

СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ И КОГНИТИВНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ: ПОИСК МИШЕНЕЙ И ОБЩИХ МЕХАНИЗМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МУТАНТОВ ДРОЗОФИЛЫ

© 2024 г. Д. М. Каровецкая^{1,2}, А. В. Медведева², Е. В. Токмачева², С. А. Васильева^{1,2}, А. В. Реброва¹, Е. А. Никитина^{1,2,*}, Б. Ф. Щеголев², Е. В. Савватеева-Попова²

¹Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: 21074@mail.ru

Поступила в редакцию 11.04.2023 г.

После доработки 29.07.2023 г.

Принята к публикации 30.07.2023 г.

По современным представлениям биохимические каскады, активируемые в ответ на стрессорное воздействие, вносят вклад и в когнитивные функции — обучение и формирование памяти. Рассматривая условный рефлекс как адаптацию к внешней среде, можно предположить его возникновение как реакцию на внешние вызовы, которые при подкреплении способствуют формированию условной связи, а при отсутствии вызывают развитие стрессорной реакции. Метаболическая активность организма неразрывно связана с циркадными ритмами, которые определяют суточные колебания освещенности, температуры, содержания кислорода и магнитного поля. Интеграция перечисленных таймеров осуществляется белком семейства криптохромов (CRY), выполняющим функции рецептора голубого света и известного как репрессор главного циркадного транскрипционного комплекса CLOCK/BMAL1. В целях разработки способов неинвазивной коррекции патологий нервной системы на модельном объекте генетики — дрозофиле с использованием мутантных линий изучается взаимосвязь адаптивных механизмов формирования условной связи и развития стрессорной реакции на ослабление магнитного поля, гипоксическое и температурное воздействие. Данные обсуждаются в свете роли системы CRY/CLOCK/BMAL1 как связующего звена магнитоцепции, гипоксии, регуляции циркадного ритма, когнитивных функций и двухпочечных разрывов ДНК в нервных ганглиях (показателя физиологической активности нейронов).

Ключевые слова: обучение, память, криптохромы, магнитное поле, гипоксия, температурное воздействие

DOI: 10.31857/S1027813324010065, EDN: GZALWO

ВВЕДЕНИЕ

Недооцененным вкладом в учение И. П. Павлова об условных рефлексах является открытие М. Е. Лобашевым и В. Б. Савватеевым роли условного рефлекса в преодолении стрессирующих воздействий. Пищевое подкрепление экстремальных стимулов — высокой температуры воды при содержании гидры, воздействие сильным (трещотка — 92 дБ) и сверхсильным звуковым генератором (частота — 800–850 Гц, сила звука — 107 дБ), а также подкормка в темновую фазу суток дневных птиц (куриц) позволила организмам адаптироваться к несвойственной среде обитания. При этом авторы отмечали, что формированию условной связи сопутствовало улучшение функционирования нервной системы, способности к выработке

условных рефлексов и другие “глубокие изменения в функциональных свойствах нервных клеток головного мозга” [1]. По-видимому, существует единый адаптационный механизм, лежащий в основе формирования стрессорной реакции и обучения, который позволяет с привлечением факторов, влияющих на тысячи генов-мишеней (например, некодирующие РНК), приспособиться к окружающей среде обитания. В настоящее время это положение подтверждается экспериментально. Согласно данным О. Г. Зацепиной с соавторами, в разных парадигмах обучения, будь то наказание или вознаграждение, используются механизмы реакции на стресс [2].

Адаптивные механизмы включаются с первых минут жизни организма, из них наиболее древние и консервативные должны определять реакцию на

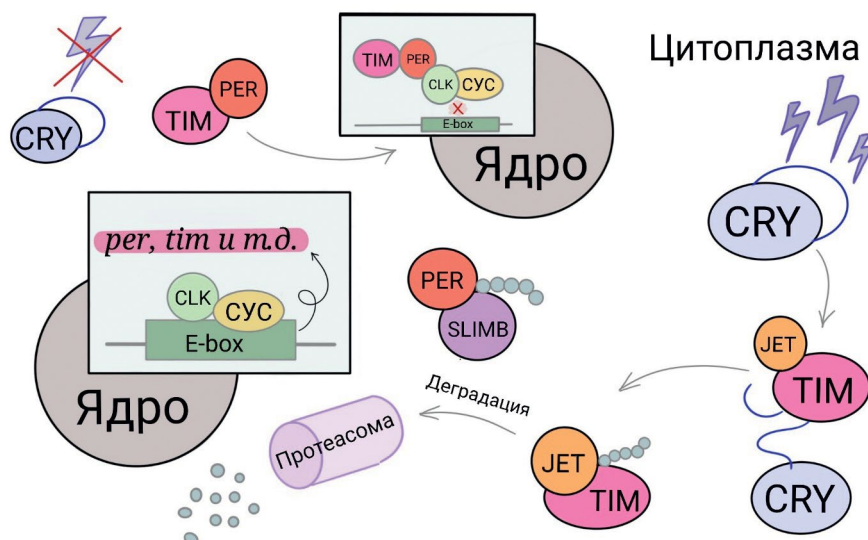


Рис. 1. Роль CRY в переключении молекулярных часов. Стрелки отражают влияние на процессы, описание которых изложено в тексте (адаптировано по Damulewicz, Mazzotta, 2020).

смену дня и ночи, освещение, температуру, давление, геомагнитную составляющую. Поиск общих механизмов, связывающих когнитивные функции и реакцию на стрессорное воздействие, приводит к пониманию значимости одной из основополагающих систем, затрагивающих все стороны функционирования организма — механизма формирования суточных ритмов. Одним из важнейших регуляторов этой системы являются криптохромы (CRY). Роль криптохромов в циркадных часах различна — у растений они являются сенсорами голубого света, у млекопитающих теряют светочувствительность, но в обоих случаях осуществляют функции репрессоров транскрипции генов циркадного ритма [3]. По-видимому, именно криптохромы являются наиболее древним сенсором, осуществляющим регуляцию внутренних часов животного и растительного мира.

