, Korem N, Fine NB, Katz S, Siddhanta M, Funaro MC, et al. Structural neuroimaging of hippocampus and amygdala subregions in posttraumatic stress disorder: A scoping review. Biol Psychiatr Global Open Sci. 2024;4(1):120-34.
43. Morey RA, Gold AL, LaBar KS, Beall SK, Brown VM, Haswell CC, et al. Amygdala volume changes in posttraumatic stress disorder in a large case-controlled veterans group. Arch Gen Psychiatr. 2012;69(11):1169-78.
44. Seo D, Patrick CJ, Kennealy PJ. Role of serotonin and dopamine system interactions in the neurobiology

of impulsive aggression and its comorbidity with other clinical disorders. Aggress Violent Behav. 2008;13(5):383-95.
45. Quah SKL, McIver L, Roberts AC, Santangelo AM. Trait anxiety mediated by amygdala serotonin transporter in the common marmoset. J Neurosci. 2020;40(24):4739-49.
46. Brierley B, Shaw P, David AS. The human amygdala: a systematic review and meta-analysis of volumetric magnetic resonance imaging. Brain Res Brain Res Rev. 2002;39(1):84-105.
47. Šimić G, Tkalčić M, Vukić V, Mulc D, Španić E, Šagud M, et al. Understanding emotions: origins and roles of the amygdala. Biomolecules. 2021;11(6).
48. Steimer T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. Dialog Clin Neurosci. 2002;4(3):231-49.
49. Tyng CM, Amin HU, Saad MNM, Malik AS. The influences of emotion on learning and memory. Front Psychol. 2017;8.

Матеріал надійшов до редакції 25.10.2024

Інститут фізіології
ім. О.О. Богомольця НАН України
вул. БогомольцяЄ, 4 , Київ, 01024
Н.М. Розумній
і співавторам

Шановні автори!

Редакція Фізіологічного журналу підтверджує, що подана на розгляд стаття **"Вплив інгібітора cdk5 росковитину на цитологічний стан культур нейронів гіпокампа щурів"** (Н.М Розумна та співавтори) прийнята до рецензування та за його результатами згідно з чергою публікацій буде запланована до друку в другому номері Фізіологічного журналу за 2025 рік з оприлюдненням на офіційному сайті https://fz.kiev.ua.

Фізіологічний журнал (ISSN 2522-9028, eISSN 2522-9036) внесений до переліку фахових видань МОН України в галузі медичних та біологічних наук за категорією А, індексується у Scopus та віднесений до квартилю Q4.

Виконавчий керуючий редактор Любов ЛИТВИН

тел. (044) 253 07 45

КАНЦЕЛЯРІЯ

10.12.2024р.

УДК 576.3:612.8:615.277

ВПЛИВ ІНГІБІТОРА CDK5 РОСКОВИТИНУ НА ЦИТОЛОГІЧНИЙ СТАН КУЛЬТУР НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПА ЩУРІВ

Н.М. Розумна, В.В. Ганжа, О.О. Лук'янець

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: elena@biph.kiev.ua nata_nr@biph.kiev.ua

У цьому дослідженні вивчено вплив росковитину (Rosc), селективного інгібітора кінази залежної від цикліна 5 (CDK5), на життєздатність культур нейронів гіпокампа з акцентом на його потенційне застосування у лікуванні нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера. Результати показують, що Rosc має мінімальний вплив на життєздатність клітин за нормальних умов, викликаючи лише незначне збільшення апоптозу та некрозу, що свідчить про низьку токсичність препарату. CDK5, нейрон-специфічна кіназа, регульована білками, такими як p35/p39, а не циклінами, відіграє важливу роль у підтримці структури та функції нейронів, включаючи синаптичну пластичність і цілісність цитоскелету. На відміну від CDK2 і CDK9, які беруть участь у регуляції клітинного циклу та транскрипції, CDK5 функціонує переважно в постмітотичних нейронах. Rosc діє шляхом інгібування CDK5, знижуючи патологічну фосфориляцію тау-протеїнів, що є характерною ознакою хвороби Альцгеймера. Цей механізм вказує на його потенціал як нейропротекторного агента. Хоча Rosc також інгібує CDK2 і CDK9, його дія на CDK5 є особливо важливою в контексті нейродегенеративних захворювань. Дослідження підкреслює важливість оцінки ефекту Rosc в клітинній моделі хвороби Альцгеймера для визначення його здатності протидіяти нейродегенерації, викликаній амілоїдом-бета. Ці результати підтверджують терапевтичний потенціал інгібіторів CDK5 і створюють основу для подальших досліджень їхньої ролі в пом'якшенні нейродегенеративних процесів.

Ключові слова: росковитин, CDK5, нейродегенеративні захворювання, хвороба Альцгеймера, культура нейронів, гіпокамп, апоптоз, некроз, амілоїд-бета, нейропротекція.

Вступ

Нейродегенеративні захворювання є одними з найважливіших медико-біологічних проблем сучасності через їх значний вплив на якість життя пацієнтів та значний соціально-економічний тягар. Серед них хвороба Альцгеймера займає центральне місце, будучи найпоширенішою формою деменції у світі (1-3). За даними ВООЗ, кількість людей із цим захворюванням стрімко зростає, і, за прогнозами, до 2050 року вона може перевищити 150 мільйонів осіб (4). Попри значний прогрес у розумінні механізмів нейродегенерації, ефективні методи лікування хвороби Альцгеймера залишаються обмеженими.

