

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДА THR-SER-LYS-TYR НА МОДЕЛИ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ ЗОЛОТОЙ РЫБКИ В УСЛОВИЯХ *in vivo*

© 2018 г. Г.З. Михайлова, Е.Н. Безгина, Н.Н. Каширская*, Н.А. Ивличева**,
Р.Х. Зиганшин***, Л.И. Крамарова

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3*

**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 2*

***Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3*

****Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

E-mail: mihailova_g@rambler.ru

Поступила в редакцию 28.08.17 г.

Исследованы эффекты пептида Thr-Ser-Lys-Tyr, для которого ранее была показана нейропротекторная активность в клеточной культуре *in vitro*, на модели парных маутнеровских нейронов золотой рыбки. Установлено, что внутримозговые инъекции пептида в зону расположения правого маутнеровского нейрона под IV желудочком заднего мозга обеспечивают дозозависимое снижение количества спонтанных поворотов рыб влево. Показано, что этот эффект не элиминируется под действием длительной оптокинетической стимуляции, основанной на инстинктивном следовании рыб за движущимися в назо-темпоральном направлении визуальными ориентирами низкой частоты. Для исследования дендритной морфологии маутнеровских нейронов контрольных и подопытных рыб был использован метод трехмерной реконструкции по серийным гистологическим срезам. Обнаружено, что оптокинетическая стимуляция контрольных рыбок обуславливает дистрофию вентрального дендрита правого маутнеровского нейрона, являющегося мишенью данного вида стимуляции. Напротив, аппликация пептида индуцирует резистентность объема вентрального дендрита правого маутнеровского нейрона в условиях стимуляции. Данные могут быть расценены как свидетельство нейропротекторного эффекта пептида Thr-Ser-Lys-Tyr *in vivo*.

Ключевые слова: пептид TSKY, маутнеровские нейроны, 3D-реконструкция, оптокинетическая стимуляция, вентральный дендрит, латерализация моторного поведения.

Изучение биологически активных пептидов в качестве потенциальных нейропротекторов является перспективным направлением исследований в области экспериментальной биологии и медицины [1]. Интерес к пептиду Thr-Ser-Lys-Tyr (TSKY), выделенному из мозга зимоспящих сусликов *Spermophilus undulatus*, в значительной мере обусловлен открытием нейропротекторного эффекта данного пептида на жизнеспособность и дендритную организацию изолированных нейронов прудовика в клеточной культуре *in vitro* [2,3]. Мы не нашли информации об эффектах данного пептида на поведение животных и состоянии нейрональных дендритов

in vivo. Очевидно, функциональная межполушарная асимметрия мозга позвоночных и сложность его организации препятствуют выявлению связи между функциональной нагрузкой на афферентный вход нейрона и его морфологическими характеристиками. В исследованиях данной проблемы перспективны классические объекты нейробиологии – парные ретикулоспинальные маутнеровские нейроны (МН) золотой рыбки. Установлено, что МН имеет два главных дендрита – латеральный дендрит, принимающий статоакустический вход, и вентральный дендрит, являющийся приемником зрительной информации. Реорганизации обоих дендритов служат структурной мишенью в условиях различных экспериментальных воздействий – усилении или ослаблении сенсорной нагрузки [4–7], или аппликации в мозг биологически

Сокращения: TSKY – пептид Thr-Ser-Lys-Tyr, МН – маутнеровские нейроны.

активных веществ [8,9]. В свою очередь, дендритные перестройки МН определяют формирование латерализации моторного поведения рыб, по изменению которой возможно отслеживать экспериментально вызванное перераспределение значимости левого и правого МН в реализации двигательных актов [10].

В настоящей работе мы используем метод зрительной (оптокинетической) стимуляции рыб. Данный вид стимуляции приводит к значительному, двух–четырёхкратному уменьшению объема вентрального дендрита одного из двух маутнеровских нейронов золотой рыбки, который становится функционально более активным [7,11]. Это сопровождается патологическими изменениями структуры серотонинергических синапсов [12]. Поэтому данная модель является адекватной для исследования влияния пептида на функциональное состояние МН и поиск структурных субстратов, ответственных за сохранение функционального сдвига.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на мальках аквариумных золотых рыбок *Carrassius auratus* породы Оранда (возраст 6–9 месяцев, длина 4–6 см, масса около 2 г). Рыбок, получаемых от нескольких постоянных пар производителей, приобретали в одном и том же рыбобороздном хозяйстве (Москва). С каждой рыбкой работали отдельно на протяжении всего эксперимента, все это время рыбок содержали в отдельных мини-аквариумах емкостью около 1 л с регулярно заменяемой водой. Содержимое емкостей при необходимости обрабатывали антисептическими и антистрессовыми добавками, специально предназначенными для аквариумных рыб (ООО «Зоомир», Санкт-Петербург). Всего в работе было использовано 78 рыбок.