У дрозофилы фоторецептор CRY, связываясь с белком TIMELESS (TIM) и разрушая его, синхронизирует метаболические петли обратной связи с циклами свет/темнота (рис. 1) [4, 5]. Активация экспрессии генов *per*, *tim* и других генов суточного ритма осуществляется с помощью белков CLOCK (CLK) и CYCLE (CYC) в вечернее время суток. Белки PER и TIM накапливаются в цитоплазме, а поздно ночью димеризуются и транслоцируются в ядро, где связываются с CLK/CYC и ингибируют их активность, тем самым подавляя транскрипцию собственных генов. В световую фазу CRY связывает TIM и способствует его деградации через протеасому по механизму, который включает белок F-box JETLAG (JET) [3].

Значение CRY многократно усиливается благодаря участию в посттранскрипционной регуляции

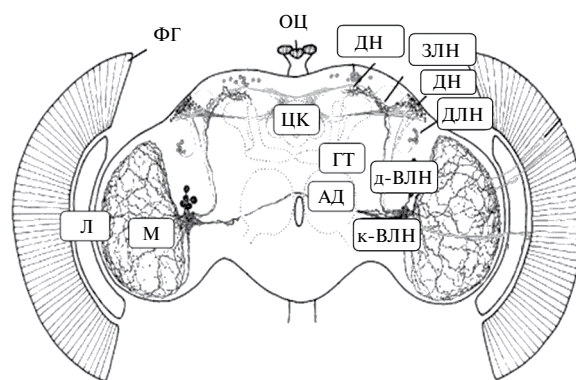


Рис. 2. Система циркадных осцилляторных нейронов мозга дрозофилы: АД — антеннальные доли; ФГ — фасеточные глаза; Л — ламина; М — медула; ГТ — грибовидное тело; ЦК — центральный комплекс; ОЦ — оцелли; к-ВЛН — короткие вентро-латеральные нейроны; д-ВЛН — длинные вентро-латеральные нейроны; ДЛН — дорзо-латеральные нейроны; ДН — дорсальные нейроны; ЗЛН — задне-латеральные нейроны (адаптировано по Helfrich-Förster, 2005).

за счет взаимодействия с BELLE-DEAD-box RNA геликазой, которая играет важную роль в метаболизме РНК, начиная со сплайсинга до созревания miРНК и siРНК [3, 6].

Система регуляции суточных ритмов дрозофилы состоит из 150 нейронов, дорсальных (ДН) и латеральных (ЛН) нейронов, разделенных на группы задне-латеральных (ЗЛН), вентро-латеральных (ВЛН) и дорзо-латеральных нейронов (ДЛН) (рис. 2) [3, 7]. Вентро-латеральные нейроны

классифицируют в зависимости от их относительного размера на малые и большие (м-ВЛН и б-ВЛН соответственно) [8]. м-ВЛН и б-ВЛН экспрессируют пигмент-дисперсионный фактор (PDF), нейропептид, участвующий в межклеточной коммуникации между нейронами циркадного ритма [9].

Криптохромы экспрессируются в системе вентро-латеральных к-ВЛН и д-ВЛН, дорзо-латеральных и дорзальных. При этом д-ВЛН имеют прямые синаптические контакты с дофаминовыми нейронами. Дофамин, как известно, играет ключевую роль в регуляции локомоции, половом поведении, обучении и памяти дрозофилы [10, 11]. Активированный CRY деполаризует мембрану, связываясь с редокс-чувствительной β -субъединицей (hyperkinetic) потенциал-зависимого $K(+)$ канала [3]. Нейроны суточного ритма контролируют функции грибовидного, веерообразного и эллипсоидного тел мозга дрозофилы, регулируя сон, во время которого, предположительно, происходит консолидация памяти [12–15]. На существование связи циркадных ритмов и формирования памятного следа указывают данные о неспособности мутантов по гену *per* к формированию долгосрочной памяти [16]. Обладающие фотолиазной активностью криптохромы класса DASH (*Drosophila*, *Arabidopsis*, *Synechocystis* и *Homo*) участвуют в репарации одноцепочечных разрывов ДНК [17]. Вместе с тем CRY подавляет гомологичную рекомбинацию при репарации двухцепочечных разрывов ДНК (ДЦР) в ночное время [18]. ДЦР играют не

последнюю роль в экспрессии ранних генов (*cFos* и *FosB*), обучении и формировании памятного следа [19].

Интересно, и, по всей видимости, неслучайно, что CRY опосредует реакцию на каждое из вышеперечисленных экологически значимых воздействий. Недаром исследованиям CRY посвящена статья под названием *One actor, multiple roles: the performances of cryptochrome in Drosophila* [3]. В связи с этим важно рассмотреть, посредством каких мишеней происходит восприятие стрессорных воздействий (с использованием мутантов дрозофилы с известным биохимическим проявлением) и какова их роль в формировании поведенческих реакций (обучении и памяти), а также в целостности генетического аппарата.

ГЕОМАГНИТНОЕ ПОЛЕ

С суточными ритмами неразрывно связано геомагнитное поле. Суточные вариации геомагнитного поля возникают регулярно в основном за счет токов в ионосфере Земли, вызванных изменениями освещенности земной ионосферы Солнцем в течение суток. Низкочастотное электромагнитное поле демонстрирует ярко выраженные 24-часовые колебания и, следовательно, может действовать как геофизический синхронизатор для циркадных часов [3]. Именно флавопротеин CRY является магнитосенсором, пики спектра действия которого находятся в диапазоне УФ-А (350–400 нм) с плато в ближнем синем диапазоне (430–450 нм) [5].

Механизм магниторецепции до сих пор остается непознанным, однако на сегодняшний день существует две гипотезы, ключевыми звеньями которых выступают криптохромы и магнетиты. Криптохромы считаются определяющими для светозависимой способности дрозофилы чувствовать магнитные поля [20].

Биологическая магниторецепция основана на влиянии магнитного поля на спиновую динамику радикальных пар репрессора транскрипции CRY. Незначительные изменения в спиновой динамике, индуцированные слабым магнитным полем (переход из синглетного состояния в триплетное), могут заметно повлиять на ход реакции (рис. 3) [21–23].

CRY, будучи репрессором главного циркадного транскрипционного комплекса CLOCK/BMAL1, который контролирует экспрессию сотен генов, включая гены-регуляторы циркадного ритма — *PER* и *TIM*, способствует адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды [24].

