

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 575:591.513.5

ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ПРОГРЕВАНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ, НЕЙРОГЕНЕЗ ВЗРОСЛОГО МОЗГА И ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP-70 У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

О.В. Перепелкина¹, Н.А. Огиенко¹, И.Г. Лильп¹, Д.Г. Гарбуз², А.В. Ревущин³,
Г.В. Павлова³, И.И. Полетаева^{1,*}

¹*Кафедра высшей нервной деятельности, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*

²*Институт молекулярной биологии, Российская академия наук, Россия, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32;*

³*Институт биологии гена, Российская академия наук, Россия, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5*

**e-mail: ingapoletaeva@mail.ru*

Мыши-самцы (гибриды F1 CBA x C57BL/6J) содержались в течение 1,5 ч при температуре 39,5°C. В тестах на когнитивные способности (решение элементарных логических задач — на способность к экстраполяции направления движения и на поиск входа в укрытие) мыши опытных групп (после воздействия повышенной температуры) решали задачу быстрее и эффективнее, а общая активность в тесте «малое открытое поле» (в отсутствие стрессогенной обстановки) и в тесте Порсолта (неизбегаемое плавание) была выше, чем у контрольных мышей. В отдельных экспериментах показано, что нагревание вызывает временное ухудшение нейрогенеза (т.е. уменьшение числа новых клеток по иммуногистохимическому маркеру Ki67) как в пролиферативной зоне гиппокампа (субгранулярный слой зубчатой фасции), так и в субвентрикулярной зоне переднего мозга. Прогревание также вызывало повышение экспрессии белка теплового шока HSP70 через 3 ч после воздействия, но через 24 ч отличий от контроля не было.

Ключевые слова: гипертермия, активация поведения, когнитивные способности, элементарная логическая задача, нейрогенез взрослого мозга, белки теплового шока, мыши-гибриды F1

Гипертермия (ГТ) — это спровоцированное внешними факторами накопление избыточного тепла в организме, вызывающее повышение температуры тела. В настоящее время последствия ГТ активно исследуют как состояние, при котором происходит усиление экспрессии так называемых белков теплового шока (Heat Shock Proteins, HSP). Разнообразные и многочисленные функции этой достаточно большой группы белков активно исследуются [1, 2]. Их экспрессия влияет на общий белковый обмен [3], на регуляцию клеточного цикла, на поддержание гомеостаза физиологических процессов [4], на формирование стресс-реакции [5, 6]. Отметим, что при анализе эффектов ГТ нагревание организма осуществляют в разных режимах [7]. Протекторные свойства ГТ, точнее — эффектов экспрессии HSP, описаны и для ЦНС [8–10], и для иммунной системы [1, 11].

Несмотря на сложную роль HSP в организме, ГТ, как потенциально полезное (протекторное)

воздействие, иногда используют преимущественно в онкологии, а также при разработке защиты от радиации [12], хотя прямых исследований этого вопроса немного [13–15]. В то же время мало информации о непосредственном влиянии однократного гипертермического воздействия на поведение лабораторных грызунов — в частности, на выполнение ими тестов на когнитивные способности. Недавно было показано, что у крыс линии Крушинского-Молодкиной, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии, кратковременная (5 мин) ГТ в 14-дневном возрасте имеет небольшие по «размаху», но достоверные эффекты через 2 нед. после воздействия, которое снизило интенсивность судорог в ответ на звук, изменило «рисунок» привыкания к болевому стимулу и изменило показатели поведения в тесте приподнятого крестообразного лабиринта [16].

Таким образом, оценка изменений поведения животных, реакции мозговых систем нейрогенеза

и системы HSP в течение небольшого интервала времени (несколько суток) после однократного гипертермического воздействия представляется актуальной задачей. Получение новой информации по этому вопросу важно для решения ряда практических проблем, поскольку реакция системы HSP — важный компонент реакции организма на внешние воздействия, в том числе и на экстремальные. Целью настоящей работы было выявление изменений поведения мышей после однократной индуцированной прогреванием ГТ, (было проведено два эксперимента), а также изменений в уровне нейрогенеза взрослого мозга и экспрессии HSP-70 в мозге мышей (оценку производили в разные сроки после воздействия).