Пептид Thr-Ser-Lys-Tyr (TSKY) был выделен из мозга зимоспящих сусликов *Spermophilus undulates*, а затем синтезирован классическим методом [13]. Методика аппликации препаратов была разработана ранее и в настоящее время успешно применяется в лаборатории [14]. Препараты в объеме 4–5 мкл раствора вводили микрошприцем в область расположения МН – район проводящих путей продолговатого мозга под IV желудочком. Препарат разливали в дозах от $5 \cdot 10^{-4}$ до 10^{-8} М в область расположения правого маутнеровского нейрона. В качестве контроля использовали 0,6%-й раствор NaCl. Рыбок тестировали до и после аппликации через 1, 3, 6, 9, 24 и 48 ч. Функциональное состояние МН оценивали до и после воздействий косвенно, по количеству спонтанных поворотов в

ходе локомоции, совершенных рыбками за 5 мин тестирования в узком прямолинейном канале [15]. Число поворотов, отнесенное ко времени, коррелирует с амплитудой электрического ответа, измеренной в переживающих срезах мозга [16], поэтому оно может служить косвенной оценкой функциональной активности МН.

Активность одного нейрона выражали в виде коэффициента моторной латерализации, как отношение числа полных поворотов в предпочитаемую сторону к сумме поворотов в обе стороны. Знак и степень моторной латерализации оценивали для каждой рыбки.

Защитное влияние пептида на МН оценивали, применяя длительную оптокинетическую стимуляцию в течение 6 ч в назо-темпоральном направлении с помощью оптомоторного барабана (пространственная частота подачи сигнала 0,04 цикл/град) по ранее разработанной методике [17]. При этом рыбок с исходным правосторонним предпочтением поворотов стимулировали в направлении против часовой стрелки. Данный вид стимуляции вызывает у интактных рыбок состояние утомления, выявляемое в поведенческих тестах.

Были проведены три большие серии экспериментов. В каждой серии мальков делили на три группы. Первую составляли интактные рыбки. Во вторую группу входили рыбки, которым проводили аппликации 0,6%-го раствора NaCl. Рыбкам третьей группы апплицировали раствор лиофильно высушенного пептида в дозах от 10^{-8} М до $5 \cdot 10^{-4}$ М. Половину рыбок каждой группы спустя три часа после аппликаций подвергали длительной утомляющей оптокинетической стимуляции для проверки их резистентности к утомлению.

Для осуществления гистологического исследования рыбок декапитировали и выделяли участок продолговатого мозга, содержащий МН. Этот фрагмент мозга фиксировали в смеси альдегидов на какодилатном буфере (0,1 М, рН 7,4), дополнительно фиксировали в 1%-м растворе четырехокси осмия на том же буфере, обезвоживали в спирте и ацетоне, пропитывали и заключали в эпон 812 [18]. Серийные срезы толщиной 3 мкм фотографировали с помощью микроскопа NU-2E (Carl Zeiss, Германия), используя цифровую камеру Nikon D5100 (Seiko, Япония). Объемы базальных сегментов вентральных дендритов МН определяли с помощью методики трехмерной компьютерной реконструкции [19]. Количественную обработку результатов проводили в пакете статистического анализа программы Excel (Microsoft Office 2003). Значимость различий в моторном пове-