Магнитное поле влияет на поведение дрозофилы [25]. При освещении полного спектра

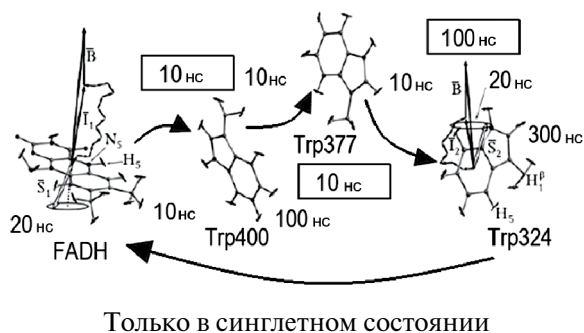


Рис. 3. Схема влияния магнитного поля на радикальные пары, формирующиеся между FADH (восстановленный флавинадениндинуклеотид) и триптофаном в активном сайте молекулы CRY: S_1 и S_2 — неспаренные электронные спины, которые прецессируют в локальном магнитном поле, образованном наложением внешнего магнитного поля на собственные магнитные поля I_1 и I_2 ядерных спинов. Обратный перенос электронов от триптофана на FADH гасит активное состояние криптохрома при условии нахождения электронных спинов в синглетном состоянии (адаптировано по Solov'yov, Schulten, 2009).

в поведенческом анализе магниточувствительности мухи демонстрировали избегание магнитного поля, но не реагировали, когда УФ-А/синий свет (менее 420 нм) блокировался. У *cry* мутантов наблюдалась аналогичная картина, что указывает на вовлечение CRY в светозависимое магнитное восприятие у *Drosophila*. Приложение электромагнитного поля вызывало удлинение циркадного периода двигательной активности, и этот эффект был сильнее, когда мухи подвергались постоянному воздействию синего света, что, вероятно, является результатом усиления функций CRY [3].

В лаборатории нейрогенетики Института физиологии им. И. П. Павлова РАН для выявления внутриклеточных мишеней действия магнитного поля Земли было предпринято изучение влияния ослабленного статического магнитного поля (ОСМП) в камере из магнитомягкого сплава АМАГ172, ослабляющей магнитное поле Земли в 35 раз с привлечением различных линий дрозофилы [26]. В эксперименте использовали мутантную линию дрозофилы *agn^{ts3}* (ЦКП “Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем”), которая характеризуется мутационным повреждением гена *CG1848 LIM*-киназы 1 [27]. LIMK1 — важнейший фактор сигнальной трансдукции, фосфорилирует фактор деполимеризации актина — кофилин; ремоделирование актинового цитоскелета определяет синаптическую пластичность нервной системы, облегчая кластеризацию и интернализацию рецепторов и регулируя плотность и морфологию шипиков дендритов [28]. Кроме того, актин непосредственно взаимодействует с комплексами ремоделирования хромосом, транскрипционными факторами и РНК-полимеразами, регулируя транскрипционный выход клетки [29]. Способность к обучению и формированию среднесрочной памяти самцов оценивали в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания [30]. Мутация *agn^{ts3}* нарушает обучение и память при перmissive температуре, однако воздействие ОСМП восстанавливает когнитивные функции *agn^{ts3}* в отличие от контрольной линии дикого типа *CS*, у которой нарушается формирование 3-часовой памяти. Изучение реципрокных гибридов показало наследование отцовского паттерна поведения и реакции на стрессорное воздействие не только когнитивных функций, но и целостности хромосомного аппарата (частота ДЦР, уровня хроматидных мостов в анафазе нейробластов личинок) [31]. Эти данные свидетельствуют как о роли динамики актинового цитоскелета в качестве мишени ОСМП, так и об участии транс-генерационных факторов, в частности мир-РНК, обеспечивающих патроклинную реакцию на стрессорное воздействие. Интересно, что 6 мир-РНК, профиль которых изменен у мутанта

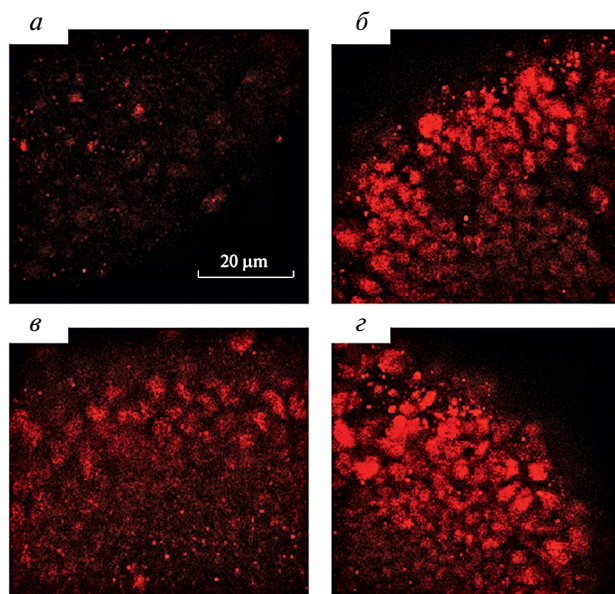


Рис. 4. Иммунохимический анализ ДЦР в нервных ганглиях личинок дрозофилы с помощью антител к Ser137-фосфо-H2Av: а — ядра DopLIMK- (подавление гена *limk1* в дофаминовых нейронах) в н.у.; б — ядра DopLIMK- после воздействия ОСМП; в — ядра DopLIMK + (ген *limk1* функционирует); г — ядра DopLIMK + после воздействия ОСМП (по Медведева и др., 2022).

с аритмическим суточным ритмом *cyc⁰¹* (miR-263a, miR-133, miR-124, miR-184, miR-210, miR-276b), также достоверно отличается у *agn^{ts3}* от уровня ряда линий дикого типа [32, 33]. При этом в отношении транс-генерационного наследования наиболее интересна miR-124, которая экспрессируется в раннем развитии (0–12 ч) и регулирует синаптическую трансмиссию, морфогенез дендритов, дифференцировку нервной системы [34], участвует в регуляции полового поведения самцов за счет контроля синтеза соответствующих феромонов [35]. Подобную функцию может исполнять и *let-7*, содержание которой снижено у *agn^{ts3}*. *Let-7* экспрессируется в семенниках, участвует в формировании нервной системы и регулирует циркадные ритмы [36].

