

УДК 611. 813. 11:[612.8(075.8)+616–005.4]

DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-37-42

В. В. КРИШТОП<sup>1</sup>, Т. А. РУМЯНЦЕВА<sup>2</sup>, В. Г. НИКОНОРОВА<sup>1</sup>,  
Д. А. ПОЖИЛОВ<sup>2</sup>

## Особенности экспрессии nNOS и NeuN в коре головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных способностей при церебральной гипоперфузии с кратковременной физической нагрузкой

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО» Министерства образования и науки Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 191024, Россия, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ярославль, Россия 153000, Россия, г. Ярославль, Революционная ул., д. 5  
E-mail: bgnikon@gmail.com

Статья поступила в редакцию 15.03.22 г.; принята к печати 14.05.22 г.

### Резюме

**Введение.** Физические нагрузки часто используются в реабилитационных мероприятиях для восстановления когнитивных функций после нарушения церебрального кровотока, однако типологические особенности, такие как исходный уровень когнитивных способностей, могут изменять их эффективность. *Цель* – оценить экспрессию nNOS и NeuN в коре больших полушарий при развитии церебральной гипоперфузии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса. **Материалы и методы.** Церебральная гипоперфузия моделировалась двусторонней перевязкой общих сонных артерий. До операции крысы Вистар делились на равные подгруппы с высоким (ВУК) и низким уровнем когнитивных способностей (НУК) по результатам тестирования в лабиринте Морриса. Животных выводили из эксперимента на 8-е, 21-е, 35-е, 60-е и 90-е сутки после операции, всего 184 крысы, из которых 24 составили группу контроля, 80 – подгруппу церебральной гипоперфузии, 80 животных ежедневно, начиная с 7-х суток эксперимента подвергались кратковременному плаванию. **Результаты.** Выявлено, при церебральной гипоперфузии изменения со стороны животных с ВУК возникают раньше, уже на 8-е сутки эксперимента, и сопровождаются более интенсивным снижением численной плотности nNOS позитивных нейронов – до 47 % от показателей контроля, длины отростков и ростом площади перикариона. У НУК снижение численной плотности достигает только 75 % от показателей контроля, а площадь перикариона не отличается от контрольных значений. В более поздние сроки, 60 и 90 суток эксперимента, НУК характеризуется сохранностью численной плотности нейронов и большей длиной их отростков (67 % от показателей подгруппы контроля). **Заключение.** ВУК является фактором риска повреждения nNOS-позитивных нейронов при церебральной гипоперфузии. Физическая нагрузка более эффективно снижает экспрессию nNOS у животных с ВУК, что может быть одним из саногенетических механизмов этого фактора.

**Ключевые слова:** nNOS, NeuN, кора головного мозга, церебральная гипоперфузия, физическая нагрузка

**Для цитирования:** Криштоп В. В., Румянцова Т. А., Никонорова В. Г., Пожилов Д. А. Особенности экспрессии nNOS и NeuN в коре головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных способностей при церебральной гипоперфузии с кратковременной физической нагрузкой. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2022;21(2):37–42. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-37-42.

V. V. CHRISHTOP<sup>1</sup>, T. A. RUMYANTSEVA<sup>2</sup>,  
V. G. NIKONOROVA<sup>1</sup>, D. A. POZHILOV<sup>2</sup>

## The nNOS and NeuN expression aspects in the cerebral cortex of rats with different cognitive abilities in cerebral hypoperfusion with short-term physical exercise

<sup>1</sup> ITMO University, Saint Petersburg, Russia  
9, Lomonosova str., Saint Petersburg, Russia, 191024

<sup>2</sup> Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia  
5, Revolyutsionnaya str., Yaroslavl, Russia, 153000  
E-mail: bgnikon@gmail.com