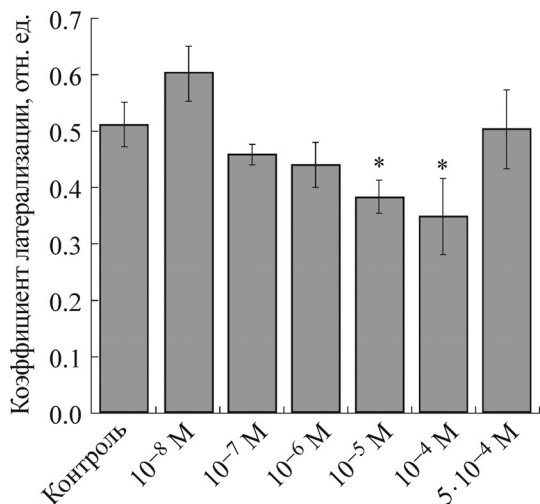


Рис. 1. Эффект аппликации пептида TSKY на функциональную активность правого маутнеровского нейрона. Данные представлены как среднее из 7–12 значений ± квадратичная ошибка среднего. * – Различия статистически достоверны относительно контроля.

дении рыбок до и после экспериментальных воздействий, а также между подопытной и контрольной группой проверяли с помощью *t*-критерия Стьюдента, учитывая, что распределение значений коэффициента моторной латерализации и количества поворотов в минуту подчиняется закону о нормальном распределении [15]. Для определения значимости различий с помощью *t*-теста предварительно проверяли гипотезу о равенстве дисперсий с помощью двухвыборочного *F*-теста. Количественные данные в тексте, таблице и на графиках представлены как среднее арифметическое ± ошибка среднего (при уровне значимости доверительного интервала 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние пептида TSKY на функциональную активность МН, проявляющуюся в моторном поведении рыбок. Результаты оценки влияния аппликаций пептида в разных концентрациях на МН представлены на рис. 1. Показано, что функциональная активность правого нейрона после аппликации TSKY снижалась с возрастанием концентрации, что проявлялось в уменьшении коэффициента моторной латерализации. Аппликация пептида в минимальной концентрации 10⁻⁸ М не приводила к достоверным изменениям в моторном поведении животных. Дозы пептида 10⁻⁶ М и 10⁻⁷ М индуцировали снижение коэффициента латерализации в 1,2 раза. Применение пептида в дозах 10⁻⁵ и 10⁻⁴ М обеспечивало ярко выраженный функ-

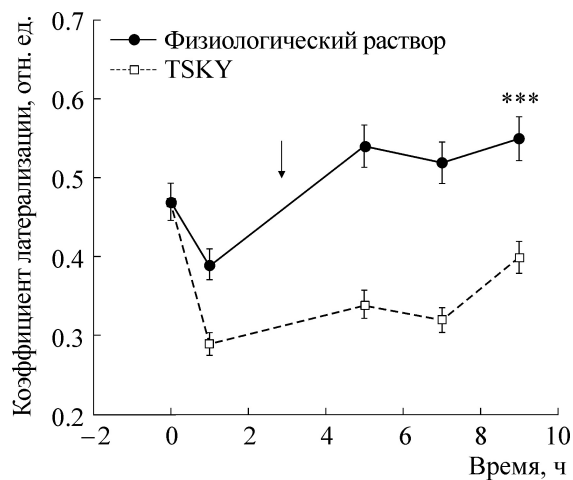


Рис. 2. Действие оптокинетической стимуляции на активность правого маутнеровского нейрона. Данные представлены как среднее из 7–9 значений ± квадратичная ошибка среднего. Стрелкой указано время начала утомляющей оптокинетической стимуляции.

циональный эффект на правый МН (рис. 1). Аппликация пептида в максимальной концентрации 5·10⁻⁴ М приводила к разным эффектам в зависимости от времени диффузии препарата в продолговатый мозг. Через 1 ч после аппликации пептида в максимальной дозе 5·10⁻⁴ М было обнаружено падение коэффициента латерализации в 2,8 раза и двукратное увеличение общего числа всех спонтанных поворотов рыбок при плавании (не представлено). Через 3 ч после аппликации пептида в максимальной дозе 5·10⁻⁴ М степень латерализации в среднем восстанавливалась до исходного уровня. Дальнейший гистологический анализ показал, что при аппликации доз пептида 10⁻⁴ и 5·10⁻⁴ М в структуре левого МН происходят патологические изменения, связанные с вакуолизацией цитоплазмы и конденсацией цитоскелета.