Было проведено изучение роли LIMK1, в частности, подавления трансляции с помощью РНК-интерференции с использованием бинарного конструкта Gal4-UAS, в отдельных — дофаминовых и серотониновых — нейронах в формировании стрессорной реакции на ОСМП [37]. Известно значение серотонин-дофаминовой оси в формировании долгосрочной памяти. Важную роль в данном процессе играет дофамин — медиатор системы внутреннего вознаграждения у млекопитающих и насекомых [38]. Дофаминергические нейроны также играют ключевую роль

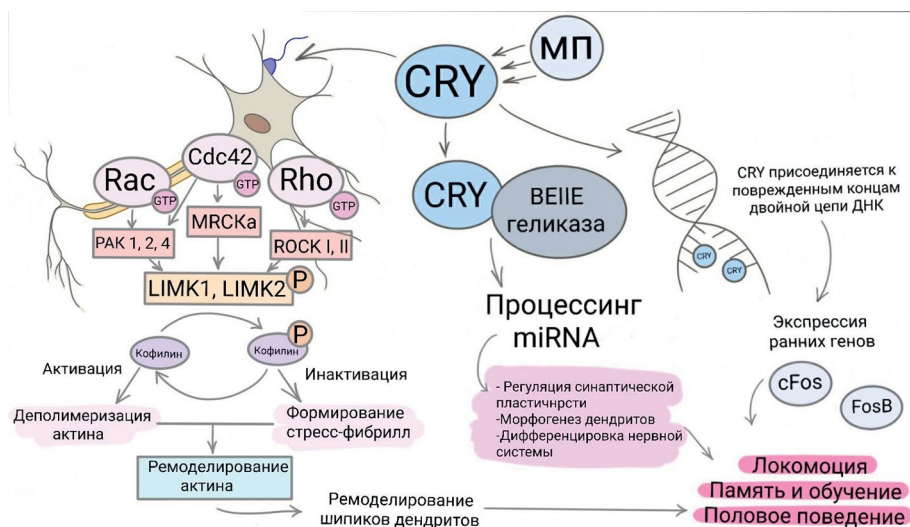


Рис. 5. Гипотетическая схема влияния магнитного поля через магнитосенсор CRY. Стрелки отражают влияние на процессы, описание которых изложено в тексте.

в механизмах активного забывания [39]. Взаимодействие этих нейронных систем влияет на локомоторную активность [40]. Матричные процессы в нейронах сопровождаются ДЦР. Предполагается, что ДЦР при ремоделировании хроматина необходимы для экспрессии генов, вовлеченных в процессы формирования памяти и обучения [41]. Нарушения митоза в результате ДЦР создают основу соматического мозаицизма нейронов, по-видимому, имеющего важное функциональное значение [42]. Анализ иммуногистохимических данных (фокальные срезы анализировали в ЦКП “Конфокальная микроскопия” Института физиологии им. И. П. Павлова РАН на лазерном сканирующем микроскопе LSM 710 Carl Zeiss) показал наличие межлинейных различий по частоте ДЦР и увеличение уровня ДЦР после ОСМП (рис. 4). Известно, что гены циркадного ритма — магнитосенсоры *cryptochrome* (*CRY1* и *CRY2*), а также *period* (*PER1*, *PER2*, *PER3*) и *timeless* (*TIM*) вовлечены в узнавание и репарацию повреждений ДНК [43]. При этом дисфункция системы Tim-Tipin приводит к увеличению уровня фосфорилирования гистона H2AX и частоты ДЦР [44].

Оказалось, что низкий уровень LIMK1 способствует обучению в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания, но не формированию среднесрочной памяти. В то же время у линии с повышенным содержанием LIMK1 стрессорное воздействие восстанавливает способность к обучению и формированию памяти [37]. Таким образом, уровень LIMK1 дофамин- и серотонинергических нейронов значим для стрессорного ответа как на геномном, так и на поведенческом уровнях. В работе Карки с соавторами

показано, что CRY-зависимые от магнитного поля эффекты проявляются в спайковой активности нейронов, локомоторной активности и поведении в Т-образных лабиринтах [5]. Каждый из вышеперечисленных феноменов вносит вклад в условно-рефлекторное подавление ухаживания. Полученные нами данные свидетельствуют о важной роли дофаминовых и серотониновых нейронов в рецепции магнитных и световых воздействий посредством ремоделирования актинового цитоскелета и изменения паттерна ДЦР. По материалам литературных и собственных данных можно предложить следующую гипотетическую схему влияния на организм магнитного поля через магнитосенсор CRY (рис. 5).

ГИПОКСИЯ

Циркадные часы тесно связаны с гипоксическим сигнальным путем. Суточная осцилляция гликолитических метаболитов, а также циркадные колебания соотношений основных клеточных окислительно-восстановительных элементов НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН нарушаются при гипоксии. Существует двунаправленная связь на молекулярном, физиологическом и организменном уровне [45]. Известно, что промотор ключевого транскрипционного регулятора адаптации к кислородному голоданию — HIF1 содержит регуляторный мотив для генов контроля суточного ритма [46]. При этом HIF1 непосредственно связывается с промоторами ключевых циркадных генов [47]. CRY, контролирующий циркадные ритмы через гетеродимер CLOCK/BMAL1 (гомологичен CLK/CYC дрозофилы), ограничивает

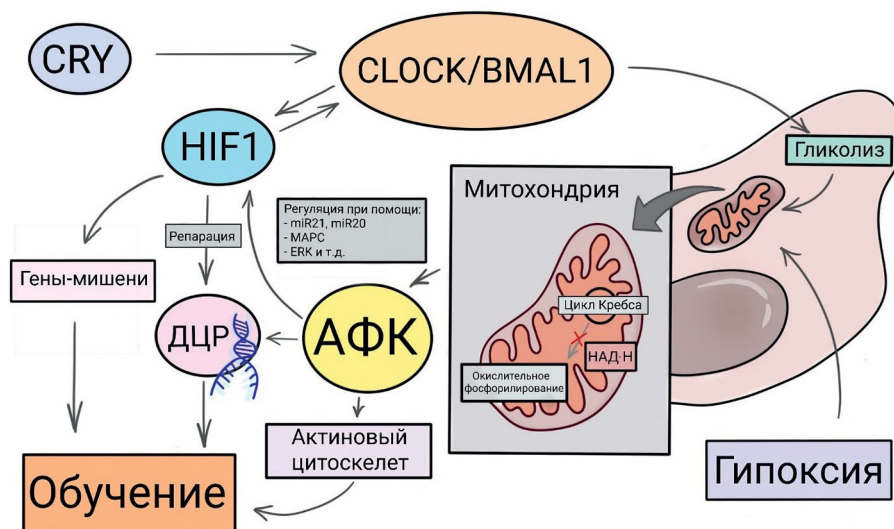


Рис. 6. Схематическое изображение взаимодействия систем циркадного ритма и стрессорного ответа на гипоксию: АФК — активные формы кислорода, ДЦР — двухцепочечные разрывы. Стрелки отражают влияние на процессы, описание которых изложено в тексте.