Received 15.03.22; accepted 14.05.22

### Summary

**Introduction.** Physical activity is often used in rehabilitation to restore cognitive function after cerebral blood flow impairment and typological features like baseline cognitive ability may alter their effectiveness. The *aim* was to evaluate the expression of

nNOS and NeuN in the large hemisphere cortex in the cerebral hypoperfusion occurrence in rats having different scores in the Morris maze. *Materials and methods.* Cerebral hypoperfusion was simulated by bilateral ligation of the common carotid arteries. Before surgery, Wistar rats were divided into equal subgroups with high (HCA) and low levels of cognitive ability (LCA) according to the results of Morris maze testing. Animals were removed from the experiment at 8, 21, 35, 60, and 90 days after surgery, a total of 184 rats, 24 formed the control group and 80 formed the cerebral hypoperfusion subgroup with 80 animals undergoing short-term swimming daily starting on day 7 of the experiment. *Results.* We revealed the earlier changes in HCA animals (8th day of the experiment) induced by cerebral hypoperfusion accompanied by a more intense nNOS-positive neurons density reduction to 47 % of control values, the length of their processes, and an increase in pericarion area. In LCA the decrease of density was only 75 % of control values and pericarion area does not differ from control values. At later periods on the 60 and 90 days of the experiment LCA demonstrates the preservation of the neurons density and greater length of their processes (67 % of the control subgroup values). *Conclusion.* HCA is a risk factor for damage of nNOS-positive neurons in cerebral hypoperfusion. Physical exercise more effectively decreases nNOS expression in animals with HCA, which may be one of the sanogenetic mechanisms of this factor.

**Keywords:** nNOS, NeuN, cerebral cortex, cerebral hypoperfusion, exercise

**For citation:** Chrishtop V. V., Rumyantseva T. A., Nikonorova V. G., Pozhilov D. A. The nNOS and NeuN expression aspects in the cerebral cortex of rats with different cognitive abilities in cerebral hypoperfusion with short-term physical exercise. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2022;21(2):37–42. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-37-42.

## Введение

Физические нагрузки зарекомендовали себя как эффективный элемент реабилитационных мероприятий при нарушениях церебрального кровотока различного генеза [1, 2]. Ключевую роль при этом играет активность нейрональной NO-синтазы nNOS-иммунореактивных клеток (nNOS-IR), обеспечивающих локальный приток крови к областям головного мозга с повышенной активностью нейрональной сети, вызванной как двигательными, так и когнитивными нагрузками [3]. Единого мнения о причинно-следственной связи между уровнем развития когнитивных функций индивида и эффективностью физических нагрузок как средства, улучшающего когнитивные функции при нарушениях мозгового кровообращения, не сложилось [4], поскольку есть указание на то, что исходный уровень когнитивных способностей до развития церебральной гипоперфузии может оказать влияние на эффективность физических нагрузок как профилактического и реабилитационного мероприятия [5, 6].

**Цель** – оценить экспрессию nNOS и NeuN в клетках коры больших полушарий при развитии церебральной гипоперфузии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса.

## Материалы и методы исследования

Эксперимент одобрен Этическим комитетом ФБОУ ВО «ЯГМУ» Минздрава России (протокол № 8 от 24.03.2016 г.) и выполнен с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

До операции, перед включением животных в эксперимент, для разделения животных на подгруппы на основе оценки состояния когнитивных функций головного мозга (способности к пространственному обучению) использовали тест – водный лабиринт Морриса, по результатам которого животных делили на особей с высоким (ВУК) и низким (НУК) уровнем развития когнитивных способностей [7]. Церебральная гипоперфузия моделировалась при помощи необратимой одномоментной билатеральной перевязки обеих общих сонных артерий, которая является «золотым стандартом» долговремен-

ной церебральной гипоперфузии у животных [8]. Всего использовано 184 крысы Вистар. Животные содержались в стандартных условиях на рационе вивария и были разделены на три группы. Контроль (n=24, обоего пола из которых 12 крыс с ВУК и 12 с НУК). Группа сравнения (n=80) – «чистая» церебральная гипоперфузия. Экспериментальная группа состояла из оперированных животных (n=80, 40 с ВУК и 40 НУК), которые, начиная с 7-го дня после операции, на протяжении 35 суток подвергались кратковременной физической нагрузке в виде свободного ежедневного плавания. Продолжительность плавания составляла 15 мин.