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Работа проведена на 4-месячных самцах-гибридах F1 мышей CBA x C57BL. Поведение оценивали у 11 мышей после ГТ и у 10 контрольных животных. В эксперименте по изучению нейрогенеза было использовано 13 животных (по 3 мыши спустя 24, 48 и 96 ч после ГТ, 4 — контроль без нагревания), в эксперименте по анализу экспрессии HSP-70 было 11 мышей (по 4 животных спустя 3 и 24 ч после ГТ, и 3 — контроль без нагревания).

Мышей содержали в пластиковых клетках (13x26,6x9,5 см) при естественной смене освещенности. Корм (Фирма «Чара», Сергиев Посад, Россия) и воду давали *ad libitum*. Эксперименты соответствовали биоэтическим требованиям Декларации ЕС-2010.

Условия создания ГТ. Прогревание осуществляли помещением мышей в термостат (39,5°C, 1,5 ч) с предварительной внутрибрюшинной инъекцией 1,5 мл физиологического раствора (для предотвращения обезвоживания) в клетку без подстилки. Во избежание гипоксии в термостат подавали воздух с помощью аквариумного компрессора, соединенного с длинной трубкой, обеспечивающей нагревание нагнетаемого воздуха. После индукции ГТ животных помещали в клетку с обычной подстилкой и содержали при комнатной температуре. Тестирование поведения начинали через 72 ч (в 1-й серии) или через 5 сут после сеанса ГТ (2-я серия).

Тестирование поведения. С животными были проведены 2 теста на когнитивные способности — на способность к экстраполяции (только с животными 2-й серии) и на поиск входа в укрытие. Их также тестировали в установке «малое открытое поле» и в тесте Порсолта.

Тест на способность к экстраполяции, разработанный Л.В. Крушинским [17] для оценки уровня элементарной рассудочной деятельности животных разных видов и адаптированный к ис-

следованию этой способности у мышей [18, 19], проводили в пластиковой камере (50x23x18 см). В центре нижней части передней стенки камеры было отверстие (1x1,2 см), через которое голодная мышь начинала пить молоко, но через 3–5 с после начала питья поилку отодвигали (с помощью стержня) вправо или влево, помещая ее перед одним из боковых отверстий. После исчезновения поилки из поля зрения мышь могла подойти к правому или левому боковым отверстиям. Правильным решением теста был подход к боковому отверстию, к которому передвинули поилку, неправильное решение теста — подход к противоположному отверстию. Успешность выполнения теста выражают в виде доли правильных решений группой животных с особым вниманием к результатам его первого предъявления, поскольку в этом случае у животного нет аналогичного опыта решения данного теста [17–19].

Тест на поиск входа в укрытие проводили в экспериментальной камере с 2 отсеками — темным (14x28x27,5 см) и ярко освещенным (30x28x27,5 см). Данный тест был предложен М. Голсуорси для оценки когнитивных способностей мышей и использовался как для сравнения эффектов нокаутов ряда генов, так и для изучения моделей психических заболеваний [20, 21]. Пребывание в ярко освещенном пространстве у мышей и крыс вызывает дискомфорт и стремление уйти в темноту. Между отсеками имеется «лаз» — углубленное в пол отверстие в нижней части стенки (4,5x1,5x11,5 см). В течение 2-дневного теста предъявляют 8 «проб» (1–4 — в первый день, 5–8 — во второй) [19]. В 1-й и 2-й пробах лаз открыт, и мышь может свободно перейти в темную часть камеры. С 3-й по 5-ю пробу лаз присыпают свежей стружкой вровень с полом, и, чтобы попасть в темную часть камеры, мышь должна «раскопать» стружку. На второй день пробу с присыпанным лазом повторяют один раз, а в следующих двух пробах лаз закрывают легкой «пробкой» (из картона и пластика), которая скрывает лаз, но достаточно легкая, чтобы мышь могла ее вытащить зубами или отодвинуть. В последней (8-й) пробе стружкой засыпают всю стенку между двумя частями камеры на высоту 5–7 см. В течение теста регистрируют время перехода в темное отделение, а для группы животных отмечают долю тех, кто решил последовательные пробы теста. Важно отметить, что решение тех проб теста, в которых вход в темную часть камеры «замаскирован», требует от животного «понимания», что ранее бывший видимым, но ныне скрытый объект (лаз) продолжает существовать, хотя он и невидим. Способность к решению такой задачи зависит от наличия у животного когнитивной способности, описанной Ж. Пиаже как свойство «неисчезаемости» [23]. Таким

образом, после первых двух предъявлений теста с открытым лазом решение следующих проб требовало проявления когнитивной способности.

