

РОЛЬ МЕТАБОЛИТОВ ФОСФОИНОЗИТИДНОГО ЦИКЛА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ПРОВЕДЕНИЯ ВОЗБУЖДЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ СОМАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА-1

© 2025 г. Е.В. Чудайкина*, М.В. Парчайкина*., И.Д. Молчанов*, Э.С. Ревина*, А.В. Заварыкина*, М.А. Симакова*, И.П. Грунюшкин*, В.В. Ревин*

*Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, ул. Большевикская, 68, Саранск, 430005, Россия

#E-mail: mary.isakina@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.12.2024 г.

После доработки 22.01.2025 г.

Принята к публикации 29.01.2025 г.

Исследовано изменение качественного состава и количественного содержания метаболитов фосфоинозитидного цикла и установлено их участие в процессе проведения возбуждения по нервным проводникам, а также регенерации поврежденных соматических нервов при действии инсулиноподобного фактора роста-1. Было показано, что при возбуждении нерва наблюдается снижение уровня фосфатидилинозитола и фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата и увеличение содержания фосфатидилинозитол-4-монофосфата и фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата, что свидетельствует об интенсификации метаболизма фосфоинозитидов в условиях деполяризации мембраны нервного волокна, а также наблюдается перераспределение жирных кислот в составе фракций фосфатидилинозитола, диацилглицерина и свободных жирных кислот. Перерезка нерва сопровождается накоплением всех форм фосфоинозитидов и снижением уровня диацилглицерина как в проксимальном, так и в дистальном отрезках нервного проводника, по-видимому, в результате инактивации фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы C. На фоне внутримышечного введения инсулиноподобного фактора роста-1 в концентрации 100 нг/кг наблюдается интенсификация фосфоинозитидного обмена, накопление диацилглицерина и снижение уровня свободных жирных кислот. С помощью методов спектроскопии комбинационного рассеяния, регистрации потенциалов действия и конусов роста было выявлено восстановление физико-химического состояния липидного бислоя и функциональной активности в проксимальном отрезке соматических нервов при использовании инсулиноподобного фактора роста-1, что коррелирует с полученными нами данными по изменению состава липидной фракции поврежденных нервных проводников на фоне действия препарата. Мы полагаем, что инсулиноподобный фактор роста-1 является одним из факторов аксональной регенерации и восстановления функционирования поврежденных нервных проводников, оказывающим свое действие в результате активации сигнальных путей фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы C и фосфатидилинозитол-3-киназы.

Ключевые слова: соматические нервы, возбуждение, травма нерва, фосфоинозитиды, инсулиноподобный фактор роста-1, конус роста.

DOI: 10.31857/S0006302925030096, EDN: KTDCVD

Исследование механизмов проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов является одной из наиболее сложных задач в биофизике, физиологии и меди-

цине [1]. Появляется все больше свидетельств того, что факторы роста играют важную роль на различных уровнях регенеративного ответа. Одним из таких ростовых факторов, влияющих на различные клеточные процессы, связанные с активацией сигнальных каскадов, способствующих дифференцировке и выживаемости нейронов, является инсулиноподобный фактор роста-1 (ИФР-1) [2]. Также установлено, что фосфоинозитиды принимают активное участие в регуляции

Сокращения: ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1, СЖК – свободные жирные кислоты, ДАГ – диацилглицерин, ФИ – фосфатидилинозитол, ФИФ – фосфатидилинозитол-4-монофосфат, ФИ2Ф – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат, ФИ3Ф – фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат.

клеточной сигнализации, контроле ионной проницаемости, а также процессов, связанных с активным транспортом ионов и молекул [3]. Важное значение отводится изменению жирнокислотного состава и содержанию свободных жирных кислот (СЖК) в мембранах, поскольку жирные кислоты участвуют в формировании гидрофобной зоны мембраны и определении ее фазового состояния. Они не только входят в состав сложных липидов, но могут находиться и в свободном неэтерифицированном виде. Свободные жирные кислоты регулируют работу ионных каналов и АТФаз, активность фосфолипаз, G-белков, протеинкиназ, модулируют фосфоинозитидный и сфингомиелиновый цикл [4]. При этом диацилглицерин (ДАГ), являющийся активатором протеинкиназы С и источником арахидоновой кислоты, необходимой для синтеза простагландинов и других физиологических активных соединений, имеет важное значение в регуляции процессов аксональной регенерации [5]. Следовательно, запуск сигнальных каскадов, основными участниками которых являются метаболиты фосфоинозитидного цикла, приводит к активации аксонального роста и процессов миелинизации, что сопровождается улучшением качества электрической изоляции нервных волокон. Таким образом, исследование изменения содержания компонентов фосфоинозитидного цикла, физико-химического состояния липидного бислоя и функциональной активности нервных проводников при стимуляции и действии ИФР-1 в процессе регенерации позволит выявить внутриклеточные механизмы для целенаправленного воздействия на определенные звенья сигнальных путей, участвующих в процессе восстановления функционирования поврежденных соматических нервов.

Целью данного исследования было изучение роли компонентов фосфоинозитидного цикла в регуляции процессов проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов крысы при действии инсулиноподобного фактора роста-1. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- исследовать изменение содержания отдельных фосфоинозитидных фракций, ДАГ и СЖК в состоянии покоя и при проведении возбуждения по соматическим нервам;
- изучить влияние ИФР-1 на изменение уровня индивидуальных фракций фосфоинозитидов, содержания ДАГ и СЖК в проксимальном и дистальном отрезках седалищного нерва крысы после его перерезки;
- исследовать изменение жирнокислотного состава фракций фосфатидилинозитола, ДАГ и СЖК в проксимальном и дистальном концах се-

далищного нерва крысы после его перерезки и действия ИФР-1;