транскрипцию чувствительных к гипоксии генов посредством репрессии гетеродимеров HIF1 α -BMAL1 [48].

В контексте общих механизмов адаптивных реакций значимым является протекторный эффект магнитного поля при гипоксии и развитии оксидативного стресса [49]. В связи с взаимодействием этих систем генов возможен и общий механизм воздействия магнитного поля и гипоксии на когнитивные функции и хромосомный аппарат. В условиях гипоксии наблюдается усиление продукции активных форм кислорода [50]. В первые мгновения гипоксии комплекс I электронно-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий претерпевает конформационные изменения, теряет способность транспортировать H⁺ в межмембранное пространство, способствуя закислению митохондриального матрикса. При этом фосфат кальция в матриксе частично растворяется, высвобождая ионы Ca²⁺, что приводит к активации Ca²⁺/Na⁺ обменника и входу Na⁺ в митохондрию. Взаимодействие Na⁺ с карбонильной группой фосфолипидов с формированием агрегатов увеличивает вязкость внутренней мембраны митохондрий, это затрудняет образование функциональных суперкомплексов ЭТЦ. Отсутствие O₂ в качестве терминального окислителя, а также дисфункция комплексов ЭТЦ приводит к обратному переносу электронов и гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) [50]. Относительно экранирования магнитного поля известно, что ОСМП влияет на функционирование митохондрий, это ведет к гиперпродукции АФК [51].

Будучи производными митохондриального дыхания, в нормальных условиях АФК являются

сигнальными молекулами, однако при гиперпродукции оказывают повреждающее действие на клеточные органеллы и, в частности, на ДНК, вызывая образование ДЦР [52]. Известно, что для нервных клеток характерен высокий уровень повреждения ДНК из-за интенсивных свободно-радикальных процессов в мозге, что может иметь как негативные, так и позитивные последствия. Недавние исследования выявили высокие уровни “запрограммированных” разрывов ДНК в нейронах, которые, вероятно, возникают во время физиологических метаболических процессов ДНК, присущих развитию, дифференцировке, поддержанию нейронов и, что важно, эпигенетической регуляции [53]. В связи с этим была предпринята попытка изучения характера перестроек хромосом в нервных ганглиях личинок, вызванных гипоксией. Оказалось, что у дрозофилы увеличивается профиль мостов после 30 мин гипоксии, 15 мин из которых — с 3%-ным уровнем кислорода. Мосты являются следствием негомологичной репарации ДЦР и изохроматидных разрывов при асимметричных хроматидных транслокациях. Для линии *agn^{ts3}* в норме характерна высокая частота перестроек и мостов по сравнению с контролем. По-видимому, предпочтительный способ репарации повреждений путем слияния негомологичных концов разрывов и неаллельное гомологичное спаривание является следствием измененной динамики ремоделирования актина у *agn^{ts3}*. Известно, что активные филаменты участвуют в кластеризации поврежденных участков ДНК и, соответственно, в репарации ДЦР [54]. При гипоксическом воздействии наблюдается двукратное

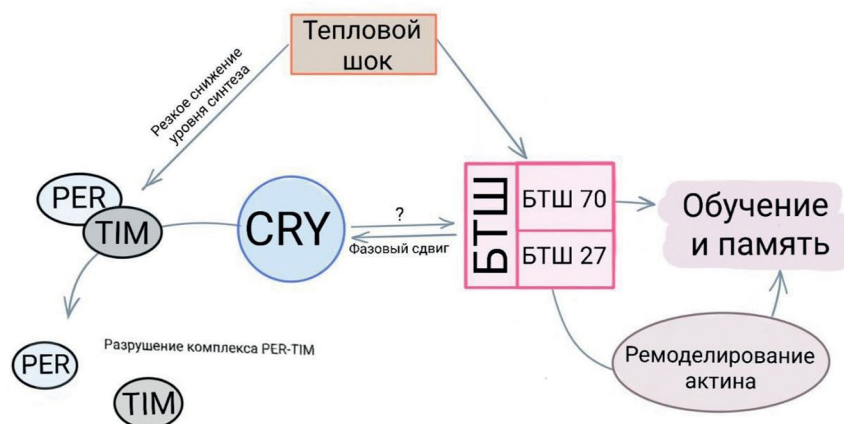


Рис. 7. Схема взаимосвязи системы циркадных ритмов и стрессорного ответа на температурный шок. БТШ – белки теплового шока. Стрелки отражают влияние на процессы, описание которых изложено в тексте.

увеличение профиля отставших хромосом у *agn^{ts3}* по сравнению с контрольной линией. Отставание хромосом происходит не только при нарушении аппарата клеточного деления, но и при симметричном межхроматидном обмене. Таким образом, связь суточных ритмов с содержанием кислорода опосредуется у дрозофилы динамикой актинового цитоскелета и формированием ДЦР, что сказывается на когнитивных функциях. По-видимому, это объясняется тем, что окислительно-восстановительная регуляция является одним из основных модуляторов актинового цитоскелета и связанных с ним белков [55]. Согласно нашим исследованиям, при обучении мух в условиях гипоксии способность к обучению, но не среднесрочной памяти, достоверно выше по сравнению с обученными до или после гипоксического воздействия [56]. Это может быть обусловлено ролью HIF1, его экспрессия регулируется в том числе избытком АФК. HIF1 не только участвует в репарации ДНК, но и стимулирует транскрипцию генов, являющихся нейротекторами нервной системы (*VEGF*, *EPO*, *HO-1*, *ADM*, *Glut-1*) [57–59]. На рис. 6 представлена схема взаимовлияния систем циркадного ритма и стрессорного ответа на гипоксическое воздействие.