Одним із ключових механізмів, що сприяють розвитку нейродегенеративних змін, є дисрегуляція кінази залежної від циклічного аденозинмонофосфату 5 (CDK5). Ця серин/треонінова кіназа, зазвичай активована в нейронах, відіграє важливу роль у підтримці нормального функціонування клітин нервової системи, зокрема регуляції процесів синаптичної пластичності, транспорту молекул, і функціонування цитоскелету (5, 6). Однак, надмірна активація CDK5, зумовлена патологічними факторами, такими як порушення активації його регуляторів (наприклад, p35/p25), може призводити до каскаду змін, що сприяють апоптозу, некрозу та загибелі нейронів. Зокрема, вона асоціюється з накопиченням тау-протеїнів, які утворюють нейрофібрилярні клубки — один із патологічних ознак хвороби Альцгеймера (7-9).

Розробка фармакологічних агентів, які здатні впливати на активність CDK5, є перспективним напрямком у терапії нейродегенеративних захворювань. Одним із таких агентів є росковитин (seliciclib, Rosc) — селективний інгібітор CDK5, який продемонстрував ефективність у зниженні

рівня фосфорилювання тау-протеїнів та нейропротекцію в різних експериментальних моделях (10, 11). Крім того, Rosc також впливає на інші CDK, зокрема CDK2 і CDK9, що відкриває перспективи для його застосування в онкології та інших галузях медицини (12, 13). Дослідження за участю Rosc демонструють його здатність зменшувати прояви запалення, оксидативного стресу та підтримувати виживаність нейронів (14-16). Значний інтерес викликає вивчення Rosc на модельних системах, таких як культура нейронів гіпокампа, яка є зручною платформою для оцінки механізмів впливу фармакологічних агентів на життєздатність клітин та апоптотичні процеси. Оскільки гіпокамп відіграє ключову роль у процесах пам'яті та навчання, а його ураження є характерною рисою хвороби Альцгеймера, використання такої моделі дозволяє отримати цінні дані для подальшої розробки терапевтичних підходів.

Таким чином, актуальність дослідження Rosc у контексті його впливу на цитологічний стан культур нейронів гіпокампа щурів полягає у поглибленні розуміння його механізмів дії, що сприятиме розробці нових підходів до терапії нейродегенеративних захворювань. У подальшому планується дослідити вплив Rosc на клітинній моделі хвороби Альцгеймера для оцінки його ефективності.

Методика

Усі експериментальні процедури проводилися відповідно до Директиви Європейської комісії (86/609/EEC) та етичних рекомендацій Міжнародної асоціації з вивчення болю, а також були схвалені Локальним комітетом з етики тварин Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця (Київ, Україна). Усі зусилля спрямовувалися на мінімізацію кількості використаних тварин і їхніх страждань.

Дослідження проводилися на культурах нейронів гіпокампа щурів, використовуючи стандартну методику (17, 18). Було використано 12 новонароджених щурів лінії Wistar, яких декапітували, після чого гіпокамп виділяли у стерильній холодній чашці Петрі. Гіпокамп розрізали на кілька частин і переносили на 10 хвилин у теплий (36°C) розчин ферменту з 0,25%

трипсином (Sigma-Aldrich). Після цього тканину кілька разів промивали холодним живильним середовищем і подрібнювали до однорідної суспензії. Кількість клітин у суспензії регулювали до щільності 3×10^5 клітин/мл, а 200 мкл цієї суспензії наносили на попередньо оброблені полілізином і ламініном скельця (20 × 20 мм). Через 2 години інкубації при 37°C у середовище додавали живильну суміш. Нейрони культивували 11–13 днів за температури 37°C і 5% CO_2 .

Для дослідження впливу Rosc на культивовані нейрони гіпокампу використовували росковитин (Sigma-Aldrich) у концентрації 10 та 20 мкМ, який додавали в чашки петрі і інкубували клітини 24 години. Rosc розчиняли у диметилсульфоксиді (DMSO), концентрація якого не перевищувала 0,5%. Попередні дослідження показали, що така концентрація DMSO не впливає на параметри клітин у культурі.

Типи клітинної загибелі оцінювали методом подвійного фарбування Hoechst 33258 (Sigma-Aldrich) та пропідіум йодидом (PI, Sigma-Aldrich). Hoechst 33258 проникає через мембрани неушкоджених клітин і фарбує ядерний хроматин, дозволяючи ідентифікувати нормальні та апоптотично змінені клітини. PI фарбує лише клітини з пошкодженою мембраною, що свідчить про некроз.

Для отримання флуоресцентних зображень та підрахунку нейронів у дослідженнях використовували конфокальний лазерний скануючий мікроскоп FV1000-BX61WI та програмне забезпечення FluoView «Olympus» (Японія) або Image J (National Institutes of Health, США). Довжини хвиль збуджуючого лазерного випромінення становили 352/405 нм (при використанні Hoechst 33258) та 543 нм (при використанні PI) відповідно. Підрахунок нейронів проводили в п'яти просторово віддалених ділянках кожного препарату. Нейрони відрізняли від гліальних клітин за допомогою фазового контрасту. Обсяг вибірок становив від 100 до 300 клітин; в їх межах підраховували кількості живих, апоптотичних і некротичних одиниць та розраховували нормовані значення відповідних показників.

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики за допомогою програми Origin 8.0 («Microcall Inc.», США). Результати характеризувалися нормальним розподілом, міжгрупове порівняння даних виконували з використанням дисперсійного аналізу ANOVA.

Результати та їх обговорення

Наші дослідження були присвячені дослідженю ефектів Rosc на життєздатність нейронів культури гіпокампа. З даною метою, було проведено три серії експериментів: перша – контрольна; друга - введення Rosc в концентрації 10 мкМ за 24 години до проведення вимірювання; третя - введення Rosc в концентрації 20 мкМ за 24 години до проведення вимірювання. Після цього використовували подвійне забарвлювання клітин двома барвниками, що зв'язуються з ДНК (Hoechst та PI. За допомогою конфокальної лазерної скануючої мікроскопії отримували флуоресцентні зображення і проводили підрахунок клітин. Загальна кількість клітин, яку було проаналізовано, становить 1879 клітин (контроль n=529, росковитин 10 мкМ n=648, росковитин 20 мкМ n=702).