- установить роль компонентов фосфоинозитидного цикла в процессе проведения возбуждения по нервному волокну и регенерации соматических нервов при действии инсулиноподобного фактора роста-1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили седалищные нервы крыс породы Wistar. В первой серии эксперимента опытные нервы раздражали с частотой 100 имп/с в течение 5 минут, после чего исследовали изменение компонентов фосфоинозитидного цикла, ДАГ и СЖК при проведении возбуждения. Контролем служили седалищные нервы без стимуляции. Во второй серии эксперимента для создания модели патологического процесса проводили перерезку седалищного нерва крысы. У наркотизированных животных первой опытной группы перерезали один из седалищных нервов, после чего рану зашивали. У животных второй опытной группы после перерезки ежедневно внутримышечно вводили инсулиноподобный фактор роста-1 (*Recombinant Human Insulin-like growth factor type 1 (E. coli)*) в концентрации 100 нг/кг. Контролем служил неповрежденный седалищный нерв крысы. Проксимальный и дистальный концы нервов выделяли через 7, 14, 21 и 28 суток после повреждения. Эффективность регенерации оценивали по изменению количественного содержания и жирнокислотного состава компонентов фосфоинозитидного цикла, ДАГ и СЖК в разных участках поврежденного нервного волокна, изменению физико-химического состояния липидного бислоя нервного проводника, а также его способности проводить потенциал действия.

Экстракцию липидов из нервной ткани проводили по методу Блайя–Дайера [6]. Разделение фосфоинозитидов осуществляли по методу Прохоровой, используя двумерную хроматографию на силикагеле в системе растворителей *n*-пропанол : 4 н. аммиак (2 : 1) и хлороформ : метанол : 4 н. аммиак (9 : 7 : 2) [7]. Для разделения ДАГ и СЖК использовали систему гептан/диэтиловый эфир/ледяная уксусная кислота (60/40/2 по объему) [8]. Для визуализации отдельных липидных фракций предварительно готовили реактив для окрашивания пластинок: 20 г пентагидрата сульфата меди растворяли в 200 мл дистиллированной воды, добавляли 8 мл серной кислоты (98%) и 8 мл ортофосфорной кислоты (85%). После разделения в системе растворителей пластинку помещали в краситель на 15 с и высушивали на воздухе, после чего нагревали на плитке при 140°C в течение 30 мин и наблюдали коричневое окрашивание липидных фракций. Отдельные

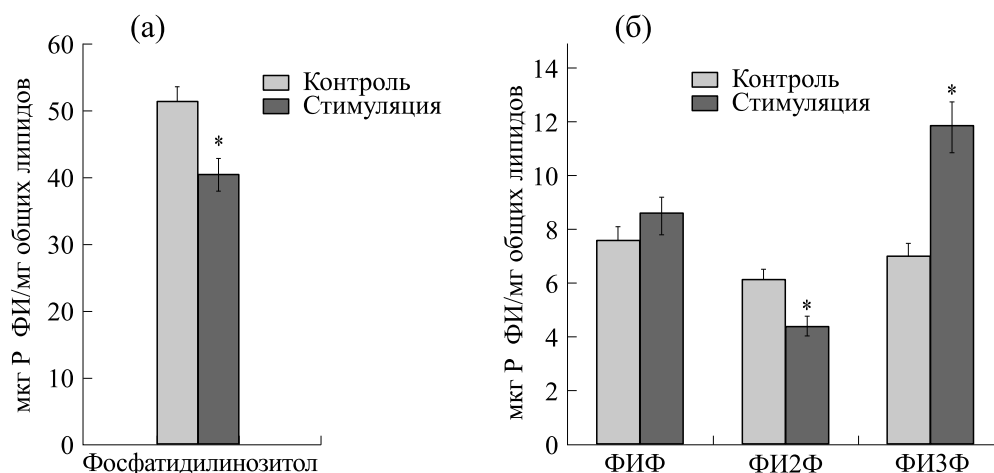


Рис. 1. Динамика изменения фракций ФИ (а), ФИФ, ФИ2Ф и ФИ3Ф (б) седалищного нерва крысы после его стимуляции (мкг РФИ (мкг неорганического фосфора фосфоинозида)/мг общих липидов). Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

фракции липидов идентифицировали с использованием значений R_f , специфических окрашивающих агентов и стандартов (Supelco, Германия). Количественное определение липидов осуществляли денситометрическим методом на автоматизированном комплексе TLC Scanner 4 (CAMAG, Швейцария).

Определение качественного и количественного состава жирных кислот осуществляли на газовом хроматографе GC-2010Plus AF (Shimadzu, Япония), для чего предварительно проводили метилирование жирных кислот по методу Моррисона и Смита [9].

Изменение физико-химического состояния липидного бислоя нервного волокна регистрировали с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния на рамановском спектрометре inVia Basis фирмы Renishaw (Англия). Биоэлектрическую активность изолированного нерва регистрировали со следующими параметрами стимуляции: амплитуда 1.5 В, длительность 0.3 мс, частота раздражения 100 имп/с [10]. Стимуляцию осуществляли электрическими прямоугольными импульсами от стимулятора ЭСЛ-2. Потенциал действия наблюдали на экране осциллографа GDS-71042 (Good Will Instrument Co. Ltd., Тайвань). Морфологическое исследование нервного волокна проводили с помощью микроскопа AxioImager 2A (Zeiss, Германия) в проходящем свете с использованием цветной камеры AxioCam 208 (Zeiss, Германия) при увеличении 63×. Полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке с использованием электронных таблиц Microsoft Excel 2016. Сравнение вариантов опытов проводили при 5%-м уров-

не значимости с помощью дисперсионного анализа ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что фосфоинозитиды принимают активное участие в регуляции ионной проницаемости клеточной мембраны путем связывания и высвобождения ионов Ca^{2+} . Поскольку фосфоинозитиды в больших количествах содержатся в нервной ткани и являются источником вторичных мессенджеров, что определяет их важнейшую роль в регуляции физико-химического состояния нервного волокна при его нормальном функционировании [3, 11], на первом этапе эксперимента нами было исследовано изменение содержания отдельных фосфоинозитидных фракций, ДАГ и СЖК в состоянии покоя и при проведении возбуждения по соматическим нервам.