Тест «малое открытое поле». В этом тесте (авторская модификация широко используемого теста «открытое поле», в котором используют большую арену — 1–1,5 м в диаметре и яркое освещение) оценивали соотношение проявлений тревожности и исследовательского поведения у животного после помещения его в новую обстановку, не вызывающую у мыши реакции испуга, как в стандартном тесте «открытое поле» с ярко освещенной ареной. В небольшой неярко освещенной круглой камере (диаметром 40 см, высота стенок — 25 см) в течение 3 мин регистрировали число вертикальных стоек, «норковых реакций» (заглядываний в отверстия в полу), а также число эпизодов чистки шерсти (груминга).

Тест Порсолта (неизбегаемое плавание) — широко используемый тест, позволяющий оценивать предрасположенность к развитию депрессии (время пребывания в воде в неподвижности — индикатор предрасположенности животного к депрессии [22]) проводили, помещая животное в воду, где оно либо плавает (активно или пассивно, т.е. слабо перебирая лапами), либо сохраняет полную неподвижность. Животных по одному помещали в сосуд с теплой водой (26°C) на 6 мин и регистрировали их поведение.

Пролиферативная активность в переднем мозге. Пролиферативную активность клеток субгранулярного слоя зубчатой фации гиппокампа (FDH — Hippocampal Dentate Fascia, лат. *Fascia dentate hippocampi*) и субвентрикулярной зоны переднего мозга (SVZ — Subventricular Zone) оценивали с помощью иммуногистохимического окрашивания срезов с использованием антител к белку Ki-67, который экспрессируется в ядрах делящихся клеток. Через 24, 48 и 96 ч после нагревания проводили транскардиальную перфузию мозга с последующей процедурой изготовления срезов и окрашивания [24].

Вестерн-блот-анализ. Тотальные белковые экстракты гиппокампа выделяли при помощи набора ReadyPreptm Protein Extraction Kit (Total Protein) производства BioRad (США) в соответствии с рекомендациями производителя. Для электрофореза образцы белка гомогенизировали в буфере состава: 65 мМ Трис-НСl (pH 6,8), глицерин (10%), додецилсульфат натрия (2%), β-меркаптоэтанол (4%), бромфеноловый синий (0,01%) с прогреванием при 100°C в течение 5 мин. Электрофорез проводили в 8%-ном полиакриламидном геле, как описано ранее [25]. После электрофореза проводили электроперенос белков из геля на мембрану Hybond ECL (GE Healthcare Bio-Sciences, США) при силе тока 1,5–2 мА/см²

в течение 1,5 ч полусухим методом в буфере состава: 25 мМ Трис-НСl, 0,2 М глицин, 20%-ный метанол, додецилсульфат натрия (0,01%). После переноса проводили забивку мембраны 3%-ным бычьим сывороточным альбумином (фракция V) в Трис-солевом буфере (20 мМ Трис-НСl, pH 7,6 и 0,14 М NaCl) в течение 1 ч для предупреждения неспецифической сорбции антител. После забивки мембрану инкубировали с первичными антителами (мышинные моноклональные антитела C92F3A-5, Abcam, Великобритания, к индуцируемой форме HSP-70) в разведении 1:1000 в течение 24 ч. Далее мембрану отмывали Трис-солевым буфером с Tween-20 (0,1%) 4 раза по 20 мин, после чего инкубировали с вторичными антителами к IgG мыши, меченными пероксидазой хрена, в течение 1 ч в разведении, рекомендованном производителем. Детектирование связавшихся антител проводили набором ECL (GE Healthcare Bio-Sciences, США) по инструкции производителя, уровень сигнала измеряли с помощью системы гель-документирования ChemiDoc MP и программы Quantity One 1-D Analysis Software (BioRad, США). Оптическую плотность полос измеряли с помощью программы ImageJ [26]. Для нормализации концентрации общего белка, нанесенного на гель, проводили перегибридизацию мембраны с антителами к актину (Clone C4, Millipore, США) аналогично обработке антителами к HSP-70 (рис. 3А).

Статистическая обработка данных. Статистическую значимость межгрупповых различий оценивали с помощью однофакторного ANOVA с тестом Фишера «Least Significant Difference» (LSD) post hoc и непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистическая значимость различий альтернативных долей оценивалась с помощью метода φ (по Фишеру).