Цитологічно інтактні клітини

У контрольній групі переважна більшість клітин залишалася цитологічно інтактною, їх частка становила 89%, що свідчить про здоровий стан культури нейронів гіпокампа. При додаванні Rosc у концентрації 10 мкМ кількість інтактних клітин незначно зменшилася до 86**%**, що вказує на слабкий вплив агента. Зі збільшенням концентрації до 20 мкМ спостерігалося подальше незначне зменшення кількості інтактних клітин до 82**%**, рис.1 Ці результати свідчать, що Rosc сам по собі має обмежений вплив на життєздатність клітин у культурі.

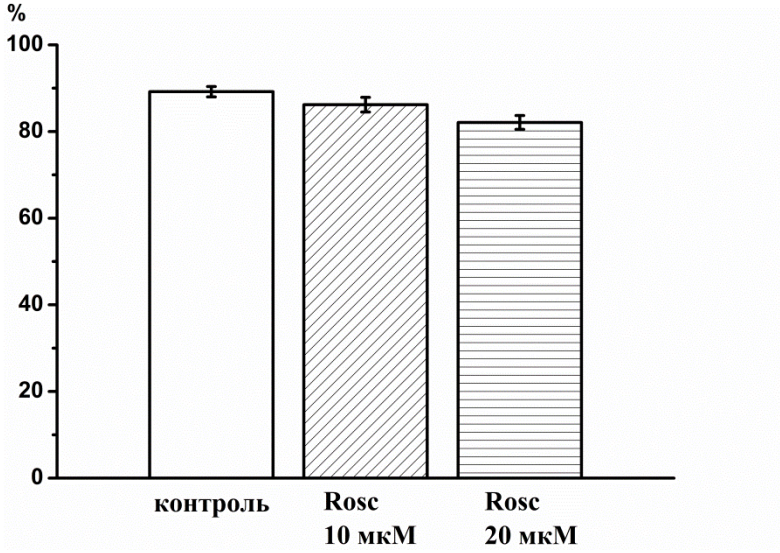


Рис.1. Діаграми середніх значень відносних кількостей цитологічно інтактних клітин у культурі нейронів гіпокампа щурів в контролі та при додаванні Rosc у концентраціх 10 мкМ та 20 мкМ. Загальна кількість клітин: контроль n=452, росковитин 10 мкМ n=579, росковитин 20 мкМ n=585.

Клітини з ознаками апоптозу

У контрольній групі кількість клітин з ознаками апоптозу залишалася низькою і становила 8**%**, що свідчить про мінімальний рівень програмованої клітинної смерті за стандартних умов. Як демонструє рис.2, при концентрації Rosc 10 мкМ частка апоптотичних клітин зросла до 9**%**, а при концентрації 20 мкМ до 10**%**, що демонструє слабку індукцію апоптозу препаратом.

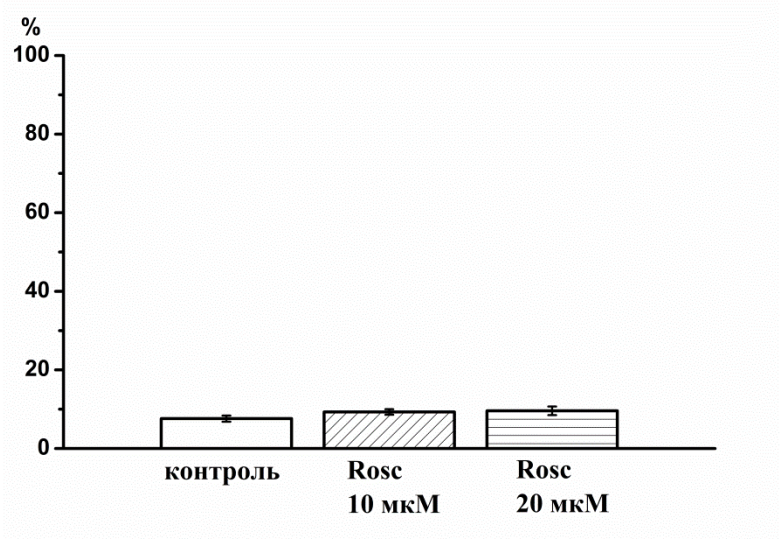


Рис.2. Діаграми середніх значень відносних кількостей клітин з ознаками апоптозу у культурі нейронів гіпокампа щурів в контролі та при додаванні Rosc

у концентраціх 10 мкМ та 20 мкМ. Загальна кількість клітин: контроль n=51, росковитин 10 мкМ n=48, росковитин 20 мкМ n=63.

Клітини з ознаками некрозу

Кількість некротичних клітин у контрольній групі була мінімальною і становила менше 3**%**, що свідчить про відсутність значного ушкодження клітин (рис.3). При концентрації Rosc 10 мкМ кількість некротичних клітин залишалася низькою, становлячи близько 4**%**, а при концентрації 20 мкМ цей показник зріс лише до 8**%**, що свідчить про слабкий токсичний вплив препарату.