Было установлено, что в неповрежденных седалищных нервах крысы содержание фосфатидилинозитола (ФИ), фосфатидилинозитол-4-монофосфата (ФИФ), фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (ФИ2Ф) и фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (ФИ3Ф) составляет в среднем 50.7, 7.48, 6.09 и 7.05 мкг неорганического фосфора фосфоинозида/мг общих липидов соответственно. Раздражение соматических нервов крысы с частотой 100 имп/с в течение 5 мин приводит к изменению метаболизма компонентов фосфоинозитидного цикла, что сопровождается снижением уровня ФИ и ФИ2Ф в среднем на 21.2% и 11.7%, а также увеличением концентрации ФИФ и ФИ3Ф на 12.2% и 68.4% по сравнению с контрольным нервом в состоянии покоя. Таким образом, интенсификация метаболизма фосфоино-

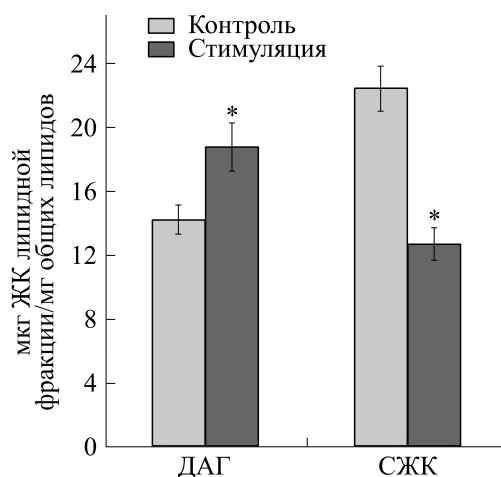


Рис. 2. Динамика изменения концентрации ДАГ и СЖК седалищного нерва крысы при стимуляции. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

зитидов в нервных проводниках при стимуляции свидетельствует об их активном участии в процессах проведения возбуждения (рис. 1).

Из литературы известно, что диацилглицерин является продуктом распада при действии фосфолипазы С и играет важную роль в регуляции активности протеинкиназы С, участвующей в проведении сигнала от рецептора клеточной поверхности к белкам-исполнителям, а также выступает в качестве источника арахидоновой кислоты [12]. В ходе проведенных нами экспериментов было установлено, что стимуляция седалищного нерва крысы сопровождается увеличением содержания ДАГ на 31.4% относительно контрольного нерва. В этих же условиях наблюдается снижение содержания СЖК на 43.3% по сравнению с нераздраженным нервом (рис. 2).

Изучение жирнокислотного состава фосфоинозитидов, СЖК и ДАГ имеет важное значение для понимания функционального состояния нервного проводника. Жирные кислоты играют ключевую роль в определении физико-химического состояния клеточных мембран. Известно, что наличие ненасыщенных жирных кислот в составе мембран определяет их чувствительность к различным воздействиям, в том числе к перекисному окислению липидов, что, в свою очередь, приводит к повреждению клеточных структур [13].

Исследование жирнокислотного состава соматических нервов показало, что во фракциях фосфатидилинозитола, СЖК и ДАГ содержатся следующие жирные кислоты: С10:0 (декановая), С11:0 (гендекановая), С12:0 (лауриновая), С13:0 (тридекановая), С14:0 (миристиновая), С14:1 (миристолеиновая), С15:0 (пентадекановая), С15:1 (*цис*-10-пентадекановая), С16:0 (пальмити-

новая), С16:1 (пальмитолеиновая), С17:1 (*цис*-10-гептадеценная), С18:0 (стеариновая), С18:1 (олеиновая), С18:1n9t (элаидиновая), С18:2 (линолевая), С20:0 (арахиновая), С18:3 (альфа-линоленовая), С21:0 (генэйкозановая), С20:2 (*цис*-11,14-эйкозациановая), С22:0 (бегеновая), С20:3 (*цис*-8,11,14-эйкозатриеновая), С20:4 (арахиноновая), С24:0 (лигноцеринная), С24:1 (нервоновая). При этом во фракциях ФИ, ДАГ и СЖК содержание насыщенных жирных кислот составляет 22.8, 67.0 и 59.0%, а ненасыщенных — 77.2, 33.0 и 41.0% соответственно. Коэффициент насыщенности (отношение насыщенных жирных кислот к ненасыщенным) в исследуемых фракциях равен 0.29 (ФИ), 2.03 (ДАГ) и 1.41 (СЖК). Установлено, что при изменении функционального состояния нервного волокна наблюдается перераспределение жирных кислот возбудимых образований. Так, при возбуждении во фракции ФИ наблюдается уменьшение коэффициента насыщенности на 26.3% относительно контроля за счет снижения содержания пальмитиновой и стеариновой, а также увеличения элаидиновой и олеиновой жирных кислот. При стимуляции нерва во фракции ДАГ наблюдается увеличение коэффициента насыщенности на 99.4% относительно контроля. Изменение соотношения «насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты» во фракции ДАГ при возбуждении главным образом обусловлено снижением содержания ненасыщенных жирных кислот — элаидиновой, линолевой, *цис*-8,11,14-эйкозатриеновой и арахидоновой — в 1.6, 1.7, 4.5 и 2.8 раза соответственно по сравнению с нераздраженным нервом. При переходе нерва в состояние функциональной активности наблюдаются изменения в составе свободных жирных кислот, что сопровождается увеличением коэффициента насыщенности на 40.4% относительно контроля.