Мы провели дополнительное исследование активности МН после аппликации пептида в дозе 5·10⁻⁶ М. Было обнаружено, что эта доза является оптимальной, так как индуцирует достоверное снижение функциональной активности правого МН в 1,4 раза (*n* = 12, *p* < 0,05) и не вызывает повреждающего эффекта на структуру его напарника – левого МН.

В следующей части работы представлены результаты оценки влияния аппликации пептида в дозе 5·10⁻⁶ М как самого по себе, так и в сочетании с длительной оптокинетической стимуляцией (рис. 2). Как показал анализ данных, степень моторной латерализации рыб уменьшается в 1,2 и 1,8 раза через 1 ч после

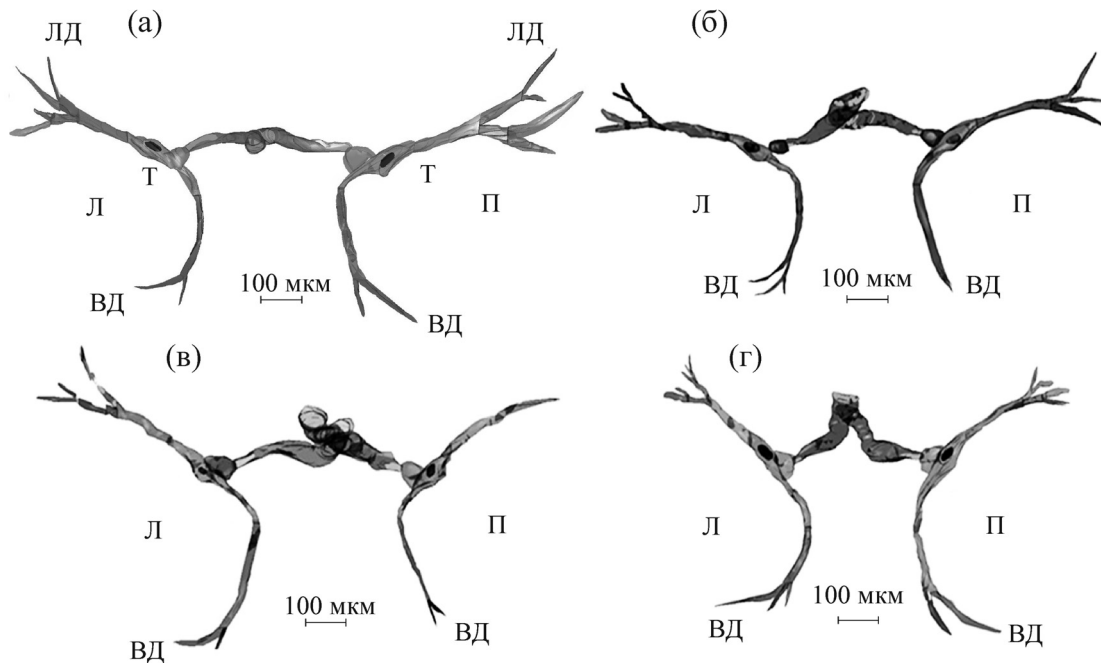


Рис. 3. Изображения объемно реконструированных маутнеровских нейронов контрольных рыбок: (а) – МН контрольной рыбки; (б) – МН подопытной рыбки; (в) – МН контрольной рыбки, подвергнутой длительной оптокинетической стимуляции; (г) – МН подопытной рыбки после стимуляции. Вид со стороны спинного мозга рыбки: Т – тело нейрона, ЛД и ВД – соответственно латеральный и вентральный дендрит, Л и П – левый и правый МН.

апликации физраствора и пептида соответственно. Через 3 ч после аппликации препаратов, степень латерализации рыб контрольной группы возвращается к исходным значениям, в отличие от рыб экспериментальной группы. Это свидетельствует о том, что эффект пептида на моторное поведение рыб является сравнительно длительным и стойким. В условиях длительной зрительной стимуляции коэффициент моторной латерализации рыб экспериментальной группы не изменяется по сравнению с показателями контрольной группы рыб (рис. 2).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что тетрапептид TSKY изменяет степень моторной латерализации рыбок. Дозозависимый функциональный эффект пептида выражается в длительном и стойком уменьшении активности одного МН на 25% и реципрокном увеличении активности его напарника после аппликации пептида в дозе $5 \cdot 10^{-6}$ М в область расположения нейронов. Данный эффект не элиминируется под действием утомляющей оптокинетической стимуляции.