Животных выводили из эксперимента передозировкой Золетила на 8-е, 21-е, 35-е, 60-е и 90-е сутки после операции – по 16 животных на каждый срок (по 8 самцов и 8 самок), а также равное число животных обоего пола с НУК (n=8) и ВУК (n=8). Животные обоих полов использованы для обеспечения требований репрезентативной выборки в нейробиологических исследованиях [9]. Изготавливали фронтальные срезы головного мозга толщиной 5 мкм на 1 мм кпереди от *bregma*). NeuN, маркер неповрежденных нейронов, и нейрональную NO синтазу (nNOS), маркер nNOS-IR, выявляли методом непрямого иммуноочечения. Демаскировку антигенов проводили в стеклянном сосуде Коплина, заполненном цитратным буфером 10 ммоль/л, pH 6,0 (10 mM цитрата натрия, 0,05 % Tween 20) на водяной бане в течение 20 мин в мультиварке (p=0,3 бар, t=100 °C). Для инактивации эндогенной пероксидазы использовали 1 %-й раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, в качестве блокирующего раствора применяли PBS с 1 % BSA, 0,05 % Triton X-100. Использовали первичные моноклональные антитела anti-nNOS ab76067 (UK, разведение 1:200), первичные кроличьи моноклональные антитела к NeuN (ab177487, разведенное 1: 500), время инкубации составило 12 ч, и вторичные поликлональные антитела (Goat anti Rabbit IgG ab97051, UK, разведение 1:1000), время инкубации – 30 мин. Для выявления пероксидазы использовали DAB Substrate Kit (ab64238) на основе хромогена 3,3'-диаминобензидина. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, далее их дегидратировали в спиртоксигиловую батарею и заключали

Численная плотность NeuN-IR, ед./мм<sup>2</sup>

Table 1

Density of NeuN positive cells, cell/mm<sup>2</sup>

Группы	Группа сравнения	Группа сравнения («чистая» церебральная гипоперфузия)		Экспериментальная группа	Экспериментальная группа (церебральная гипоперфузия+ физическая нагрузка)	
		ВУК	НУК		ВУК	НУК
К	426±24	453±26 <sup>^</sup>	399±23			
8	205±14*	164±11* <sup>^</sup>	246±17*	197±14*	167±12* <sup>^</sup>	226±16*
21	178±12*	136±10* <sup>^</sup>	221±15	163±11*	232±16* <sup>^</sup> #	94±7*#
35	159±10	123±8 <sup>^</sup>	195±13	249±16*#	319±21* <sup>^</sup> #	179±12*
60	292±18*	277±17*	307±19*	294±18*	193±12* <sup>^</sup> #	396±25*#
90	331±16*	327±16*	335±16	362±18*	284±14* <sup>^</sup> #	441±21*

Примечание: здесь и далее К – контроль; \* –  $p < 0,05$  по отношению к контрольным значениям; <sup>^</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к значениям альтернативной подгруппы; # –  $p < 0,05$  по отношению к значениям группы сравнения.

в канадский бальзам. Для контроля и исключения артефактов при выполнении исследований использовали внутренний негативный контроль.

Морфометрическое исследование осуществлялось на цифровых изображениях 50 случайно выбранных полей зрения (об.  $\times 40$ ) на каждый срок исследования с использованием программы «ImageJ 1.45s». При выявлении NeuN подсчитали количество NeuN-IR (NeuN-иммунореактивных клеток) на 1 мм<sup>2</sup> среза. При выявлении nNOS подсчитали количество nNOS-IR на 1 мм<sup>2</sup> среза, мы также измеряли длину самого длинного отростка (мкм) и площадь перикариона (мкм<sup>2</sup>). Проверку статистических гипотез проводили с помощью параметрических методов (t-критерий Стьюдента). Материал представлен как среднее арифметическое значение и ошибка среднего. Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