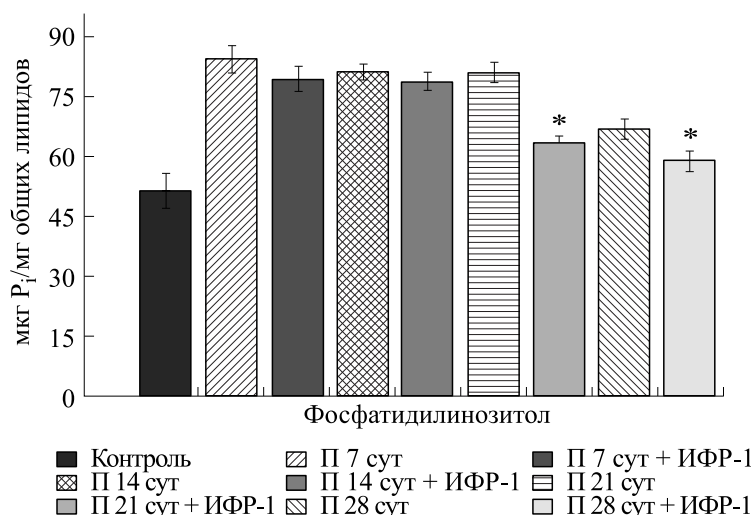


Рис. 3. Динамика изменения концентрации ФИ в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг (П — повреждение). Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

При этом наиболее заметные изменения претерпевают миристиновая, пальмитиновая, арахидоновая и арахидоновая жирные кислоты: их содержание возрастает в 1.9, 1.2, 7.0 и 1.8 раз соответственно по сравнению с контролем, а также олеиновая жирная кислота, уровень которой снижается в 1.9 раза относительно контрольного нерва. В ходе выполненных нами экспериментов было показано, что проведение возбуждения по нервному волокну приводит к распаду ФИ, о чем свидетельствует накопление ДАГ. Из литературных данных известно, что при деполяризации нерва происходит поступление Ca^{2+} через собственно Ca^{2+} -каналы. Ионы кальция и структурные изменения, происходящие в плазматической мембране нервного волокна при раздражении, активируют фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу С, в результате чего происходит увеличение содержания ДАГ [12, 13]. Кроме этого, было показано, что изменения количественного содержания СЖК и жирнокислотного состава ФИ и ДАГ взаимосвязаны и коррелируют между собой. Таким образом, можно предположить, что СЖК образуются в результате метаболизма ФИ, а также из продуктов их распада — из ДАГ. Подтверждением этому являются результаты проведенных нами экспериментов, в ходе которых установлено, что снижение количества индивидуальных жирных кислот во фракции СЖК приводит к увеличению их содержания во фракции ФИ. Известно, что СЖК усиливают поглощение кальция, а ДАГ активирует протеинкиназу С, которая фосфорилирует белки Ca^{2+} -каналов. В этих условиях кальциевые каналы переходят в открытое состояние, и Ca^{2+} поступает внутрь нервного волокна. Как известно,

кальций является активатором фосфолипазы A_2 , которая гидролизует ДАГ, отщепляя СЖК.

Таким образом, было установлено, что в фосфоинозитидном цикле при возбуждении нерва происходит не только изменение количественного содержания компонентов ФИ-цикла, но и жирных кислот, входящих в их состав. Полученные данные указывают на то, что высокая скорость обмена компонентов фосфоинозитидного цикла, а также наличие в составе различных жирных кислот, определяющих физическое состояние бислоя и способность к окислению, сопровождаются их активным участием в процессах проведения возбуждения по нервному волокну.

В последние годы исследователи все более активно занимаются поиском и разработкой эффективных методов стимуляции аксональной регенерации с использованием веществ биологического происхождения. В частности, ИФР-сигнальный путь, регулирующий различные клеточные функции, включает в себя ИФР-лиганды, их рецепторы и связывающие белки, образуя сложную сеть взаимодействий. Эти взаимодействия осуществляются не только между компонентами данного пути, но и с другими молекулами, влияющими на рост и выживание клеток [14]. В связи с этим следующим этапом эксперимента было изучение влияния ИФР-1 на изменение уровня отдельных фракций фосфоинозитидов в проксимальном и дистальном участках седалищного нерва после его перерезки. Спустя 7 суток после повреждения прослеживается значительное увеличение содержания всех фосфоинозитидных фракций по отношению к контролю в его проксимальном отрезке. В этом варианте опыта содержание ФИ, ФИФ, ФИ2Ф и ФИ3Ф состав-

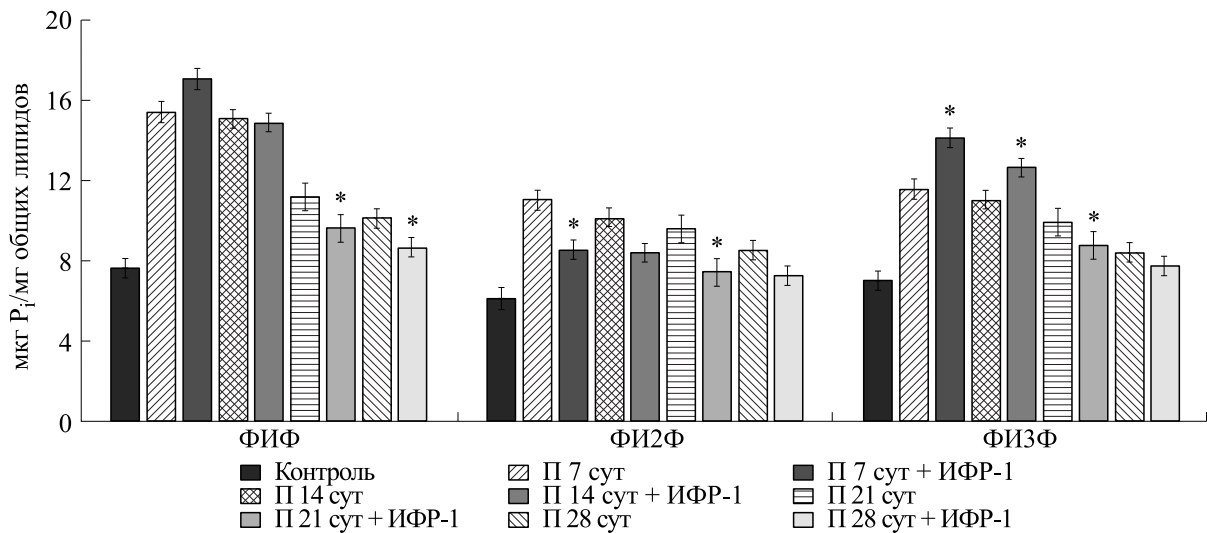


Рис. 4. Динамика изменения концентрации ФИФ, ФИ2Ф и ФИ3Ф в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

ляет в среднем 84.27, 15.41, 11.09 и 11.61 мкг Р(ФИ)/мг общих липидов соответственно (рис. 3 и 4).