Влияние аппликаций пептида на морфометрические характеристики вентральных дендритов МН. Такой дисбаланс функциональной активности системы нейронов, контролирующей локомоторное поведение рыбок, не проходит

бесследно на структурном уровне. На рис. 3 представлены МН контрольных и подопытных золотых рыбок, характерные для каждой из рассматриваемых групп. Реакция МН на аппликацию препаратов в обеих группах была примерно одинаковой – вентральные дендриты чаще всего претерпевали укорочение своих базальных сегментов или ствольных частей. Однако реакция МН на длительную стимуляцию у рыбок из этих групп существенно отличается. После данного воздействия вентральный дендрит правого нейрона контрольной рыбки заметно редуцируется (рис. 3в), в то время как у подопытной рыбки размер этого дендрита практически не изменяется (рис. 3г). Эти качественные данные подтверждаются и детализируются результатами измерения объемов реконструированных вентральных дендритов, которые приведены в таблице.

Как видно из таблицы, до стимуляции объемы вентральных дендритов контрольных и подопытных рыбок были сходными по абсолютным значениям. При этом по сравнению с аналогичными значениями для интактных рыбок объемы дендритов были заметно меньше. После длительной стимуляции объемы вентральных дендритов правых МН интактных и контрольных рыбок уменьшались в 2,3 раза, в

Объемы вентральных дендритов маутнеровских нейронов контрольных и подопытных рыбок до и после стимуляции

Вентральный дендрит	Интактные		Физиологический раствор		TSKY, 5·10 ⁻⁶ М	
	До оптокинетической стимуляции (n = 10)	После оптокинетической стимуляции (n = 8)	До оптокинетической стимуляции (n = 4)	После оптокинетической стимуляции (n = 4)	До оптокинетической стимуляции (n = 4)	После оптокинетической стимуляции (n = 4)
Объемы вентральных дендритов, ×1000 мкм ³						
Левый	71 ± 3	72 ± 7	45 ± 2	66 ± 6	42 ± 3	60 ± 7
Правый	53 ± 2	23 ± 3*	52 ± 6	26 ± 4*	48 ± 5	66 ± 5

Примечание. Количественные данные представлены как среднее арифметическое ± квадратичная ошибка среднего.

то время как значения объемов вентральных дендритов правых МН подопытных рыб имели статистически незначимую тенденцию к увеличению. Качественный гистологический анализ контрольных препаратов показал, что мишенью стимуляции является уплотнение цитоскелета правого вентрального дендрита по сравнению с цитоскелетом вентрального дендрита левого МН, что согласуется с полученными ранее данными [12]. Напротив, цитоплазма вентральных дендритов МН подопытных рыбок и цитоархитектоника деревьев напоминают таковую у рыбок, подвергавшихся тренировочным сеансам оптокинетической стимуляции [5] или воздействию аппликации дофамина [20].

Представленные данные свидетельствуют о защитном влиянии пептида на структуру вентральных дендритов МН в условиях *in vivo*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаруженные в работе эффекты пептида в условиях *in vivo* на модели парных командных маутнеровских нейронов золотой рыбки хорошо согласуются с полученными нами ранее данными о нейропротекторной активности препарата в отношении изолированных нейронов прудовика в клеточной культуре [2,3].

Приведенные результаты свидетельствуют о значительном структурном и ярко выраженном функциональном эффекте пептида. Резкое изменение степени латерализации после аппликации препарата подтверждает адекватность выбранной нами клеточной модели, поскольку чем выше степень латерализации рыбы, тем более вероятна ключевая роль маутнеровского аппарата в асимметрии реакции избегания [21].