При церебральной гипоперфузии, в группе сравнения, численная плотность NeuN-IR снижалась, начиная с 8-х суток исследования, на протяжении 21–35 суток эксперимента. Наиболее интенсивное снижение приходилось на 8-е сутки эксперимента – популяция нейронов сократилась на 221 ед./мм<sup>2</sup> от показателей контрольных животных. В дальнейшем количественная плотность NeuN-IR несколько возрастала, на 60-е сутки увеличиваясь на 133 ед./мм<sup>2</sup> от показателя 35-х суток, а на 90-е сутки достигала 331±16 ед./мм<sup>2</sup>, что на 39 ед./мм<sup>2</sup> больше показателя предыдущего срока и на 95 ед./мм<sup>2</sup> меньше показателей интактных животных. NeuN представляет собой нейрональный ядерный антиген. Потеря NeuN-окрашивания не всегда связана с гибелью нервных клеток и может определяться другими причинами – например, временным прекращением синтеза данного белка нейронами вследствие их повреждения (но без потери жизнеспособности). На модели умеренной ишемии (30-минутная ишемия) установлено, что нейроны теряют NeuN-иммунореактивность через 6 ч после воздействия, но при этом сохраняют

клеточную целостность и имеют неповрежденное ядро, т. е. не обнаруживают характерных признаков клеточной гибели [10]. Рост NeuN-IR, наблюдаемый в нашем исследовании на 60-е сутки и позже, согласуется с литературными данными о восстановлении кровообращения в рассматриваемой модели, которое происходит путем ангиогенеза в зонах гипоксии головного мозга и роста калибра вертебральных артерий, обеспечивающих приток крови [11]. Более выраженное снижение NeuN+ окрашивания происходит в группе ВУК, однако на протяжении периода восстановления – 60-е и 90-е сутки – отличия между ВУК и НУК животными нивелируются.

В эксперименте с физической нагрузкой на 35-е сутки эксперимента отмечается достоверно большее количество NeuN+-нейронов, в другие сроки особенностей не выявляется, но при делении животных на подгруппы по уровню когнитивных способностей в группе НУК отмечаются достоверно более выраженное снижение показателя численной плотности NeuN-IR клеток на 21-е сутки исследования и достоверно большие на 60-е и 90-е по сравнению с показателями подгруппы НУК в группе «чистая» церебральная гипоперфузия. В подгруппе ВУК, наоборот, на 21-е сутки происходит рост численной плотности NeuN-IR, а на 60-е и 90-е – снижение по отношению к показателям подгруппы НУК в группе «чистая» церебральная гипоперфузия.

Численная плотность nNOS-IR при церебральной гипоперфузии также в начале исследования постепенно снижается – на 8-е, 21-е, 35-е, 60-е сутки, падая к 60-м суткам до 1,30±0,08 ед./мм<sup>2</sup>, а на 90-е сутки достоверно возрастает, составляя 2,35±0,11 ед./мм<sup>2</sup>, тем самым повторяя динамику численной плотности NeuN-позитивных нейронов, однако смещая период восстановления на более поздние сроки. У крыс с ВУК восстановление начинается раньше – на 60-е сутки, а у НУК – позже, на 90-е. Поэтому на 60-е сутки отличия между ВУК и НУК нивелируются. Во все остальные сроки численная плотность nNOS-IR в подгруппе ВУК снижена.

Численная плотность nNOS-IR, ед./мм<sup>2</sup>

Table 2

Density of nNOS positive cells, cell/mm<sup>2</sup>

Группы	Группа сравнения	Группа сравнения («чистая» церебральная гипоперфузия)		Экспериментальная группа	Экспериментальная группа (церебральная гипоперфузия+ физическая нагрузка)	
		ВУК	НУК		ВУК	НУК
К	2,84±0,16	3,19±0,18 <sup>^</sup>	2,5±0,14			
8	1,7±0,12*	1,5±0,1* <sup>^</sup>	1,9±0,13*	1,6±0,11*	1,6±0,11*	1,59±0,11* <sup>#</sup>
21	1,62±0,11	1,43±0,1 <sup>^</sup>	1,8±0,13	2,18±0,15* <sup>#</sup>	1,65±0,12 <sup>^</sup>	2,71±0,19* <sup>#</sup>
35	1,50±0,10	1,15±0,08* <sup>^</sup>	1,85±0,12	2,15±0,14 <sup>#</sup>	1,56±0,1 <sup>^</sup> <sup>#</sup>	2,75±0,18 <sup>#</sup>
60	1,3±0,08*	1,3±0,08	1,31±0,08*	1,45±0,09*	1,41±0,09	1,49±0,09* <sup>#</sup>
90	2,35±0,11*	2,06±0,1* <sup>^</sup>	2,64±0,13*	1,1±0,05* <sup>#</sup>	1,05±0,05* <sup>#</sup>	1,15±0,06* <sup>#</sup>