Результаты и обсуждение

В решении теста на экстраполяцию при его первом предъявлении различий между группами ГТ и контроль не было, а суммарно, по данным шести предъявлений теста, больше правильных решений было у мышей после ГТ (83,3% и 56,7%, различие достоверно, $p < 0,05$). Мыши группы ГТ выполняли тест (время подхода к боковому отверстию как при правильных, так и при неправильных решениях) недостоверно быстрее контрольных. Доли целенаправленных быстрых (<20 с) подходов к боковому отверстию были 44% и 30% соответственно (различия недостоверны, метод φ по Фишеру).

Время решения практически всех проб теста на поиск входа в укрытие в 1-й серии было короче у мышей после ГТ. Во 2-й серии (по 6 мышей в группах) различия во времени решения были ме-

нее четкими, чем в 1-й серии, но суммарно по двум сериям ГТ решение проб теста при «засыпанном» лазе происходило быстрее, чем в контроле (рис. 1А, $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни).

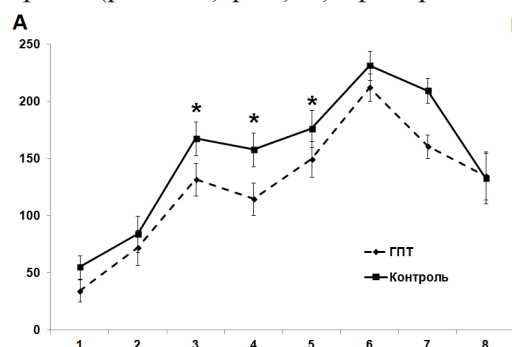


Рис. 1. Влияние однократного гипертермического воздействия на решение мышами когнитивных тестов. **А** — время (с, ось ординат) решения последовательных проб теста на поиск входа в укрытие мышами после ГТ (серая линия, $n=11$) и контрольными мышами (черная линия, $n=10$) суммарно для двух серий опытов (через 7 сут после гипертермического воздействия). По оси абсцисс — последовательные пробы теста. * — достоверно отличается от показателя контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни). **Б** — доли (% , ось ординат) мышей после ГТ и контрольных животных, решивших в тесте на поиск входа в укрытие его «когнитивные» пробы (пробы с 3 по 7). * — достоверно отличается от доли животных контрольной группы при $p < 0,05$ (метод ϕ — оценивающий различия альтернативных долей (по Фишеру).

Доли мышей, успешно решивших «когнитивные» этапы теста (т.е. те этапы, когда проникнуть в темную часть камеры можно было, только открыв замаскированный лаз), были выше у групп после ГТ, как была повышенной и активность ГТ-мышей в течение теста (стойки, подходы к лазу — эти данные не приводятся). Успешность решения «когнитивных» проб этого теста мышами двух групп показана на рис. 1Б.

В тесте «малое открытое поле» у мышей после ГТ было достоверно больше стоек ($34,2 \pm 3,6$ и $18,8 \pm 4,6$, $p < 0,05$), что свидетельствует о более высокой активности этих животных при исследовании новой обстановки.

В тесте Порсолта (неизбегаемое плавание) у мышей после ГТ число эпизодов активного и пассивного плавания было достоверно больше, чем у контрольных животных (4,6 и 3,0, $p < 0,05$ — для активного плавания; 9,8 и 5,2, $p < 0,05$ — для пассивного), т.е. мыши после ГТ меньше время сохраняли неподвижность.

Анализ нейрогенеза (подсчет новых клеток в двух пролиферативных зонах переднего мозга, рис. 2) показал значимое снижение числа клеток, меченных Ki67 через 24

и 48 ч после ГТ. Можно отметить, что в SVZ число пролиферирующих клеток восстановилось, по всей видимости, раньше, чем в FDH.

В целом, последствия однократного действия

повышенной температуры можно охарактеризовать как «активирующие», поскольку эти животные быстрее решали тест на экстраполяцию, более быстро и эффективно справлялись с «когнитивными» пробами в тесте на поиск входа в укрытие (что описано нами впервые), а также были более активны и в «малом открытом поле», и в тесте Порсолта. Малый размер экспериментальных групп в ряде случаев не позволяет говорить о достоверности межгрупповых различий показате-

лей ряда других тестов (например, теста «приподнятого крестообразного лабиринта» и тестов на новизну), поэтому эти данные в статье не приводятся.