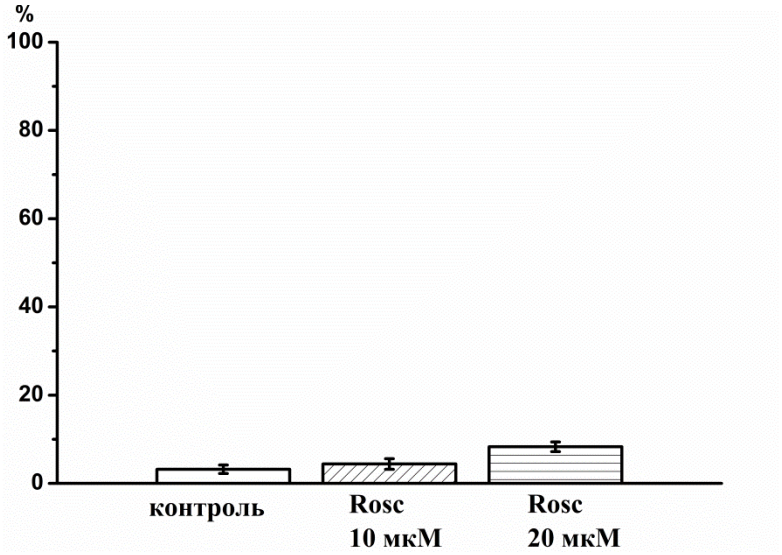


Рис.3. Діаграми середніх значень відносних кількостей клітин у культурі нейронів гіпокампа щурів в контролі та при додавання Rosc у концентраціх 10 мкМ та 20 мкМ. Загальна кількість клітин: контроль n=26, росковитин 10 мкМ n=21, росковитин 20 мкМ n=54.

Результати проведеного дослідження показали, що Rosc має обмежений вплив на життєздатність нейронів гіпокампа за нормальних умов культивування. Однак важливим є те, що Rosc може бути ефективним інструментом для вивчення і моделювання механізмів апоптозу та нейрональної загибелі при нейродегенеративних захворюваннях, зокрема хворобі Альцгеймера. Ці висновки дозволяють ширше розглянути роль CDK5, яка є ключовою мішенню для Rosc, та перспективи його застосування у терапії.

CDK5 (цикло-залежна кіназа 5) є серин/треоніновою кіназою, яка відіграє центральну роль у регуляції нормального функціонування нейронів. На відміну від інших CDK, таких як CDK2 та CDK9, активність CDK5 не контролюється клітинним циклом, оскільки вона функціонує переважно у постмітотичних клітинах, зокрема у нейронах (5, 19). Основна особливість CDK5 полягає у її активації через зв'язування з нейрон-специфічними білками p35 або p39, а не циклінами, як у випадку CDK2 та CDK9 (20). Ця унікальність забезпечує CDK5 важливу роль у регуляції синаптичної пластичності, транспорту аксонів, нейрональної міграції та підтримки цитоскелету.

CDK2 та CDK9, навпаки, є ключовими регуляторами клітинного циклу та транскрипції. CDK2 бере участь у прогресії через фази S і G2/M клітинного циклу, тоді як CDK9 функціонує у комплексі з циклінами T, забезпечуючи контроль транскрипції шляхом фосфорилювання РНК-полімерази II (21). Таким чином, CDK5 має нейрон-специфічну функцію, тоді як CDK2 і CDK9 виконують універсальні функції в проліферативних клітинах.

Блокатори CDK, такі як Rosc, діють шляхом конкурентного зв'язування з активним центром кіназ, що пригнічує їх активність. Rosc є селективним інгібітором CDK5, але також впливає на CDK2 і CDK9, що розширює його терапевтичний потенціал (10). Блокування CDK5 за допомогою Rosc знижує патологічне фосфорилювання тау-протеїнів, що є однією з ключових ознак нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера (7, 14). Окрім цього, інгібітори CDK можуть впливати на процеси апоптозу, знижуючи рівень окислювального стресу та запалення в клітинах (16, 22).

Дисрегуляція CDK5, зокрема внаслідок утворення p25 (тривалої форми p35), спричиняє патологічні процеси, які лежать в основі нейродегенеративних змін у нейронах. Надмірна активація CDK5 асоціюється з накопиченням тау-протеїнів, нейрофібрилярними клубками, порушенням цитоскелету та індукцією апоптозу (8). Таким чином, селективне блокування CDK5 представляє перспективну стратегію терапії таких захворювань, як хвороба Альцгеймера, паркінсонізм і боковий аміотрофічний склероз (23-25).

Попередні дослідження показали, що Rosc ефективно знижує патологічні прояви в клітинних і тваринних моделях нейродегенеративних хвороб (26-29). Крім того, його здатність впливати на кілька CDK робить його цікавим агентом для мультимодального лікування. Водночас важливим є зниження побічних ефектів, пов'язаних із пригніченням CDK2 та CDK9, шляхом розробки більш селективних інгібіторів.

У подальшому ми плануємо дослідити вплив Rosc на клітинній моделі хвороби Альцгеймера. Для цього буде використовуватися культура нейронів гіпокампа, інкубована з Aβ 1-42 амілоїдом, що дозволить моделювати основні патологічні процеси, характерні для цього захворювання. Особливу увагу буде приділено оцінці змін у життєздатності клітин, рівня апоптозу і некрозу під впливом Rosc. Це дослідження дозволить краще зрозуміти механізми дії препарату та його потенціал як нейропротекторного агента для терапії нейродегенеративних захворювань.

Висновки

Результати демонструють, що Rosc сам по собі має обмежений вплив на життєздатність нейронів гіпокампа: частка інтактних клітин залишається високою, тоді як рівні апоптозу та некрозу зростають незначно. Це свідчить про низьку токсичність препарату за даних умов. Однак, ці дані створюють основу для подальшого аналізу впливу Rosc на моделі нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера. Порівняння ефекту препарату в умовах здорової культури та моделі Альцгеймера може розкрити його потенціал у зниженні нейрональної загибелі та підтриманні клітинної життєздатності, що є ключовим для розробки терапевтичних стратегій.

Подяка. Ця робота була підтримана грантом Національного фонду досліджень України № 2023.05/0023.