Кроме этого, наблюдается увеличение уровня фосфоинозитидов более чем в два раза в дистальном отрезке нервного проводника по сравнению с контролем (рис. 5).

Спустя 14 суток после травмы в проксимальном отрезке нерва также отмечается увеличение уровня ФИ, ФИФ, ФИ2Ф, ФИ3Ф в среднем на 58.0, 96.0, 65.0 и 53.0% соответственно по сравнению с контролем (рис. 3 и 4). При введении

ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг наиболее достоверные изменения в этой серии опытов обнаруживаются во фракциях ФИ2Ф и ФИ3Ф. Уровень ФИ2Ф снижается в среднем на 17.0% по сравнению с перерезкой, а концентрация ФИ3Ф возрастает на 20.0% относительно повреждения (рис. 4). В дистальном отрезке нерва наблюдается более выраженное увеличение всех фосфоинозитидных фракций по сравнению с его проксимальным участком, что объясняется усилением окислительных процессов в результате отсутствия регуляторных механизмов, контролирующих метабо-

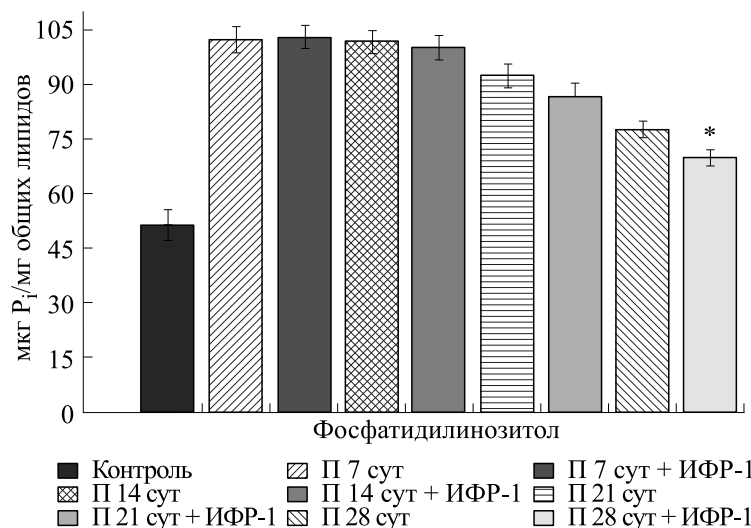


Рис. 5. Динамика изменения концентрации ФИ в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг (П — повреждение). Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

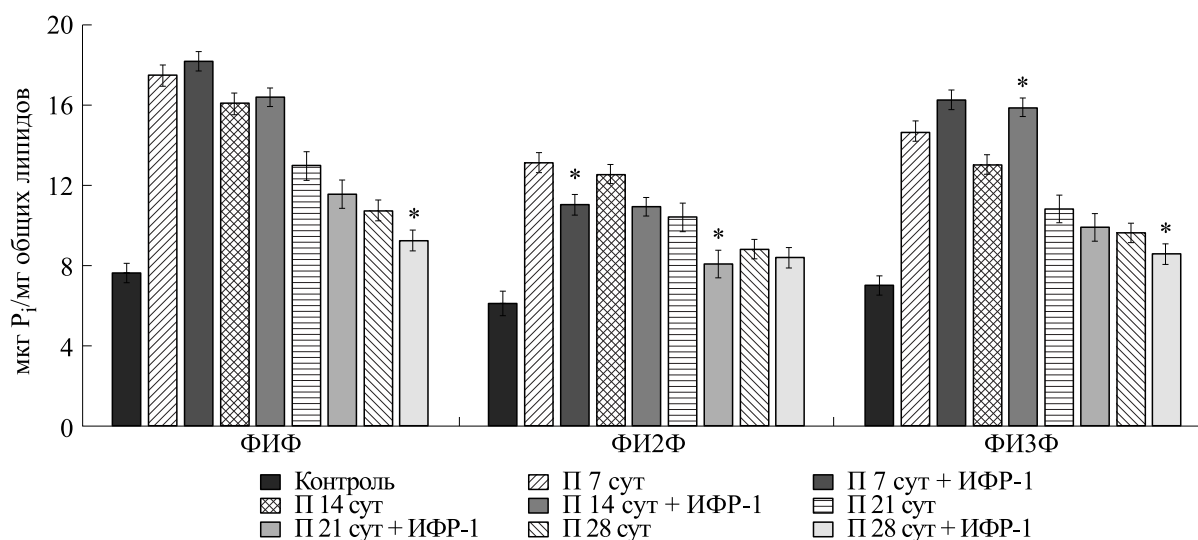


Рис. 6. Динамика изменения концентрации ФИФ, ФИ2Ф и ФИ3Ф в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

лизм и защиту клеток от окислительного стресса. Использование препарата в концентрации 100 нг/кг в этом варианте опыта способствует снижению уровня ФИ2Ф на 13.0% и увеличению концентрации ФИ3Ф на 22.0% по отношению к перерезке. В остальных фракциях достоверные изменения не обнаружены (рис. 6).