Интенсивность пролиферации в зубчатой фации гиппокампа взрослого мозга, которая, по нашим данным, была достоверно подавлена че-

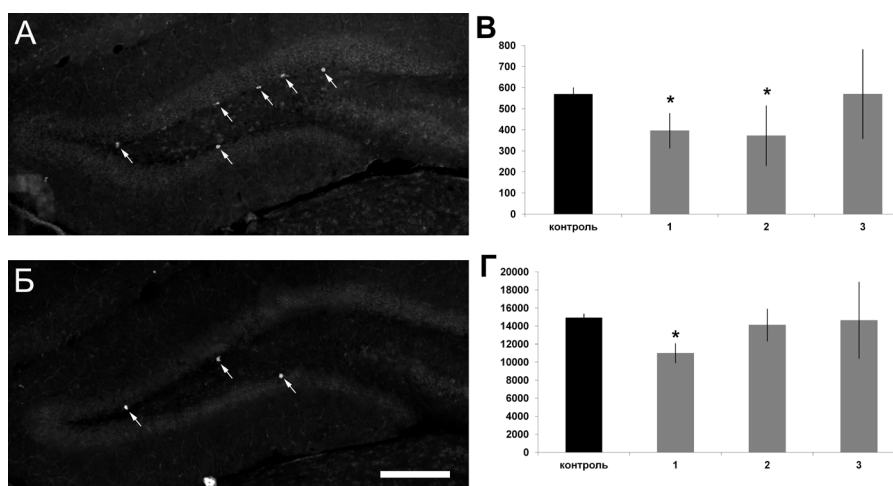
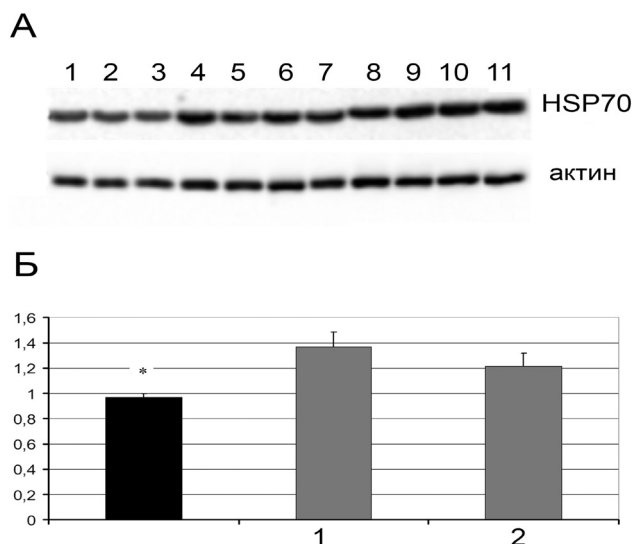


Рис. 2. Влияние однократного прогревания на уровень нейрогенеза в пролиферативных зонах переднего мозга. Микрофотографии срезов мозга мыши в зубчатой фации гиппокампа (FDH) в контроле (А) и через 24 ч после температурного воздействия (Б). Масштаб — 100 мкм. **В** — число пролиферирующих клеток (маркер Ki67) в субгранулярном слое FDH, **Г** — то же в субвентрикулярном слое бокового желудочка (SVZ) мышей в контроле (черные столбики) и после ГТ (серые столбики) в сроки через 24, 48 и 96 ч (1, 2 и 3 на оси абсцисс, соответственно). * — достоверно отличается от показателя контрольной группы (однофакторный ANOVA с post hoc Least Significant Difference by Fisher).

рез 24 и 48 ч после ГТ, связана с проявлениями когнитивных способностей достаточно сложно [27], причем временные параметры развития этих эффектов обычно остаются неизвестными. Динамика экспрессии HSP-70 у мышей-гибридов F1 (CBAx5BL/6J) в условиях данного эксперимента (активация экспрессии через 3 ч после ГТ и снижение эффекта через 24 ч) очевидным образом опережает модуляцию нейрогенеза (рис. 3). Однако нельзя ожидать непосредственного влияния ГТ на генерацию новых клеток в пролиферативных зонах мозга через несколько часов после воздействия. В целом, связь между продукцией новых клеток в процессе нейрогенеза и пластичностью поведения может быть частично опосредована продукцией нейротрофинов, в частности, BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) [28, 29], и модулирующими влияниями ГТ на глутаматергическую систему [30]. Отсутствие четкой информации о времени развития процессов активации HSP-70 и нейрогенеза затрудняет однозначную интерпретацию данных по эффектам ГТ, описанных в настоящей статье.