ТЕМПЕРАТУРА

Будучи пойкилотермным организмом, дрозофила зависит от колебания температуры и в соответствии с температурным воздействием регулирует свое поведение, избегая повышенных и пониженных режимов [60]. В природе дневной цикл свет/темнота и флуктуация температуры используются организмом для синхронизации внутренних часов суточного ритма и являются своеобразными

таймерами. Циркадные часы дрозофилы могут быть легко синхронизированы с помощью температурных циклов с амплитудой 2–3°C, а различные подмножества нейронов циркадного ритма специфически участвуют в обеспечении синхронизации часов при высоких (дорзальные) или низких температурах (задне-латеральные) [61]. Температурные циклы значительно влияют на уровень TIM в CRY-негативных нейронах [62]. CRY гасит индуцированные температурой колебания PER в дорзальных нейронах [61], и в соответствии с этим отсутствие CRY в нейронах суточного ритма увеличивает способность мух синхронизироваться с температурными циклами. Таким образом, CRY играет важную роль в противодействии влиянию температурных циклов на молекулярные циркадные часы, тем самым способствуя интеграции таймеров [3]. Нефизиологические температуры (около 37°C) вызывают сбой функционирования внутриклеточных часов. Если для растений доказана роль CRY в регуляции генов теплового шока [63], то значение CRY в реакции на тепловой шок животного царства находится на стадии пристального изучения. Показано, что тепловой шок вызывает резкое снижение уровня белков PER и TIM. Выдвигается предположение о роли CRY в индуцированном температурой разрушении комплекса PER – TIM [60]. Изучаются метаболические пути, которые связывают температуру с циркадными ритмами дрозофилы. Нокдаун пути теплового шока влияет как на циркадный фазовый сдвиг, так и на температурную регуляцию сна [64]. У линий с делециями генов БТШ70 наблюдается тенденция к снижению продолжительности жизни на свету [65].

По имевшимся ранее представлениям, тепловой шок как стрессорный фактор оказывает на

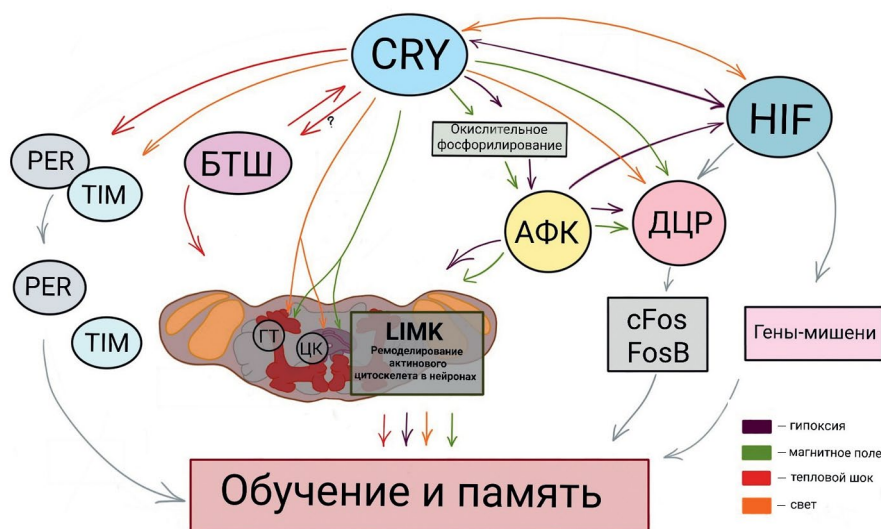


Рис. 8. Гипотетическая схема роли CRY: БТШ — белки теплового шока; АФК — активные формы кислорода; ДЦР — двухцепочечные разрывы; ГТ — грибовидные тела; ЦК — центральный комплекс. Стрелки отражают влияние на процессы, описание которых изложено в тексте.

живые объекты только негативное воздействие, в том числе путем модификации продуктов мутантных аллелей [66]. Однако детальное изучение БТШ и установление их шаперонной функции привело к переосмыслению роли теплового шока. Согласно нашим данным, мутация *agn^{ts3}* при перmissive температуре нарушает обучение и память при условно-рефлекторном подавлении ухаживания у самцов, при воздействии теплового шока эти показатели восстанавливаются до уровня дикого типа [67, 68]. В этой связи интересны данные о роли белков теплового шока (БТШ70) в обучении и памяти, а также регулирующем влиянии БТШ27 на динамику актиновых филаментов [2, 69]. На рис. 7 представлена схема взаимосвязи системы циркадных ритмов и стрессорного ответа на температурный шок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Все четыре фактора внешней среды — освещение, геомагнитное поле, температура, давление — содержание кислорода оказались связаны между собой не только общим сенсором — CRY, выполняющим функции синхронизатора часовых ритмов, температуры, гипоксии, но и общей мишенью — динамикой актинового цитоскелета. На уровне генетического аппарата такой мишенью является ДНК, которая реагирует на стрессорные и когнитивные вызовы формированием разрывов. Гипотетическая схема роли CRY — сенсора экологически значимых стрессорных факторов представлена на рис. 8.

Исследование генетических хабов, к которым сходятся многие внешние воздействия, позволит подойти к терапии сложных синдромов, оказывающих системное воздействие на организм. Примером может служить использование ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) в качестве терапевтического воздействия. Полученные данные об увеличении экспрессии CRY и HIF-1 α , основных факторов клеточной транскрипции, при воздействии ЯМР позволяют в дальнейшем применять эту технологию в качестве немедикаментозного подхода к изменению уровня HIF-1 α . Связанные с ним циркадные часы играют ключевую роль в заболеваниях на фоне ишемии — инфаркт, инсульт и рак, а также в инфекционных заболеваниях, таких как Covid-19 [45].