Влияние физической нагрузки ускоряет снижение численной плотности nNOS-IR: на 21-е, 60-е и 90-е сутки она достоверно меньше, чем в группе «чистая» церебральная гипоперфузия. Наиболее выражено это снижение у животных из подгруппы ВУК. Животные с НУК характеризуются некоторым ростом вышеуказанного показателя на 35-е и 60-е сутки исследования, на 85 и 217 ед./мм<sup>2</sup>, соответственно.

Площадь перикариона nNOS-IR в большинстве исследуемых сроков не отличается от показателей группы контроля, исключением являются 35-е сутки исследования, когда она возрастает на 40,51 мкм<sup>2</sup> от показателей группы контроля, и 90-е сутки исследования, когда она достоверно снижается на 72,01 мкм<sup>2</sup> от показателей группы контроля.

В подгруппе НУК рост площади перикариона nNOS-IR происходит раньше – на 21-е сутки исследования, а не на 35-е, также и снижение площади приходится на 60-е сутки исследования, а не на 90-е. Динамика аналогичных показателей в подгруппе ВУК соответствует общей динамике, описанной выше.

Физическая нагрузка смещает рост площади перикариона nNOS-IR с характерных для «чистой» церебральной гипоперфузии 30-х суток на более ранние сроки (8-е сутки) исследования и 1-е сутки начала физической нагрузки. В остальные сроки площадь перикариона nNOS-IR в группе «церебральная гипоперфузия и физическая нагрузка» достоверных отличий от контрольных показателей не имеет. Это отличает ее от «чистой» церебральной гипоперфузии, в которой 90-е сутки исследования характеризуются достоверным снижением этого параметра. Однако при делении животных на подгруппы в подгруппе ВУК отмечаются более низкие значения площади перикарионов на 21-е и 35-е сутки исследования. В более поздние сроки – на 60-е и 90-е сутки – отличия между животными с ВУК и НУК нивелируются.

Средняя длина отростков nNOS-IR снижается на протяжении всего исследования, что может трактоваться как результат снижения транспорта фермента или его синтеза, вероятно, обусловленное условиями гипоксии. Достоверное снижение на 6,63 мкм

по отношению к контролю, происходит уже на 8-е сутки исследования, а на 90-е сутки – длина на 18,29 мкм. Только на 35-е сутки после церебральной гипоперфузии наблюдается рост средней длины позитивных отростков. По-видимому, в этом сроке запускаются механизмы ревазуляризации, что приводит к развитию оксидантного стресса, одну из ключевых ролей в котором играет NO, что и влечет за собой снижение продукции нейрональной NO-синтазы и наблюдаемое на 60-е сутки эксперимента исчезновение компенсаторной гипертрофии перикариона nNOS-IR.

На основании вышеописанной динамики отдельно для подгрупп с высоким и низким уровнем когнитивных способностей очевидно, что она обусловлена особенностями животных с ВУК, так как у животных с НУК на 35-е, 60-е и 90-е сутки достоверная динамика длины отростков отсутствует.

Физическая нагрузка приводит к достоверному снижению длины отростков nNOS-IR на 21-е и 35-е сутки и возрастанию ее на 90-е, по сравнению с показателем группы «чистая» церебральная гипоперфузия. Эта динамика обусловлена более выраженным снижением показателя у животных с ВУК на 8-е, 21-е и 35-е сутки и стабилизацией его на 60-е и 90-е сутки исследования. В подгруппе НУК под влиянием физической нагрузки сокращение длины отростков nNOS-IR происходит в более поздние сроки, начиная с 21-х и до 90-х суток исследования.