Рис. 3. Анализ содержания HSP-70 в мозге мышей после краткого гипертермического воздействия. **А** – результат вестерн-блот анализа содержания HSP-70 в гиппокампе мышей в контроле (1–3), через 24 ч (4–7) и через 3 ч (8–11) после 90-минутного нагревания до 39,5°C. **Б** – количественный анализ оптической плотности (ось ординат) линий фореа (среднее ± ошибка среднего). Черный столбик – контроль, серые столбики – группы с ГТ (1 – через 3 ч, 2 – через 24 ч после воздействия). * – достоверно отличается от показателя контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни).



тельно. Очевидно, на важность подобного явления, оно нуждается в более подробном исследовании. Однако, несмотря на небольшое число животных в каждой из серий, обнаруженные в этих экспериментах эффекты ГТ позволяют говорить об эффективности такого воздействия в

аспекте активации адаптивных реакций животного. Это особенно очевидно по результатам теста на поиск входа в укрытие, который мыши после ГТ решали не только быстрее, но и более успешно. Эффект усиления когнитивных способностей животных после ГТ, описанный в настоящей статье, обнаружен впервые. Это может быть важным для дальнейшего исследования молекулярно-генетических основ реакции животного на экстремальные воздействия.

В заключение следует отметить, что кратковременное (1,5 ч) однократное нагревание (39,5°C) изменило выполнение мышами-гибридами (F1 CBA x C57BL/6J) когнитивных тестов, а также активировало поведение животных в целом. Через 24 ч после воздействия повышенной температуры в субгранулярной области гиппокампа и в субвентрикулярной зоне переднего мозга было отмечено достоверное снижение числа делящихся клеток, а экспрессия белка теплового шока HSP-70 была достоверно повышена по сравнению с контролем через 3 ч после ГТ, но не через 24 ч.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-29-01001), а также в рамках темы госрегистрации «AAAA-A16-116021660055-1».

Эксперименты с животными осуществлялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В. Молекулярные, клеточные и протективные функции белка теплового шока 70 кДа // Нейронауки. 2005. Т.2. № 2. С. 3–25.

2. De Maio A. Extracellular HSP70: export and

function // Curr. Protein Pept. Sci. 2014. Vol. 15. N 3. P. 225–231.

3. Bozaykut P., Ozer N.K., Karademir B. Regulation of protein turnover by heat shock proteins // Free

Radic. Biol. Med. 2014. Vol. 77. P. 195–209.

4. Ren M., Leng Y., Jeong M., Leeds P.R., Chuang D.M. Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction // J. Neurochem. 2004. Vol. 89. N 6. P. 1358–1367.

5. Santoro M.G. Heat shock factors and the control of the stress response // Biochem. Pharmacol. 2000. Vol. 59. N 1. P. 55–63.

6. Zlatković J., Bernardi R.E., Filipović D. Protective effect of Hsp70i against chronic social isolation stress in the rat hippocampus // J. Neural. Transm. (Vienna). 2014. Vol. 121. N 1. P. 3–14.

7. Duhan V., Joshi N., Nagarajan P., Upadhyay P. Protocol for long duration whole body hyperthermia in mice // J. Vis. Exp. 2012. Vol. 25. N 66: e3801.

8. Bobkova N., Guzhova I., Margulis B., Nesterova I., Medvedinskaya N., Samokhin A., Alexandrova I., Garbuz D., Nudler E., Evgen'ev M. Dynamics of endogenous HSP70 synthesis in the brain of olfactory bulbectomized mice // Cell Stress Chaperon. 2013. Vol. 18. N 1. P. 109–118.

9. Evgen'ev M.B., Krasnov G.S., Nesterova I.V., Garbuz D.G., Karpov V.L., Morozov A.V., Snezhkina A.V., Samokhin A.N., Sergeev A., Kulikov A.M., Bobkova N.V. Molecular mechanisms underlying neuroprotective effect of intranasal administration of human hsp70 in mouse model of Alzheimer's disease // J. Alzheimers. Dis. 2017. Vol. 59. N 4. P. 1415–1426.