В перспективе подобные исследования могут лечь в основу методов терапии когнитивных, сердечно-сосудистых и других заболеваний с использованием света, гипоксического preconditionирования и ОСМП.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№1021062411629-7-3.1.4).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лобащев М.Е., Савватеев В.Б. Физиология суточного ритма животных. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1959. 259 с.
2. Zatsepina O.G., Nikitina E.A., Shilova V.Y., Chuvakova L.N., Sorokina S., Vorontsova Yu.E., Tokmatcheva E.V., Funikov S. Yu., Rezykh A.P., Evgeniev M.B. // Cell Stress and Chaperones. 2021. V. 26. № 3. P. 575–594.
3. Damulewicz M., Mazzotta G.M. // Front Physiol. 2020. V. 11. Art. 99.
4. Agrawal P., Houl J.H., Gunawardhana K.L., Liu T., Zhou J., Zoran M.J., Hardin P.E. // Curr Biol. 2017. V. 16. P. 2431–2441.
5. Karki N., Vergish S., Zoltovski B.D. // Protein Science. 2021. V. 30. № 8. P. 1521–1534.
6. Cusumano P., Damulewicz M., Carboognin E., Caccin L., Puricella V., Specchia M., Bozzetti P., Costa R., Mazzotta G.M. // Front Physiol. 2019. V. 10. Art. 133.
7. Helfrich-Förster C. // Genes Brain Behav. 2005. V. 4. P. 65–76.
8. Hermann-Luibl C., Helfrich-Förster C. // Curr. Opin. Insect Sci. 2015. V. 7. P. 65–70.
9. Yoshii T., Ahmad M., Helfrich-Förster C. // PLoS Biol. 2009. V. 7. Art. 1000086.
10. Shang Y., Haynes P., Pérez N., Harrington K.I., Guo F., Pollack J., Hong P., Griffith L.C., Rosbash M. // Nat Neurosci. 2011. V. 14. № 7. P. 889–895.
11. Yamamoto Sh., Seto E.S. // Exp Anim. 2014. V. 63. № 2. P. 107–119.
12. Tabuch M., Coates K.E., Bautista O.B., Zukowski L.H. // Front Neurol. 2021. V. 12. Art. 625369.
13. Sitaraman D., Aso Y., Jin X. // Curr Biol. 2015. V. 25. № 22. P. 2915–2927.
14. Flyer-Adams J., Rivera-Rodriguez E.J., Yu J. Junwei Yu, Jacob D. Mardovin, Martha L. Reed, Leslie C. Griffith // J Neurosci. 2020. V. 40. P. 9066–9077.
15. Fogle K., Parson K.G., Dahm N.A., Holmes T.C. // Science. 2011. V. 331. P. 1409–1413.
16. Sitaraman D., Aso Y., Jin X. Rubin G.M., Nitabach M.N. // Curr Biol. 2015. V. 25. P. 2915–2927.
17. Pokorny R., Klar T., Hennecke U., Carell T. // Proc Natl Acad Sci. 2008. V. 105. № 52. P. 21023–21027.
18. Romero-Franco A., Checa-Rodríguez C., Maikel Castellano-Pozo M., Miras H., Wals A., Huertas P. // 22.01.2023 on bioRxiv preprint.
19. Boutros S.W., Krenik D., Holden S., Vivek K. Unni, Raber J. // Oncotarget. 2022. V. 13. P. 198–213.
20. Никитина Е.А., Васильева С.А., Щеголев Б.Ф., Савватеева-Попова Е.В. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2022. Т. 72. № 6. С. 783–799.
21. Eichwald C., Waliczek J. // Biophysical Journal. 1996. V. 71. № 2. P. 623–631.
22. Izmaylov A.F., Tully J.C., Frisch M.J. // Journal of Physical Chemistry A. 2009. V. 113. № 44. P. 12276–12284.
23. Rodgers C.T., Hore P.J. // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. 2009. V. 106. № 2. P. 353–360.
24. Kaushik R., Nawathean P., Busza A., Murad A., Emery P., Rosbash M. // PLoS Biology. 2007. V. 5. № 6. P. 1257–1266.
25. Solov'yov I.A., Schulten K. // Biophys. J. 2009. V. 96. № 12. P. 4804–4813.
26. Nikitina E.A., Medvedeva A.V., Gerasimenko M.S., Pronikov V.S., Surma S.V., Shchegolev B.F., Savvateeva-Popova E.V. // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2018. V. 48. № 7. P. 796–803.
27. Nikitina E.A., Medvedeva A.V., Zakharov G.A., Savvateeva-Popova E.V. // Acta Naturae. 2014. V. 6. № 2. P. 53–61.
28. Borovac J., Bosch M., Okamoto K. // Mol Cell Neurosci. 2018. V. 91. P. 122–130.
29. Misu S., Takebayashi M., Kei M. // Frontiers in Genetics. 2017. V. 8. Art. 27.
30. Kamyshev N.G., Iliadi K.G., Bragina J.V. // Learning & Memory. 1999. V. 6. № 1. P. 1–20.
31. Vasilieva S.A., Tokmatcheva E.V., Medvedeva A.V., Ermilova A.A., Nikitina E.A., Shchegolev B.F., Surma S.V., Savvateeva-Popova E.V. // Cell and Tissue Biology. 2020. V. 14. № 3. P. 178–189.
32. Mehta N., Cheng H.Y.M. // J. Mol. Biol. 2012. V. 425. № 19. P. 3609–3624.
33. Savvateeva-Popova E.V., Zhuravlev A.V., Brázda V., Zakharov G.A., Kaminskaya A.N., Medvedeva A.V., Nikitina E.A., Tokmatcheva E.V., Dolgaya J.F., Kulikova D.A., Zatsepina O.G., Funikov S.Y., Ryazansky S.S., Evgen'ev M.B. // Front. Genet. 2017. V. 8. Art. 123.
34. Sempere L.F., Sokol N.S., Dubrovsky E.B., Berger EM, Ambros V. // Dev. Biol. 2003. V. 259. № 1. P. 9–18.
35. Weng R., Chin J.S.R., Yew J.Y. // eLife. 2013. V. 2. Art. e00640.
36. Xue Y., Zhang Y. // BMC Neurosci. 2018. V. 19. № 1. <https://doi.org/10.1186/s12868-018-0401-8>
37. Медведева А.В., Реброва А.В., Заломаева Е.С. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2022. Т. 58. № 1. С. 34–42.
38. Adel M., Griffith L.C. // Neuroscience Bulletin. 2021. V. 37. № 6. P. 831–852.
39. Davis R.L., Zhong Y. // Neuron. 2017. V. 95. P. 490–503.
40. Kasture A.S., Hummel T., Sucic S., Freissmuth M. // International Journal of Molecular Sciences. 2018. V. 19. Art. 1788.
41. Suberbielle E., Sanchez P.E., Kravitz A.V. // Nature Neuroscience. 2013. V. 16. № 5. P. 613–621.