Таким образом, подгруппы НУК и ВУК характеризуются разной реактивностью. При «чистой» церебральной гипоперфузии изменения у животных с ВУК возникают раньше и сопровождаются более выраженным снижением численной плотности нейронов на 1,69 ед./мм<sup>2</sup>, по сравнению с контролем (в контрольной группе – 3,19±0,18, 1,5±0,10 ед./мм<sup>2</sup> – 8-е сутки эксперимента), уменьшением длины отростков и ростом площади перикариона, что может трактоваться как обратимые функциональные изменения, вызванные дефицитом макроэргов в результате церебральной гипоперфузии, приводящим к снижению активности ионных обменников, нарушением электролитного баланса клетки, синтеза и транспорта нейрональной NO-синтазы по отросткам

Площадь перикарионов nNOS-IR, мкм<sup>2</sup>

Table 3

Perikaryon area of nNOS positive cells, μm<sup>2</sup>

Группы	Группа сравнения	Группа сравнения («чистая» церебральная гипоперфузия)		Экспериментальная группа	Экспериментальная группа (церебральная гипоперфузия+ физическая нагрузка)	
		ВУК	НУК		ВУК	НУК
К	181,17±10,24	192,31±10,86 <sup>^</sup>	170,04±9,61			
8	191,18±13,37	211,75±14,81 <sup>^</sup>	170,6±11,93	213,41±14,92 <sup>*</sup>	203,54±14,23 <sup>*</sup>	223,28±15,61 <sup>*#</sup>
21	205,17±14,35	186,94±13,07 <sup>^</sup>	223,39±15,62 <sup>*</sup>	190,85±13,35	157,72±11,03 <sup>*^#</sup>	223,99±15,66
35	221,68±14,49 <sup>*</sup>	216,81±14,17 <sup>*</sup>	226,55±14,81	209,94±13,72	177,5±11,6 <sup>^#</sup>	242,38±15,84
60	172,76±10,87	181,04±11,39	164,47±10,34 <sup>*</sup>	174,9±11	177,42±11,16	172,37±10,84 <sup>*</sup>
90	109,16±5,3 <sup>*</sup>	116,26±5,64 <sup>*^</sup>	102,06±4,95 <sup>*</sup>	160,82±7,81 <sup>*</sup>	163,45±7,93 <sup>#</sup>	158,18±7,68 <sup>#</sup>

нейрона. В подгруппе с НУК численная плотность снижается только на 0,60 ед./мм<sup>2</sup>, (в контрольной группе – 2,50±0,14, 1,9±0,13 ед./мм<sup>2</sup> – 8-е сутки эксперимента), а площадь перикариона не отличается от контрольных значений. В более поздние сроки подгруппа животных с НУК характеризуется сохранностью численной плотности нейронов и большей длиной их отростков (20,86±1,01 мкм на 90-е сутки исследования), в отличие от подгруппы ВУК, где численная плотность нейронов снижается на 1,13 ед./мм<sup>2</sup> от показателей контроля, а длина отростков составляет только 5,88±0,29 мкм на 90-е сутки исследования. Представленные выше факты позволяют заключить, что ВУК является фактором риска повреждения nNOS-IR при «чистой» церебральной гипоперфузии.

Немногочисленные исследования демонстрируют потенцирующий эффект высокого уровня когнитивных способностей на улучшение когнитивных функций, связанное с физической нагрузкой; так, у лиц с высшим образованием энергичная ходьба ассоциирована с лучшими показателями рабочей памяти [12]. Известно, что при 15-минутной физической нагрузке у крыс, в отличие от 5-минутной, происходит достоверный рост α-МСГ (в 4 раза по сравнению с интактными крысами), чего не наблюдается при более кратковременном воздействии фактора. 15-минутное плавание также приводит к увеличению уровня активации транскрипционного фактора CREB в гиппокампе крыс. Фактор CREB необходим для транскрипции многих генов, экспрессия которых ассоциирована с процессами обучения и памяти, а также нейрогенезом [13]. При воздействии физической нагрузки на 60–90-е сутки нашего исследования особенности, связанные с исходным уровнем когнитивных способностей, исчезали: выравнивалась численная плотность nNOS-IR, средняя площадь их перикарионов. Достоверно только длина отростков nNOS-IR в подгруппе ВУК была больше, что может указывать на более эффективный транспорт фермента у животных с высоким уровнем когнитивных способностей. Снижение экспрессии nNOS при воздействии физической нагрузки было ассоциировано с снижением смертности в подгруппе животных с