The Effect of the CDK5 Inhibitor Roscovitine on the Cytological State of Rat Hippocampal Neuron Cultures

N.M. Rozumna, V.V. Hanzha, O.O. Lukyanets

Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: elena@biph.kiev.ua nata_nr@biph.kiev.ua

This study explores the effects of roscovitine, a selective inhibitor of cyclin-dependent kinase 5 (CDK5), on the viability of hippocampal neuron cultures, with a focus on its potential applications in treating neurodegenerative diseases, particularly Alzheimer's disease. The results indicate that roscovitine has a minimal impact on cell viability under normal conditions, with only a slight increase in apoptosis and necrosis, suggesting low inherent toxicity. CDK5, a neuron-specific kinase regulated by proteins such as p35/p39 rather than cyclins, plays a critical role in maintaining neuronal structure and function, including synaptic plasticity and cytoskeletal integrity. Unlike CDK2 and CDK9, which are primarily involved in cell cycle regulation and transcription, CDK5's activity is primarily associated with postmitotic neurons. Roscovitine acts by inhibiting CDK5, reducing pathological tau protein phosphorylation, which is a hallmark of Alzheimer's disease. This mechanism suggests its potential as a neuroprotective agent. While roscovitine also inhibits CDK2 and CDK9, its effects on CDK5 are particularly relevant for neurodegenerative contexts. The study underscores the importance of evaluating roscovitine in a cellular model of Alzheimer's disease to assess its efficacy in counteracting amyloid-beta-induced neurodegeneration. These findings support the therapeutic potential of CDK5 inhibitors and provide a foundation for future research into their role in mitigating neurodegenerative processes.

Keywords: roscovitine, CDK5, neurodegenerative diseases, Alzheimer's disease, neuron culture, hippocampus, apoptosis, necrosis, amyloid-beta, neuroprotection.

REFERENCES

1. Ganzha VV, Lukyanetz EA. ROLE OF MITOCHONDRIAL DISFUNCTION IN THE DEVELOPMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE. Fiziologichnyi Zhurnal. 2021;67(1):57-66.
2. Tyshchenko Yu N, Lukyanetz EA. THE ROLE OF BETA-AMYLOID IN NORM AND AT ALZHEIMER`S DISEASE. Fiziologichnyi Zhurnal. 2020;66(06):88-96.
3. Zhang Y, Chen H, Li R, Sterling K, Song W. Amyloid β-based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2023;8(1):248.
4. WHO. Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025 2017 [Available from: https://www.who.int/publications/i/item/global-action-plan-on-the-public-health-response-to-dementia-2017---2025.
5. Cheung ZH, Ip NY. Cdk5: a multifaceted kinase in neurodegenerative diseases. Trends in cell biology. 2012;22(3):169-75.
6. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). Molecular medicine reports. 2019;20(2):1479-87.
7. Cruz JC, Tseng HC, Goldman JA, Shih H, Tsai LH. Aberrant Cdk5 activation by p25 triggers pathological events leading to neurodegeneration and neurofibrillary tangles. Neuron. 2003;40(3):471-83.
8. Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes P, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. Nature. 1999;402(6762):615-22.
9. Martin SP, Leeman-Markowski BA. Proposed mechanisms of tau: relationships to traumatic brain injury, Alzheimer's disease, and epilepsy. Frontiers in Neurology. 2024;14.
10. Meijer L, Borgne A, Mulner O, Chong JP, Blow JJ, Inagaki N, et al. Biochemical and cellular effects of roscovitine, a potent and selective inhibitor of the cyclin-dependent kinases cdc2, cdk2 and cdk5. European journal of biochemistry. 1997;243(1-2):527-36.
11. Hirokawa T, Horie, T., Fukiyama, Y., Mimura, M., Takai, S., Kida, T., & Oku, H. Roscovitine, a Cyclin-Dependent Kinase-5 Inhibitor, Decreases Phosphorylated Tau Formation and Death of Retinal Ganglion Cells of Rats after Optic Nerve Crush. International journal of molecular sciences. 2021;22(15):8096.
12. Sánchez-Martínez C, Gelbert LM, Lallena MJ, de Dios A. Cyclin dependent kinase (CDK) inhibitors as anticancer drugs. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2015;25(17):3420-35.
13. Sava GP, Fan H, Coombes RC, Buluwela L, Ali S. CDK7 inhibitors as anticancer drugs. Cancer metastasis reviews. 2020;39(3):805-23.
14. Tian Z, Feng B, Wang X-Q, Tian J. Focusing on cyclin-dependent kinases 5: A potential target for neurological disorders. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2022;15.
15. Lui A, Vanleuven J, Perekopskiy D, Liu D, Xu D, Alzayat O, et al. FDA-Approved Kinase Inhibitors in Preclinical and Clinical Trials for Neurological Disorders. Pharmaceuticals. 2022;15(12):1546.
16. Mushtaq G, Greig NH, Anwar F, Al-Abbasi FA, Zamzami MA, Al-Talhi HA, et al. Neuroprotective Mechanisms Mediated by CDK5 Inhibition. Current pharmaceutical design. 2016;22(5):527-34.
17. Rozumna NM, Hanzha VV, Lukyanetz EA. Memantine protects the cultured rat hippocampal neurons treated by NMDA and amyloid β1–42. Frontiers in Neuroscience. 2023;17.
18. Hanzha VV, Rozumna NM, Kravenska YV, Spivak MY, Lukyanetz EA. The effect of cerium dioxide nanoparticles on the viability of hippocampal neurons in Alzheimer's disease modeling. Frontiers in Cellular Neuroscience. 2023;17.
19. Dhavan R, Tsai L-H. A decade of CDK5. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001;2(10):749-59.
20. Hawasli AH, Bibb JA. Alternative roles for Cdk5 in learning and synaptic plasticity. Biotechnology journal. 2007;2(8):941-8.
21. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. Nature reviews Cancer. 2009;9(3):153-66.