42. Verheijen B.M., Vermulst M., van Leeuwen F.W. // *Acta Neuropathologica*. 2018. V. 135. № 6. P. 811–826.
43. Ishikawa T., Matsumoto A., Kato T. Jr., Togashi S., Ryo H., Ikenaga M., Todo T., Ueda R., Tanimura T. // *Genes Cells*. 1999. V. 4. № 1. P. 57–65.
44. Smith K.D., Fu M.A., Brown E.J. // *Journal of Cell Biology*. 2009. V. 187. № 1. P. 15–23.
45. Thöni V., Oliva R., Mauracher D., Egg M. // *Chronobiology International*. 2021. V. 38. № 8. P. 1120–1134.
46. Bozek K., Kiełbasa S.M., Kramer A., Herzel H. // *Genomics & Informatics*. 2007. V. 18. P. 65–74.
47. Peek C., Levine D.C., Cedernaes J., Taguchi A., Kobayashi Y., Tsai S.J., Bonar N.A., McNulty M.R., Ramsey K.M., Bass J. // *Cell Metab*. 2017. V. 25. № 1. P. 86–92.
48. Elhalel G., Price C., Fixler D., Shainberg A. // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. № 1. Art. 1645.
49. Vaughan M.E., Wallace M., Handzlik M.K. // *Science*. 2020. V. 23. № 7. Art. 101338.
50. Hernansanz-Agustín P., Enríquez J.A. // *Antioxidants*. 2021. V. 10. № 3. Art. 415.
51. Бучаченко А.Л. // *Усп. химии*. 2014. Т. 83. № 1. С. 1–12.
52. Srinivas U.S., Tan B.W.Q., Vellayappan B.A., Jeyasekharan A.D. // *Redox Biology*. 2019. V. 25. Art. 101084.
53. Caldecott K.W., Ward M.E., Nussenzweig A. // *Nature Genetics*. 2022. V. 54. P. 115–120.
54. Caridi C.P., Plessner M., Grosse R., Chiolo I. // *Nat Cell Biol*. 2019. V. 21. № 9. P. 1068–1077.
55. Xu Q., Huff L., Fujii M., Griendling K. // *Free Radic Biol Med*. 2017. V. 109. P. 84–107.
56. Медведева А.В., Токмачева Е.В., Никитина Е.А., Васильева С.А., Заломая Е.С., Савватеева-Попова Е.В. // *Медицинский академический журнал*. 2020. Т. 20. № 4. С. 45–54.
57. Movafagh Sh., Crooc S., Vo K. // *J Cell Biochem*. 2015. V. 116. № 5. P. 696–703.
58. Wozny A.-S., Gauthier A., Alphonse G. // *Cancers*. 2021. V. 13. № 15. Art. 3833.
59. Cheng L., Yu H., Yan N., Lai K., Xiang M. // *Front. Cell. Neurosci*. 2017. V. 11. Art. 20.
60. Bellemer A. // *Temperature (Austin)*. 2015. V. 16. P. 2227–2243.
61. Gentile C., Sehodova H., Chen Ch., Stanewsky R. // *Curr Biol*. 2013. V. 23. P. 185–195.
62. Yoshii T., Hermann Ch., Helfrich-Forster Ch. // *J Biol Rhythms*. 2010. V. 25. № 6. P. 387–398.
63. D'Amico-Damião V., Carvalho R F. // *Front. Plant Sci*. 2018. V. 9. Art. 1897.
64. Kidd P B., Young M V., Siggia E D. // *PNAS*. 2015. V. 112. № 46. P. 6284–6292.
65. Москалев А.А., Малышева О.А. // *Экологическая генетика*. 2010. Т. 8. С. 67–80.
66. Никитина Е.А., Комарова А.В., Голубкова Е.В. // *Генетика*. 2003. Т. 39. № 3. С. 341–348.
67. Nikitina E.A., Kaminskaya A.N., Molotkov D.A., Popov A.V., Savvateeva-Popova E.V. // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2014. V. 50. № 2. P. 154–166.
68. Никитина Е.А., Медведева А.В., Долгая Ю.Ф. // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2012. Т. 48. № 6. С. 588–596.
69. Doshi B., Hightower L.E., Lee J. // *Cell Stress Chaperones*. 2009. V. 14. P. 445–457.

Stress Influences and Cognitive Activity: Search for Targets and General Mechanisms Using *Drosophila* Mutants

**D. M. Karovetskaya^{1,2}, A. V. Medvedeva², E. V. Tokmacheva²,
S. A. Vasilyeva^{1,2}, A. V. Rebrova¹, E. A. Nikitina^{1,2}, B. F. Shchegolev²,
and E. V. Savvateeva-Popova²**

¹*Russian State Pedagogical University named after A. I. Herzen, St. Petersburg, Russia*

²*Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

According to modern concepts, biochemical cascades activated in response to stress impacts also contribute to cognitive functions, such as learning and memory formation. Considering a conditioned reflex as an adaptation to the external environment, one can assume its occurrence as a reaction to external challenges, which, when reinforced, contribute to the formation of a conditioned connection, and in the absence, cause the development of a stress response. The metabolic activity of the body is inextricably linked with circadian rhythms, which determine the daily fluctuations in light, temperature, oxygen content and magnetic field. The integration of these timers is carried out by a protein of the cryptochrome family (CRY), which functions as a blue light receptor and is

known as a repressor of the main circadian transcription complex CLOCK/BMAL1. In order to develop methods for non-invasive correction of pathologies of the nervous system on a model object of genetics – *Drosophila* using mutant lines, the relationship between adaptive mechanisms for the formation of a conditioned connection and the development of a stress response to a weakening of the magnetic field, hypoxic and temperature effects is studied. The data are discussed in light of the role of the CRY/CLOCK/BMAL1 system as a link in magnetoreception, hypoxia, circadian rhythm regulation, cognitive functions, and DNA double-strand breaks in nerve ganglia (an indicator of the physiological activity of neurons).

Keywords: learning, memory, cryptochromes, magnetic field, hypoxia, temperature exposure