10. Chen S., Brown I.R. Neuronal expression of constitutive heat shock proteins: implications for neurodegenerative diseases // Cell Stress Chaperon. 2007. Vol. 12. N 1. P. 51–58.

11. Zhu C., Wu Y., Chen S., Yu M., Zeng Y., You X., Xiao J., Wang S. Protective immune responses in mice induced by intramuscular and intranasal immunization with a *Mycoplasma pneumoniae* P1C DNA vaccine // Can. J. Microbiol. 2012. Vol. 58. N 5. P. 644–652.

12. Wang Y.S., Liu S.J., Huang S.C., Chang C.C., Huang Y.C., Fong W.L., Chi M.S., Chi K.H. Recombinant heat shock protein 70 in combination with radiotherapy as a source of tumor antigens to improve dendritic cell immunotherapy // Front. Oncol. 2012. Vol. 2: 149.

12. Ohnishi K., Matsumoto H., Takahashi A., Wang X., Ohnishi T. Heat shock transcription factor, HSF, is activated by ultraviolet irradiation // Photochem. Photobiol. 1996. Vol. 64. N 6. P. 949–952.

13. Liu F.F., Miller N., Levin W., Zanke B., Cooper B., Henry M., Sherar M.D., Pintilie M., Hunt J.W., Hill R.P. The potential role of HSP70 as an indicator of response to radiation and hyperthermia treatments for recurrent breast cancer // Int. J. Hyperthermia. 1996. Vol. 12. N 2. P. 197–208.

14. Lee H.J., Lee Y.J., Kwon H.C., Bae S., Kim S.H.,

Min J.J., Cho C.K., Lee Y.S. Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats // Am. J. Pathol. 2006. Vol. 169. N. 5. P. 1601–1607.

15. Schildkopf P., Frey B., Ott O.J., Rubner Y., Multhoff G., Sauer R., Fietkau R., Gajpl U.S. Radiation combined with hyperthermia induces HSP70-dependent maturation of dendritic cells and release of pro-inflammatory cytokines by dendritic cells and macrophages // Radiother. Oncol. 2011. Vol. 101. N 1. P. 109–115.

16. Fedotova I.B., Nikolaev G.M., Kostyna Z.A., Poletaeva I.I. Remote effects of short-term neonatal hyperthermia in Krushinsky-Molodkina rats prone to audiogenic seizures strain // Dokl. Biol. Sci. 2017. Vol. 472. N 1. P. 1–3.

17. Крушинский Л.В. Биологические основы рас-судочной деятельности / М.: Изд. МГУ, 1977. 272 с.

18. Poletaeva I.I., Popova N.V., Romanova L.G. Genetic aspects of animal reasoning // Behav. Genet. 1993. Vol. 23. N 5. P. 467–475.

19. Perepelkina O.V., Golibrodo V.A., Lilp I.G., Poletaeva I.I. Selection of mice for high scores of elementary logical task solution // Dokl. Biol. Sci. 2015. Vol. 460. N 1. P. 52–56.

20. Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L., Liu L., Monleón S., Gregoryan G., Fernandes C., Schalkwyk L.C., Plomin R. Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice // Behav. Genet. 2005. Vol. 35. N 5. P. 675–692.

21. Ben Abdallah N.M.-B., Fuss J., Trusel M., Galsworthy M.J., Bobsin K., Colacicco G., Deacon R.M., Riva M.A., Kellendonk C., Sprengel R., Lipp H.P., Gass P. The puzzle box as a simple and efficient behavioral test for exploring impairments of general cognition and executive functions in mouse models of schizophrenia // Exp. Neurol. 2011. Vol. 227. N 1. P. 42–52.

22. Porsolt R.D. Animal model of depression // Biomedicine. 1979. Vol. 30. N 3. P. 139–140.

23. Zucca P., Milos N., Vallortigara G. Piagetian object permanence and its development in Eurasian jays (*Garrulus glandarius*) // Anim. Cogn. 2007. Vol. 10. N 2. P. 243–258.

24. Timoshenko T.V., Perepelkina O.V., Markina N.V., Revischin A.V., Pavlova G.V., Poletaeva I.I., Sukhih G.T. Audiogenic epilepsy in mice with different genotypes after neonatal treatments enhancing neurogenesis in dentate gyrus // Bull. Exp. Biol. Med. 2009. Vol. 147. N 4. P. 458–461.