22. Merce P, Anna MC, Ester V, Clemens A, Susana Garcia de A, Daniel A, et al. Inhibitors of Cyclin-Dependent Kinases: Potential Drugs for the Treatment of Neurodegenerative Disorders? Current Medicinal Chemistry - Central Nervous System Agents. 2005;5(2):101-9.
23. Diaz-Padilla I, Siu LL, Duran I. Cyclin-dependent kinase inhibitors as potential targeted anticancer agents. Investigational new drugs. 2009;27(6):586-94.
24. Law ME, Corsino PE, Narayan S, Law BK. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors as Anticancer Therapeutics. Molecular pharmacology. 2015;88(5):846-52.
25. Yang W, Xu QQ, Yuan Q, Xian YF, Lin ZX. Sulforaphene, a CDK5 Inhibitor, attenuates cognitive deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via reducing Aβ Deposition, tau hyperphosphorylation and synaptic dysfunction. International immunopharmacology. 2023;114:109504.
26. Hilton GD, Stoica BA, Byrnes KR, Faden AI. Roscovitine Reduces Neuronal Loss, Glial Activation, and Neurologic Deficits after Brain Trauma. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2008;28(11):1845-59.
27. Le Roy L, Letondor A, Le Roux C, Amara A, Timsit S. Cellular and Molecular Mechanisms of R/S-Roscovitine and CDKs Related Inhibition under Both Focal and Global Cerebral Ischemia: A Focus on Neurovascular Unit and Immune Cells. Cells. 2021;10(1):104.
28. Rousselet E, Létondor A, Menn B, Courbebaisse Y, Quillé M-L, Timsit S. Sustained (S)-roscovitine delivery promotes neuroprotection associated with functional recovery and decrease in brain edema in a randomized blind focal cerebral ischemia study. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2017;38(6):1070-84.
29. Liu J, Yang J, Xu Y, Guo G, Cai L, Wu H, et al. Roscovitine, a CDK5 Inhibitor, Alleviates Sevoflurane-Induced Cognitive Dysfunction via Regulation Tau/GSK3β and ERK/PPARγ/CREB Signaling. Cellular Physiology and Biochemistry. 2017;44(2):423-35.

ІНСУЛІН-ІНДУКОВАНІ ЗМІНИ ПАРАМЕТРІВ КОРОТКОЧАСНОЇ ПЛАСТИЧНОСТІ ГЛУТАМАТЕРГІЧНОЇ НЕЙРОПЕРЕДАЧІ В КУЛЬТИВОВАНИХ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПУ ПРИ ГІПОІНСУЛІНЕМІЇ.

М. С. Шипшина[1], С. А. Федулова[1], М.С. Веселовький[1].

[1] Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ; shypshyna.mariia@gmail.com

Гіпоінсулінемія є синдромом цукрового діабету, який реалізується при зменшені продукції інсуліну при діабеті 1-го типу та при діабеті 2-го типу внаслідок виснаження нейрогуморальних механізмів з компенсації гіперглікемії. Відомо, що пацієнти з ожирінням і цукровим діабетом 2-го типу мають нижчі концентрації інсуліну в спинномозковій рідині. Ожиріння та запалення можуть погіршити транспорт інсуліну в мозок. Асоційоване з гіпоінсулінемією пригнічення інсулін-залежних сигнальних каскадів сприяє розвитку нейродегенеративних процесів в головному мозку і підвищує ризики розвитку деменції. Наші попередні результати показали, що гіпоінсулінемія послаблює синаптичну активність в нейронних мережах культивованих

нейронів гіпокампа. При нормоінсулінемії додатковий інсулін посилює короткочасну пластичність у гіпокампальних синапсах, стимулюючи вивільнення в них глутамату. Отже, з'ясування впливу інсуліну на модуляцію синаптичної пластичності при гіпоінсулінемії залишаються актуальним та перспективним. Ми використовували метод петч-клемп у конфігурації «ціла клітина» та метод локальної позаклітинної електричної стимуляції пресинаптичного аксона при реєстрації викликаних глутаматергічних постсинаптичних струмів (eEPSC), щоб дослідити вплив інсуліну (100 нМ) на пластичність при парній стимуляції в синапсах культивованих нейронах гіпокампа при гіпоінсулінемії (4 доби інсулінової деривації). Аналізували значення коефіцієнтів парної стимуляції (PPR), коефіцієнтів варіації амплітуд eEPSC (CV); ймовірність вивільнення глутамату (p) і значення квантового вмісту (m) розраховували з використанням простої біноміальної моделі. При гіпоінсулінемії додатковий інсулін не впливав на пластичність в синапсах з полегшенням при парній стимуляції (PPF; n=17): PPR, CV2/CV1, біноміальні параметри p та m не змінювалися. Однак, у синапсах з депресією при парній стимуляції (PPD; n=16) інсулін підвищував PPR (з 0,77±0,005 до 0,97±0,006; P<0,005) і знижував CV2/CV1 (з 1,67±0,02 до 1,3±0,01; P<0,05), що може свідчити про збільшення ймовірності синаптичного вивільнення, оскільки значення p збільшилося в 1,3 рази, а m не змінилося. Паралельно ми порівнювали 1-й eEPSC у групах PPF та PPD: середні значення не відрізнялися [M (PPF) = –131,5 ± 32,2 пА; M (PPD) = –100,1 ± 48,0 пА; p = 0,6, непарний t-критерій Стьюдента]. Після аплікації інсуліну в групі PPD при гіпоінсулінемії значення PPR не відрізнялися від таких, виміряних в умовах нормоінсулінемії (p > 0,05; двосторонній ANOVA), тоді як початкові значення PPR у нормоінсулінемії та в підгрупі PPD гіпоінсулінемії були різними (p <0,05; двосторонній ANOVA). Наші результати показали різноспрямований вплив інсуліну на короткочасну пластичність в синапсах гіпокампу в залежності від базової ймовірності вивільнення в них глутамату. При гіпоінсулінемії доданий інсулін відновлював деякі параметри пластичності в синапсах з PPD до нормоінсулінемічного рівня (в тому числі за рахунок збільшення ймовірності вивільнення глутамату), але не впливає на синапси з PPF через їхню ймовірну інсулінорезистентність. Отримані дані вказують на неоднорідність синапсів гіпокампу за їх чутливістю до дефіциту інсуліну.