Представляет интерес, какова природа наблюдаемых пластических изменений маутнеровского аппарата при аппликации на него пептида. На основании ранее полученных данных, можно предположить, что молекулярной ми-

шенью действия пептида является цитоскелетный актин. Ранее было установлено, что пептид TSKY проявляет цитолитическую активность по апоптотическому типу в отношении опухолевых клеток [22]. Известно, что в метастазных клетках, как и в клетках основной опухоли, наблюдается изменение актинового цитоскелета – значительное увеличение доли мономерного актина в цитозоле по сравнению со здоровыми клетками. Метастазирование и появление новых очагов опухолевого роста сопряжено с неспособностью цитоскелетного белка актина формировать нити и пучки нитей. В результате клетка становится морфологически незрелой, механически пластичной, способной легко отрываться от основной опухоли и переноситься током крови или лимфы в другие части тела, давая начало новым очагам опухолевого роста. Ранее было показано, что дофамин вызывает образование полимерных актиновых нитей *in vitro* и влияет на состояние регулируемых актином десмосомоподобных контактов смешанных синапсов МН *in vivo* [23], приводя к гибели модельные опухолевые клетки за счет перфорирования клеточной мембраны и иммобилизации внутриклеточных органоидов [24–26]. В нашей работе структурный эффект пептида TSKY напоминает таковые эффекты дофамина при аппликации его в область расположения МН [20]. Вполне возможно, что пептид TSKY способен взаимодействовать с клеточным актином и, вследствие этого, влиять на механизмы гомеостатической регуляции нормального клеточного оборота, такие как апоптоз и цитоархитектурные реорганизации дендритов.

Вторым возможным механизмом действия пептида может быть модуляция серотонинергической передачи на постсинаптический нейрон. Так, было показано, что мишенью действия длительной зрительной стимуляции являются синапсы, содержащие возбуждающий нейромедиатор серотонин. Данные синапсы при-

легают своими активными зонами к тормозным синапсам, расположенным на поверхности вентральных дендритов МН, формируя «двухуровневую» синаптическую систему [8,27]. Так, длительная оптокинетическая стимуляция рыбки с исходным правосторонним предпочтением поворотов в назо-темпоральном направлении, вероятно, усиливает возбуждающую серотонинергическую передачу на левый МН, что в конечном итоге приводит к торможению его функциональной активности и реципрокному увеличению активности его напарника. Мы предполагаем, что пептид TSKY способен повышать порог чувствительности к зрительной стимуляции через синаптический механизм, влияя на высвобождение серотонина в терминали. Так, было продемонстрировано модуляторное влияние μ - и κ -опиоидных агонистов на высвобождение серотонина, являющегося одним из мощных регуляторов состояния гипобиоза, из срезов гиппокампа и гипоталамуса активных и зимоспящих сусликов [28]. Повышение порога чувствительности рыб к зрительной стимуляции, полученное в данной работе, согласуется с данными по влиянию аппликации серотонина на функциональную активность МН [8] и по влиянию опиоидного пептида киоторфина на чувствительность крыс к ноцицептивным стимулам [29].