25. Cleveland D.W., Fischer S.G., Kirschner M.W., Laemmli U.K. Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulfate and analysis by gel electrophoresis // J. Biol. Chem. 1977. Vol. 252. N 3. P. 1102–1106.

26. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W.

NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis // Nat. Methods. 2012. Vol. 9. N 7. P. 671–675.

27. Lipp H.-P. Evolutionary shaping of adult hippocampal neurogenesis in mammals—cognitive gain or developmental priming of personality traits? // Front. Neurosci. 2017. Vol. 11: 420.

28. Vilar M., Mira H. Regulation of neurogenesis by neurotrophins during adulthood: expected and unexpected roles // Front Neurosci. 2016. Vol. 10: 26.

29. Rossi C., Angelucci A., Costantin L., Braschi C., Mazzantini M., Babbini F., Fabbri M.E., Tessarollo L., Maffei L., Berardi N., Caleo M. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment // Eur. J. Neurosci. 2006.

Vol. 24. N 7. P. 1850–1856.

30. Hashimoto K., Tomitaka S., Bi Y., Narita N., Minabe Y., Iyo M. Rolipram, a selective phosphodiesterase type-IV inhibitor, prevents induction of heat shock protein HSP-70 and hsp-70 mRNA in rat retrosplenial cortex by the NMDA receptor antagonist dizocilpine // Eur. J. Neurosci. 1997. Vol. 9. N 9. P. 1891–1901.

31. Wetsel W.C. Hyperthermic effects on behavior // Int. J. Hyperthermia. 2011. Vol. 7. N 4. P. 353–373.

Поступила в редакцию 01.12.2018 г.

После доработки 15.04.2019 г.

Принята в печать 23.04.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

THE EFFECT OF A SINGLE HEATING TREATMENT ON LABORATORY MICE BEHAVIOUR, ADULT NEUROGENESIS AND THE EXPRESSION OF HEATSHOCK PROTEIN HSP70

O.V. Perepelkina¹, N.A. Ogienko¹, I.G. Lilp¹, D.G. Garbuz², A.V. Revishchin³,
G.V. Pavlova³, I.I. Poletaeva^{1,*}

¹Department of Higher Nervous Activity, School of Biology, Lomonossov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

²Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Vavilova str. 32, Moscow, 119991, Russia;

³Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Vavilova str., 34/5, Moscow, 119334, Russia

*e-mail: ingapoletaeva@mail.ru

Male hybrid mice (F1 CBA x C57BL/6J) were kept for 1.5 h at the temperature 39,5°C. In cognitive tests (extrapolation and puzzle-box elementary logic task solution) mice of experimental groups (after being kept in elevated temperature environment) solved the tasks more quickly and more successfully, while their activity the «small open field» (in which no stress-inducing stimuli were present) and in Porsolt test (unescapable swimming) was higher than in control mice. tests they were also more active. In separate experiments the temporary impairment in the adult neurogenesis (the decrease of new cells numbers detected immuno-histochemically by the marker Ki67) after elevated temperature exposure was demonstrated in both subgranular area of dentate fascia and in subventricular proliferative zone of the forebrain. The heating treatment was accompanied by the increase of HSP70 expression at the time point 3 h after the treatment but which was not different from the controls after 24 h.

Keywords: hyperthermia, behavioral activation, cognitive ability, elementary logic task, adult neurogenesis, heat shock proteins, hybrid F1 mice

Сведения об авторах

Перепелкина Ольга Викторовна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-68; e-mail: o_perepel73@mail.ru

Огиенко Надежда Александровна — аспирант кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-68; e-mail: esperanzao@mail.ru

Лильи Ирина Германовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры высшей нервной дея-

тельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-68; e-mail: lilp@mail.ru

Гарбуз Давид Григорьевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Института молекулярной биологии РАН. Тел.: 8-499-135-23-11; e-mail: dgarbuz@yandex.ru

Ревущин Александр Владимирович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории нейрогенетики и генетики развития Института биологии гена. Тел.: 8-499-135-25-41; e-mail: revishchin@mail.ru

Павлова Галина Валериевна — докт. биол. наук, зав. лабораторией нейрогенетики и генетики развития Института биологии гена РАН. Тел.: 8-499-135-25-41; e-mail: lkorochkin@mail.ru

Полетаева Инга Игоревна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-68; e-mail: ingapoletaeva@mail.ru