Ключові слова: гіпоінсулінемія, синаптична пластичність, інсулін, постсинаптичні струми.
Робота була виконана за підтримки гранту Національного фонду досліджень України №2023.05/0023.

PROTEIN KINASE C MEDIATES HYPOXIA-INDUCED EFFECTS ON EXCITATORY NEUROTRANSMISSION IN THE VISUAL RETINOCOLLICULAR PATHWAY IN VITRO

H. Dumanska, N. Veselovsky[1]

[1] *Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv*
doomannya@gmail.com

Hypoxia is one of the main accompanying factors in numerous diseases. Retinocollicular projections

play an important role in visual selective attention and subsequent appropriate behavior formation, as they transmit primary sensory inputs. Lesions of neurotransmission in these projections lead to visual attention and perception deficits and may result in several neurological and psychiatric disorders. Therefore, identifying processes and mechanisms that mediate the early stage of hypoxic injury of retinocollicular neurotransmission will give us a better understanding of the primary cellular basis of such deficits and provide valuable insights into intervening in the dysfunctions and preventing their progression. We use an originally designed in vitro model of the retinocollicular pathway – the coculture of dissociated retinal cells and superficial superior colliculus (SSC) neurons. Using the paired patch-clamp technique and method of fast local superfusion, we recorded pharmacologically isolated NMDA and AMPA neurotransmission in cocultivated pairs of rat retinal ganglion cells and superficial superior colliculus neurons under normoxic and hypoxic conditions. Spontaneous activity was recorded in the absence of presynaptic stimulation. Previously, we have demonstrated that short-term hypoxia induces a significant long-term shift in the excitatory-inhibitory balance toward excitation in retinocollicular neurotransmission. Here, we sought to obtain insight into the mechanisms of hypoxia-induced long-term potentiation (LTP) of NMDA and temporary suppression of AMPA retinocollicular neurotransmission and the role of the protein kinase C (PKC) signaling pathway in these. We tested the involvement of the PKC by adding the potent and selective inhibitor chelerythrine chloride (ChC, 5 μM). We observed that hypoxia-induced LTP of NMDA neurotransmission is associated with the shortening of current kinetics. We also found that the PKC signaling pathway mediates hypoxia-induced LTP and associated shortening of NMDA currents. The ChC completely blocked the induction of LTP by hypoxia and associated kinetic changes. Contrary effects of ChC were observed with already-induced LTP. The ChC led to the reversal of LTP to the initial synaptic strength, but the current kinetics remain irreversibly shortened. We also demonstrated that the presence of ChC completely blocked hypoxia-induced suppression of AMPA retinocollicular neurotransmission and found that ChC eliminated hypoxia-induced decrease in the occurrence frequency of spontaneous AMPA events. The obtained results reflect that hypoxia-induced effects on NMDA and AMPA neurotransmission are mediated by PKC, and strengthen the idea that ChC might be a promising agent for the prevention and treatment of hypoxic injuries retinocollicular neurotransmission.

Acknowledgments: This work was supported by a grant from the National Research Foundation of Ukraine №2023.05/0023.

Key words: retinocollicular pathway, hypoxia, synaptic transmission, NMDA, AMPA, chelerythrine chloride, protein kinase C.

ЕФЕКТ КАНАБІДІОЛУ НА ЕПІЛЕПТИФОРМНУ АКТИВНІСТЬ ПІРАМІДНИХ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПА В РІЗНИХ МОДЕЛЯХ ЕПІЛЕПСІЇ IN VITRO

М. Ю. Клименко, О. С. Запухляк, О. В. Єгорова, О. П. Максимюк, Д. С. Ісаєв

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, м. Київ, Україна; mariia.klymenko1999@gmail.com

Епілепсія є комплексним неврологічним захворюванням, яке супроводжується порушенням між збудженням і гальмуванням в нейромережах мозку, внаслідок чого виникає гіперсинхронна активність нейронів та судоми. Приблизно 30% хворих на епілепсію страждають на резистентну до ліків епілепсію. Найпоширенішим фармакорезистентним видом епілепсії є епілепсія скроневої частки. Канабідіол чинить нейропротекторні ефекти при епілептичних нападах, зменшує запалення, стимулює нейрогенез та захищає від втрати гіпокампальних нейронів (Morі, 2017). Впродовж останніх років канабіноїди продемонстрували потенціал у лікуванні фармакорезистентної епілепсії, однак досі бракує досліджень про застосування канабіноїдів, їх дозування та фармакологічні цілі (Javadzadeh, 2024). На сьогодні жодна тваринна модель епілепсії не може охопити всі прояви нападів у людей та ідеально імітувати притаманні ним ознаки, тому важливо тестувати дію потенційної терапевтичної речовини на різних тваринних моделях епілепсії (Wang, 2022). Отже в даній роботі ми сфокусували увагу на дослідженні впливу канабідіолу на епілептиформну активність пірамідних нейронів в бікукуліновій, низькомагнієвій, 4-амінопіридиновій та низькокальцієвій моделях епілепсії на щурах.