С увеличением продолжительности эксперимента до 21 суток на фоне использования препарата наблюдается тенденция к снижению всех исследуемых фракций фосфоинозитидов как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервных проводников. Так, введение препарата из расчета 100 нг/кг сопровождается снижением содержания ФИ на 22.0%, ФИФ на 14.0%, ФИ2Ф на 24.0%, ФИ3Ф на 12.0% в проксимальном конце нерва относительно варианта опыта с повреждением (рис. 3 и 4). В дистальном его отрезке на фоне использования препарата в его максимальной концентрации прослеживается аналогичная динамика: уровень ФИ, ФИФ, ФИ2Ф, ФИ3Ф уменьшается на 7.0, 11.0, 21.0 и 9.0% соответственно по сравнению с травмой (рис. 5 и 6). К 28-м суткам наблюдения уровень ФИ, ФИФ, ФИ2Ф, ФИ3Ф в проксимальном участке нерва все еще превышает контрольное значение на 29.0, 32.0, 39.0 и 20.0% соответственно (рис. 3 и 4). В дистальном участке нервного проводника содержание ФИ возрастает на 49%, ФИФ – на 40%, ФИ2Ф – на 42%, ФИ3Ф – на 36% по сравнению с неповрежденным нервом (рис. 5 и 6). При действии ИФР-1 из расчета 100 нг/кг наблюдается

существенное снижение концентрации всех исследуемых фракций фосфоинозитидов по сравнению с повреждением, уровень которых приближается к контрольным значениям. Следует отметить, что в дистальном отрезке нерва действие препарата проявляется в менее выраженной степени по сравнению с его проксимальным участком, что объясняется нарушением центральной иннервации, в результате чего дегенерационные процессы протекают намного интенсивнее именно в этом отрезке нервного проводника.

Согласно литературным данным, ДАГ образуется под действием фосфолипазы С и играет ключевую роль в регуляции активности протеинкиназы С, принимающей участие в ответе клеток на различные агонисты, включая гормоны, нейротрансмиттеры и ростовые факторы [12]. Поэтому в следующей серии экспериментов мы исследовали изменение содержания ДАГ в проксимальном и дистальном отделах седалищного нерва после его перерезки и внутримышечного введения ИФР-1. Показано, что в интактных нервах уровень ДАГ составляет в среднем 15 мкг жирных кислот ДАГ/мг общих липидов. Травма нервного проводника приводит к резкому снижению его содержания. На 7-е сутки после повреждения значение данного показателя относительно контроля уменьшается на 65.1 и 92.8% в проксимальном и дистальном отрезках соответственно. С увеличением сроков эксперимента до 28 суток наблюдается увеличение количества ДАГ, но все

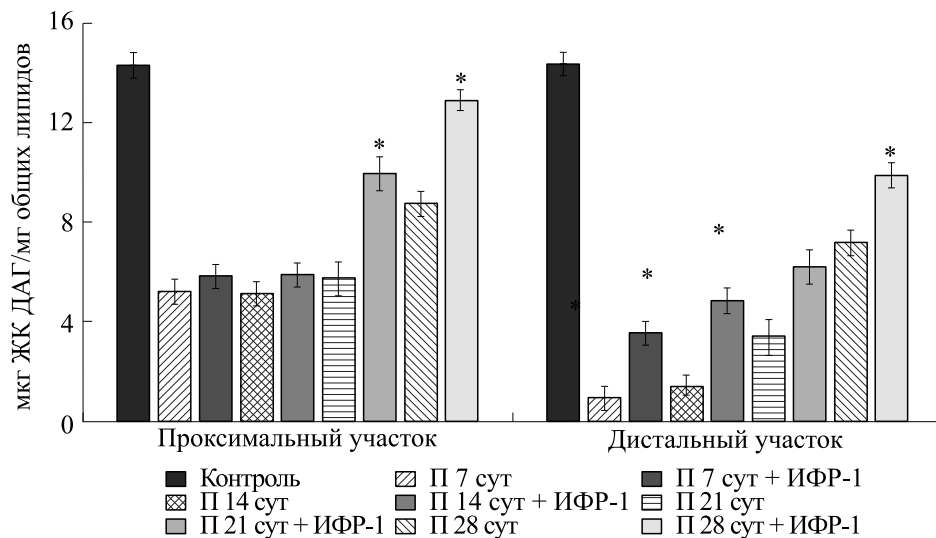


Рис. 7. Влияние ИФР-1 на изменение содержания диацилглицерина в проксимальном и дистальном участках седалищного нерва крысы после его повреждения. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

еще остается ниже контрольного значения в среднем в 1.9 раза в обоих отрезках нервного проводника. В ходе эксперимента показано, что наиболее значительные изменения уровня ДАГ при введении препарата отмечаются в проксимальном участке нерва и сопровождаются увеличением содержания в среднем на 13.2, 50.4 и 23.8% к 14, 21 и 28-м суткам соответственно по сравнению с повреждением. В дистальном отделе седалищного нерва наблюдается незначительное увеличение уровня ДАГ на 9.3% по сравнению с повре-

жденным нервом без использования препарата к 21-м суткам эксперимента. В остальных вариантах опыта значительные изменения не выявлены (рис. 7).

Согласно литературным данным, свободные жирные кислоты регулируют работу ионных каналов, АТФаз, G-белков и протеинкиназ, а также модулируют фосфоинозитидный и сфингомиелиновый циклы [15]. Результаты проведенных нами исследований показали, что содержание свободных жирных кислот в нервах

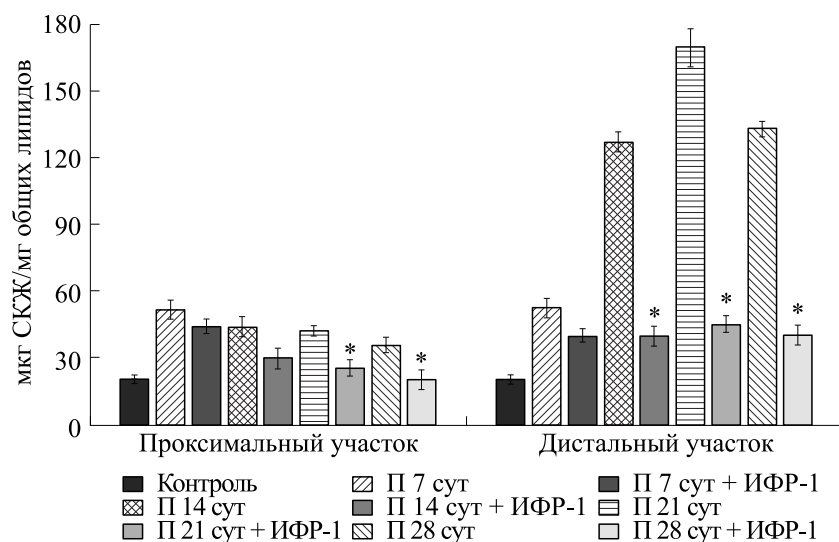


Рис. 8. Влияние ИФР-1 на изменение содержания свободных жирных кислот в проксимальном и дистальном участках седалищного нерва крысы после его повреждения. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