В целом результаты работы открывают возможность использования данного пептида, выделенного из головного мозга зимоспящих сусликов, для разработки подходов к сохранению или восстановлению функции мозга человека в экстремальных условиях, в том числе в условиях изменения притока зрительных стимулов извне.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-04-01759а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. Н. Боголепова и Е. И. Чуканова, Журн. неврологии и психиатрии **110** (8), 62 (2010).
2. L. I. Kramarova, N. A. Ivlicheva, R. Kh. Ziganshin, et al., in *Living in a Seasonal World*, Ed. by T. Ruf et al. (2012), ch. 18, pp. 201 – 210.
3. Н. А. Ивличева и Л. И. Крамарова, Биол. мембраны **29** (3), 195 (2012).
4. G. Z. Mikhailova, N. R. Tiras, V. D. Pavlik, et al., *Neurophysiology* **38** (1), 15 (2006).
5. Н. Ю. Цаплина, Г. З. Михайлова, Р. Ш. Штанчаев и Д. А. Мошков, *Морфология* **136** (5), 22 (2009).
6. D. A. Moshkov, G. Z. Mikhailova, E. E. Grigorieva, and R. S. Shtanchaev, *J. Integrative Neurosci.* **8** (4), 441 (2009).
7. Е. Е. Григорьева, Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова и др., *Морфология* **138** (6), 10 (2010).
8. D. A. Moshkov, R. S. Shtanchaev, I. B. Mikheeva, et al., *J. Integrative Neurosci.* **12** (1), 17 (2013).
9. Н. А. Коканова, Г. З. Михайлова, Р. Ш. Штанчаев и др., *Нейрофизиология* **46** (1), 37 (2014).
10. H. Korn and D. S. Faber, *Neuron* **47**, 13 (2005).
11. Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярева и др., *Нейрофизиология* **39** (2), 133 (2007).
12. И. Б. Михеева, Н. Ю. Цаплина, Е. Е. Григорьева и др., *Морфология* **139** (3), 30 (2011).
13. R. N. Ziganshin and V. I. Svieryaev, *Bioorg. Chem.* **20** (8), 899 (1994).
14. N. R. Tiras, L. L. Pavlik, and D. A. Moshkov, *Acta Histochem., Suppl.* –Band XLI, 249 (1992).
15. Г. З. Михайлова, А. В. Арутюнян, И. М. Санталова и др., *Нейрофизиология* **37** (1), 52 (2005).
16. Н. Р. Тирас, И. Б. Михеева, П. И. Пахотин и Д. А. Мошков, *Морфология* **122** (6), 19 (2002).
17. Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярева и др., *Морфология* **132** (6), 29 (2007).
18. Д. А. Мошков, *Адаптация и ультраструктура нейрона* (Наука, Москва, 1985).
19. Г. З. Михайлова, Н. А. Коканова, Н. Р. Тирас и Д. А. Мошков, *Трехмерная реконструкция и определение объема нейрона* (Книжный дом «ЛИБРОКОМ», М., 2012).
20. Е. Н. Безгина, Л. Л. Павлик, Г. З. Михайлова и др., *Нейрофизиология* **38** (4), 320 (2006).
21. M. Dadda and W. H. Koolhaas, P. Domenici, *Biol. Lett.* **6**, 414 (2010).
22. E. Yu. Blishchenko, O. A. Mernenko, O. N. Yatskin, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **224**, 721 (1996).
23. Л. Л. Павлик, Е. Н. Безгина, Н. Р. Тирас и др., *Морфология* **125** (2), с. 26 (2004).
24. Д. А. Мошков, Л. Л. Павлик, В. С. Шубина и др., *Биофизика* **55** (5), 850 (2010).
25. Е. Ю. Парнышкова, Е. Н. Безгина, Л. И. Казакова и др., *Биофизика* **57** (5) 796 (2012).
26. Е. Ю. Парнышкова, В. П. Лавровская, Е. Н. Безгина и др., *Морфология* **140** (6), 69 (2011).
27. И. Б. Михеева и Е. Е. Григорьева, *Морфология* **143** (1), 11 (2013).
28. Y. Cui, T. F. Lee, L. I. Kramarova, and L. C. H. Wang, *Life Sciences* **53** (26), 1957 (1993).
29. S. G. Kolaeva and T. P. Semenova, *Peptides* **21** (9), 1331 (2000).

Neuroprotective Effect of Thr-Ser-Lys-Tyr Peptide in Goldfish Mauthner Cell Model *in vivo*

G.Z. Mikhailova*, E.N. Bezgina*, N.N. Kashirskaya**, N.A. Ivlicheva***,
R. H. Ziganshin****, and L.I. Kramarova*

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

****Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

*****Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia*

The effects of Thr-Ser-Lys-Tyr peptide, the substance which displayed neuroprotective activity in cell culture *in vitro*, were investigated using a goldfish Mauthner cell model. It was established that the intracerebral injections of peptide into the right set of the Mauthner neuron below the fourth ventricle of the medulla oblongata leads to a dose-dependent decrease in the number of goldfish spontaneous turns to the left. It has been shown that this effect is not eliminated by long-lasting optokinetic stimulation when the fish eyes follow a moving stimulus of low spatial frequencies in the naso-temporal direction. We attempted a computer-based three-dimensional reconstruction of serial histological sections to study dendrite morphology of the Mauthner neurons in control and experimental goldfish. In control goldfishes, the optokinetic stimulation induces the three-fold reduction in the volume of the right Mauthner cell ventral dendrite which is the target of the stimulation. Conversely, application of the peptide significantly intensifies the resistance to such an influence. Peptide effect is exhibited in stabilization of the size of the right Mauthner cell ventral dendrite. These data could be interpreted as evidence of the neuroprotective effect of Thr-Ser-Lys-Tyr peptide *in vivo*.

Keywords: Thr-Ser-Lys-Tyr peptide, Mauthner cells, 3D-reconstruction, optokinetic stimulation, ventral dendrite, lateralization of motor behavior