ВУК, выявленным нами ранее [6]. nNOS играет существенную роль в механизмах церебральной гипоперфузии, выступая в роли обоюдоострого меча. Массивное высвобождение глутамата приводит к чрезмерной стимуляции рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDAR) и притоку кальция. Перегрузка кальцием приводит к активации нейрональной синтазы оксида азота. nNOS катализирует окисление L-аргинина с образованием NO, что приводит к эксайтотоксичности и гибели нейронов [14]. В нашем исследовании также был выявлен рост малонового диальдегида в 1-е сутки влияния физической нагрузки [15]. С другой стороны, под влиянием физической нагрузки nNOS транслоцируется в ядро нейрона, где соединяется с плюрипотентным геном Sox2 с образованием комплекса nNOS-Sox2, активация которого запускает транскрипцию Shh (Sonic hedgehog) [16]. Этот фактор регулирует этапы нейро- и глиогенеза, проходящие в пролиферативных зонах (миграцию нейробластов, образование определенных типов клеток, формирование отростков у нейронов, развитие синаптических связей).

**Заключение**

Таким образом, высокий уровень когнитивных способностей животных является фактором риска повреждения nNOS-IR при моделировании длительной церебральной гипоперфузии. Физическая нагрузка снижает экспрессию nNOS более эффективно у животных с высоким уровнем когнитивных способностей, что может быть одним из саногенетических механизмов этого фактора. Численная плотность NeuN-IR также демонстрирует большее нарушение нейрональных синтезов у животных с высоким уровнем когнитивных способностей при воздействии церебральной гипоперфузии, в ранние сроки исследования – на 8-е, 21-е, 35-е сутки. Воздействие физической нагрузки также смягчает повреждающий эффект в эти сроки, что сопровождается ростом численной плотности NeuN-IR.