контрольной группы животных составляет в среднем 21 мкг ЖК/мг общих липидов. После повреждения седалищного нерва отмечаются существенные изменения уровня свободных жирных кислот в проксимальном его участке. К 7-м суткам эксперимента их содержание составляет в среднем 52.21 ± 2.39 мкг СЖК/мг общих липидов. С увеличением длительности периода после повреждения до 28 суток сохраняется тенденция к снижению уровня СЖК. Тем не менее их содержание не достигает контрольного значения, превышая его в среднем в 1.5 раза. В дистальном отрезке нервного проводника наблюдается аналогичная динамика, однако эти изменения имеют более выраженный характер в связи с глубокими дегенерационными процессами на всем его протяжении. В проксимальном отделе нерва на фоне использования ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг происходит снижение уровня СЖК. К 14 и 21-м суткам эксперимента концентрация фракции СЖК снижается на 16.3 и 36.3% соответственно по сравнению с повреждением, а с увеличением длительности эксперимента до 28 суток уровень СЖК уменьшается в 1.5 раза относительно серии опытов с перерезкой. При введении препарата незначительное снижение уровня СЖК в дистальном отрезке наблюдается к 21-м суткам эксперимента. В остальных вариантах опыта достоверные изменения не наблюдаются (рис. 8).

Следующим этапом эксперимента было определение жирнокислотного состава фракции фосфатидилинозитола, а также ДАГ и СЖК, при повреждении и действии ИФР-1. Спустя 7 суток после перерезки наблюдаются изменения жирнокислотного состава фракции фосфатидилинозитола, которые сопровождаются увеличением содержания насыщенных жирных кислот относительно контроля на 18.9% в проксимальном конце нерва за счет гентекановой, тридекановой, пентадекановой, пальмитиновой и стеариновой жирных кислот. При этом отмечается снижение содержания ненасыщенных жирных кислот и повышение коэффициента насыщенности, который составил 0.6. С увеличением времени повреждающего воздействия коэффициент насыщенности снижается, однако все еще превышает контрольное значение более чем в 2 раза. При введении ИФР-1 в концентрации препарата 100 нг/кг происходят изменения в перераспределении жирных кислот, что проявляется в снижении коэффициента насыщенности к 21 и 28-м суткам в проксимальном отделе нерва относительно варианта опыта с повреждением на 22.0 и 31.0% соответственно. Однако в дистальном его отрезке прослеживается увеличение данного показателя на протяжении 14 суток наблюдения в среднем в 3.8 раза. К 28-м суткам исследуемый показатель

снижается, но все еще превышает контрольные значения в 2.2 раза. К 21 и 28-м суткам эксперимента происходит стабилизация коэффициента насыщенности на фоне использования препарата, что проявляется в снижении исследуемого показателя на 37.4 и 29.1% по сравнению с повреждением.

В ходе проведения исследования показано, что в неповрежденном нерве во фракции ДАГ содержание насыщенных жирных кислот составляет 68.6%, а ненасыщенных — 31.4%. При этом коэффициент насыщенности составляет 2.18. Спустя 7 суток после травмы во фракции ДАГ происходит снижение коэффициента насыщенности в 1.5 раза относительно контроля. При введении инсулиноподобного фактора роста-1 подопытным животным в проксимальном отделе отмечается возрастание исследуемого показателя в среднем на 29% по сравнению с повреждением. С увеличением сроков эксперимента до 28 суток коэффициент насыщенности приближается к контрольным значениям. В дистальном отрезке нерва на фоне его перерезки во фракции ДАГ также происходит снижение коэффициента насыщенности относительно контроля, максимальное значение которого составляет 0.76 спустя 7 суток после травмы. К 21 и 28-м суткам эксперимента при введении ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг наблюдается незначительное увеличение коэффициента насыщенности, в то время как в остальных вариантах опыта достоверные изменения не наблюдаются.

Исследование показало, что во фракции СЖК уровень насыщенных жирных кислот составляет 60%, а ненасыщенных — 40%. Из всех обнаруженных жирных кислот наиболее высокая доля приходится на пальмитиновую и стеариновую жирные кислоты — 47.3 и 28.2% соответственно. Через 7 суток после повреждения нерва в проксимальной его части происходит увеличение уровня ненасыщенных жирных кислот, в частности линоленовой и арахидоновой, что сопровождается снижением коэффициента насыщенности в 2.9 раза относительно контроля. При увеличении периода наблюдения до 28 суток соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот остается ниже контрольных значений в 1.8 раза. Использование препарата в концентрации 100 нг/кг способствует изменению жирнокислотного состава фракции СЖК. Так, спустя 7 суток после травмы в опытной группе с использованием ИФР-1 коэффициент насыщенности возрастает относительно серии опытов с повреждением в 1.8 раза за счет снижения содержания арахидоновой, линолевой и *цис*-8,11,14-эйкозатриеновой жирных кислот. При этом на 28-е сутки после перерезки нерва на фоне действия препарата отме-