Для дослідів використовували щурів лінії Wistar віком 2 тижні. Горизонтальні зрізи мозку товщиною 500 мкм були виготовлені за допомогою вібротому у льодяній оксигенованій штучній спинномозковій рідині (NaCl 125 мМ, KCl 3,5 мМ, CaCl2 2мМ, MgCl2 1,3 мМ, NaH2PO4 1, 25 мМ, NaHCO3 24 мМ, Glucose 11 мМ). Після нарізання зрізи інкубували впродовж 1-1.5 год при температурі 25°С і оптимальній оксигенації. В дослідженні за допомогою електрофізіологічних методів були проведені записи позаклітинних потенціалів з пірамідних нейронів CA1 та CA3зони гіпокампа щурів за умов перфузії зрізів розчином зміненого іонного складу (NaCl 115 мМ, KCl 5 мМ, CaCl2 1 мМ, MgCl2 1 мМ, NaH2PO4 1,25 мМ, NaHCO3 24 мМ, Glucose 11 мМ) з подальшим додаванням речовин. Ми тестували вплив 4-АП в концентрації 5, 10, 50 та 100 мкМ та бікукулінав концентрації 1, 3, 10 та 30 мкМ на появу епілептиформних судом та їх відмінність. Після визначення оптимальної дози даних речовин для появи стійких електрографічних корелят судом ми тестували вплив канабідіолу в концентраціях 3, 30 та 100 мкМ на індуковану епілептиформну активність.Подальша обробка реєстрацій була здійснена у програмах Prism 8.0 та ClampFit 10.7. Дослідним шляхом ми встановили, що для 4-АП моделі концентрація доданого 4-амінопіридину для отримання електрографічних корелятів судом становила 50-100 мкМ. Висока частота епілептиформної активності демонструвала потужний характер гіперсинхронізації нейронів в даній моделі. Для бікукулінової моделі епілептиформні напади виникали при концентрації бікукуліну 1 мкМ. В низькомагнієвій моделі ми спостерігали довший латентний період до розвитку епілептиформної активності. Ми досліджували несинаптичну епілептиформну активність в низькокальцієвій моделі епілепсії. Ми встановили, що частота епілептиформної активності при концентрації канабідіолу 30мкМ значуще знижується порівняно з контролем у 4-амінопіридиновій та бікукуліновій моделі епілепсії, чого не спостерігалось в низькокальцієвій та низькомагнієвих моделях. Отримані результати можуть свідчити про позитивний вплив канабідіолу на зменшення епілептиформних судом в деяких моделях епілепсії. Робота виконана за підтримки гранту 2023.05/0023 від Національного Фонду Досліджень України.

Ключові слова: епілепсія, гіпокамп, канабідіол, бікукулін, 4-амінопіридин, тваринні моделі

МЕХАНІЗМИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЇ ТА НЕЙРОПРОТЕКЦІЇ ПРИ ХВОРОБІ АЛЬЦГЕЙМЕРА

О.О. Лук'янець

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

Хвороба Альцгеймера є провідною причиною деменції, що супроводжується поступовим зниженням когнітивних функцій, порушенням пам'яті та поведінковими змінами. Основними ознаками захворювання є накопичення β-амілоїдних бляшок та тау-білкових клубків у мозку, що спричиняє загибель нейронів і втрату нейронних зв'язків. Незважаючи на інтенсивні дослідження, ефективні методи лікування, які б уповільнювали прогресування хвороби, залишаються обмеженими. Дослідження патогенезу хвороби Альцгеймера, проведені в нашому відділі, є важливим кроком у пошуку ефективних терапевтичних стратегій для нейродегенеративних захворювань. У наших експериментах встановлено, що β-амілоїд 1-42, використаний для моделювання хвороби Альцгеймера, викликав збільшення частоти генерації імпульсів у нейронах гіпокампу. Така тривала активація може призводити до виснаження нейронів, порушення їх комунікації, а в подальшому — до загибелі клітин, що спричиняє когнітивні порушення та втрату пам'яті, характерні для цього захворювання. Важливим напрямом наших досліджень стало вивчення нейропротекторної дії мемантину. Виявлено, що мемантин, відомий як блокатор NMDA-рецепторів, ефективно запобігав токсичному впливу β-амілоїду, стабілізуючи кальцієвий гомеостаз у нейронах гіпокампу. Це дозволяє зменшити ризик ексайтотоксичності, що є одним із провідних механізмів пошкодження нейронів при хворобі Альцгеймера, і відкриває нові можливості для терапії когнітивних розладів. Крім того, вивчення кальцієвої сигналізації в нейронах показало, що стабілізація внутрішньоклітинного кальцієвого рівня має вирішальне значення для виживання нейронів. Дослідження демонструють, що застосування дантролену допомагає регулювати рівень кальцію в нейронах, інкубованих із β-амілоїдом, що попереджає надмірне накопичення кальцію та знижує ризик кальцієвої токсичності. Контроль

за кальцієвими сигналами є ключовим для запобігання дегенеративних змін у нейронах, що має важливе значення для захисту нервової тканини. Ще одним важливим аспектом наших досліджень є використання наночастинок діоксиду церію, які проявляють антиоксидантну активність. Ці наночастинки допомагають нейтралізувати реактивні форми кисню, тим самим знижуючи оксидативний стрес у нейронах, що може сприяти підвищенню виживаності клітин в умовах патології. Такий підхід є перспективним для розробки нових терапевтичних засобів для боротьби з нейродегенеративними процесами. Таким чином, наші дослідження охоплюють комплексний підхід до вивчення механізмів хвороби Альцгеймера, акцентуючи увагу на захисті нейронів від ексайтотоксичності, оксидативного стресу та порушень кальцієвої гомеостазу. Отримані результати відкривають перспективи для розробки нових терапевтичних стратегій, спрямованих на збереження функціональної активності нейронів та покращення якості життя пацієнтів із хворобою Альцгеймера.

Подяка: Робота над цими тезами була підтримана грантом Національного фонду досліджень України № 2023.05/0023.