**Конфликт интересов / Conflict of interest**

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

## Литература / References

1. Crosson B, Hampstead B, Krishnamurthy L et al. Advances in neurocognitive rehabilitation research from 1992 to 2017: The ascension of neural plasticity // *Neuropsychology*. 2017;31(8):900–920. Doi: 10.1037/neu0000396.
2. Morris T, Gomes Osman J, Tormos Muñoz J et al. The role of physical exercise in cognitive recovery after traumatic brain injury: A systematic review // *Restor Neurol Neurosci*. 2016;34(6):977–988. Doi: 10.3233/RNN-160687.
3. Rocha M, Caldwell H, Gliemann L. How do we know the individual contribution of eNOS and nNOS for cerebral blood flow regulation? // *J Physiol*. 2022;600(1):3–4. Doi: 10.1113/JP282504.
4. Stenling A, Sörman D, Lindwall M et al. Physical activity and cognitive function: between-person and within-person associations and moderators // *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn*. 2021;28(3):392–417. Doi: 10.1080/13825585.2020.1779646.
5. Greendale G, Han W, Huang M et al. Longitudinal Assessment of Physical Activity and Cognitive Outcomes Among Women at Midlife // *JAMA Netw Open*. 2021;4(3):e213227. Doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.3227.
6. Криштон В. В., Никонорова В. Г., Румянцева Т. А. Изменения клеточного состава коры головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных функций при церебральной гипоперфузии // *Журн. анатомии и гистопатологии*. – 2019. – Т. 8. – № 4. – С. 22–29. [Chrishtop VV, Nikonorova VG, Rummyantseva TA. *Izmeneniya kletochnoy sostava kory golovnoy mozga u krysov s raznym urovnem kognitivnykh funktsiy pri tserebral'noy gipoperfuzii* // *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2019;8(4):22–29. (In Russ.)]. Doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-22-29.
7. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных / А. Л. Ивлиева, Е. Н. Петрицкая, Д. А. Рогаткин, В. А. Демин // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2016. – Т. 102, № 1. – С. 3–17. [Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA, Demin VA. *Metodicheskie osobennosti primeneniya vodnogo labirinta Morrisa dlya ocenki kognitivnykh funktsiy u zhivotnykh* [Methodical features of the application of Morris water maze for estimation of cognitive functions in animals] // *Russian physiological journal named after I.M. Sechenov*. 2016;102(1):3–17. (In Russ.)].
8. Chrishtop V, Nikonorova V, Gutsalova A, et al. Systematic comparison of basic animal models of cerebral hypoperfusion // *Tissue Cell*. 2021;(23):101715. Doi: 10.1016/j.tice.2021.101715.
9. Shansky R, Murphy A. Considering sex as a biological variable will require a global shift in science culture // *Nat Neurosci*. 2021;24(4):457–464. Doi: 10.1038/s41593-021-00806-8.
10. Гусельникова В. В., Коржевский Д. Э. NeuN – нейрональный ядерный антиген и маркер дифференцировки нервных клеток // *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. – 2015. – Т. 7, № 2(25). – С. 46–51. [Gusel'nikova VV, Korzhevskiy DE. *NeuN – neuronal'nyu yadernyy antigen i marker differentsirovki nervnykh kletok* // *Acta Naturae (russskoyazychnaya versiya)*. 2015;7(2(25)):46–51. (In Russ.)].
11. Farkas E, Luiten P, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases // *Brain research reviews*. 2007;(54):162–180.
12. Stenling A, Sörman D, Lindwall M, et al. Physical activity and cognitive function: between-person and within-person associations and moderators // *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn*. 2021;28(3):392–417. Doi: 10.1080/13825585.2020.1779646.
13. Bilang-Bleuel A, Rech J, De Carli D, et al. Forced swimming evokes a biphasic response in CREB phosphorylation in extrahypothalamic limbic and neocortical brain structures in the rat // *Eur J Neurosci*. 2002;15(6):1048–1060.
14. Chen R, Gong P, Tao T et al. O-GlcNAc Glycosylation of nNOS Promotes Neuronal Apoptosis Following Glutamate Excitotoxicity // *Cell Mol Neurobiol*. 2017;37(8):1465–1475. Doi: 10.1007/s10571-017-0477-1.
15. Chrishtop V, Tomilova I, Rummyantseva T et al. The Effect of Short-Term Physical Activity on the Oxidative Stress in Rats with Different Stress Resistance Profiles in Cerebral Hypoperfusion // *Molecular Neurobiology*. 2020;57(7):3014–3026. Doi:10.1007/s12035-020-01930-5.
16. Zhang D, Wang H, Liu H, et al. nNOS Translocates into the Nucleus and Interacts with Sox2 to Protect Neurons Against Early Excitotoxicity via Promotion of Shh Transcription // *Mol Neurobiol*. 2016;53(9):6444–6458. Doi: 10.1007/s12035-015-9545-z.

## Информация об авторах

**Криштон Владимир Владимирович** – канд. мед. наук, ординарный доцент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: chrishtop@scamt-itmo.ru.

**Румянцева Татьяна Анатольевна** – д-р мед. наук, зав. кафедрой анатомии человека, Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, Россия, e-mail: rumyar@mail.ru.

**Никонорова Варвара Геннадьевна** – преподаватель, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: bgnikon@gmail.com.

**Пожилков Дмитрий Алексеевич** – ассистент кафедры анатомии человека, Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, Россия, e-mail: dmitry.oldman@yandex.ru.

## Authors information

**Chrishtop Vladimir V.** – PhD, ITMO University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: chrishtop@scamt-itmo.ru.

**Rummyantseva Tatiana A.** – MD, professor, Yaroslavl State Medical University, Russian Federation, Yaroslavl, Russia, e-mail: rum-yar@mail.ru.

**Nikonorova Varvara G.** – ITMO University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: bgnikon@gmail.com.

**Pozhilov Dmitry A.** – Yaroslavl State Medical University, Russian Federation, Yaroslavl, Russia, e-mail: dmitry.oldman@yandex.ru.