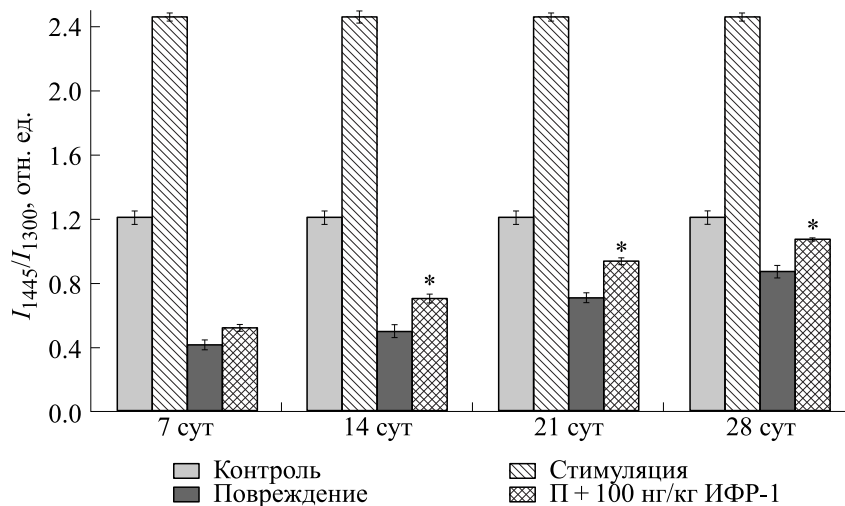


Рис. 9. Изменение отношения интенсивности полос I_{1445}/I_{1300} спектра комбинационного рассеяния проксимального участка седалищного нерва после повреждения и действия ИФР-1. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

чается снижение ненасыщенных жирных кислот на 67.1% по сравнению с повреждением. При внутримышечном введении ИФР-1 в дистальном конце поврежденного нерва существенных изменений жирнокислотного состава фракции СЖК практически не наблюдается.

Известно, что от состава и состояния липидов в значительной степени зависит функциональное состояние возбудимых образований [16]. Одним из наиболее современных и информативных методов анализа состояния клеточных мембран нервных проводников является метод спектроскопии комбинационного рассеяния [17, 18]. В результате полученной травмы проводимость нерва заметно снижается в проксимальном его участке и полностью утрачивается в дистальном отрезке нервного проводника. Исходя из этого, на следующем этапе исследования с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния мы провели оценку физико-химического состояния мембраны нервного проводника в проксимальном его отрезке. Установлено, что соотношение интенсивностей пиков I_{1445}/I_{1300} отражает упорядоченность жирнокислотных цепей, формирующих гидрофобный слой в мембране. При уменьшении этого показателя упорядоченность снижается, что сопровождается уменьшением вязкости мембраны [19, 20]. В ходе эксперимента было показано, что стимуляция нерва сопровождается увеличением данного показателя в среднем в 2.0 раза по сравнению с интактным нервом в состоянии покоя, что, вероятнее всего, объясняется изменениями состава липидов в гидрофобной области бислоя при проведении возбуждения. В се-

рии опытов с повреждением соотношение интенсивностей пиков I_{1445}/I_{1300} снижается на 65.3% относительно контрольной группы к 7-м суткам наблюдения. Тем не менее, увеличение времени повреждающего воздействия до 28 суток приводит к возрастанию упорядоченности жирнокислотных остатков в мембране, что свидетельствует об увеличении микровязкости мембраны нервного волокна. В серии опытов с введением ИФР-1 на начальных сроках после перерезки соотношение I_{1445}/I_{1300} практически не меняется. К 14-м суткам наблюдения значение показателя увеличивается на 40.0% по сравнению с повреждением. Спустя 28 суток после травмы соотношение пиков I_{1445}/I_{1300} приближается к контрольному значению (рис. 9).

О физико-химическом состоянии липидного бислоя также можно судить по соотношению интенсивности полос I_{2940}/I_{2853} , которое характеризует отношение белкового компонента к липидному [19]. Эксперимент показал, что раздражение нервов с частотой 100 имп/с в течение 5 мин приводит к увеличению данного показателя в 1.3 раза по сравнению с контролем, что согласуется с полученными нами данными по интенсификации метаболизма фосфоинозитидов при проведении возбуждения по нервному волокну. Перерезка седалищного нерва приводит к снижению соотношения I_{2940}/I_{2853} в 3.7 раза относительно контроля к 7-м суткам эксперимента в результате развития процессов валлеровой дегенерации, что сопровождается протеолитическим распадом и разрушением липидной фракции [10, 13]. С увеличением послеоперационных сроков

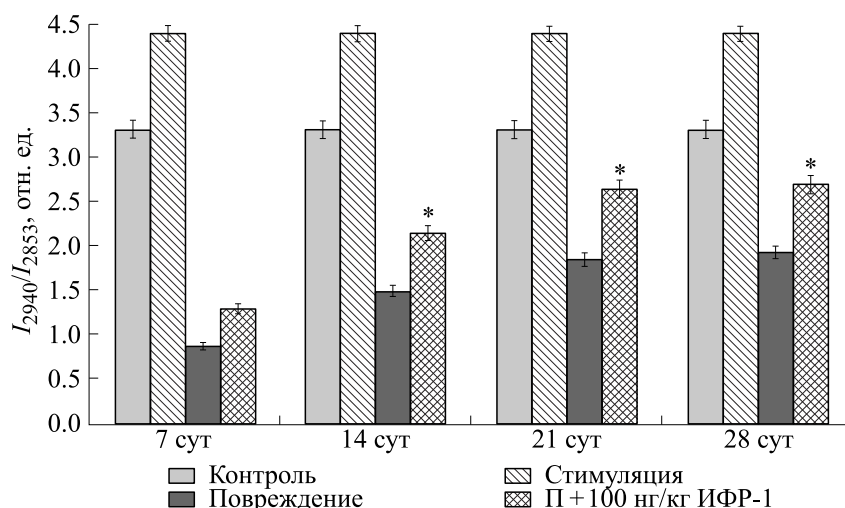


Рис. 10. Изменение отношения интенсивности полос I_{2940}/I_{2853} спектра комбинационного рассеяния проксимального участка седалищного нерва после повреждения и действия ИФР-1. Все планки погрешностей указывают стандартную ошибку среднего значения ($n = 10$), * — достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0.05$.

до 28 суток значение данного показателя возрастает, но все еще остается ниже контрольных значений в среднем в 1.7 раза. В серии опытов с ИФР-1 данный показатель достоверно увеличивается на более длительных сроках после перерезки: к 21-м суткам наблюдения его значение возрастает на 41.2%, а к 28-м суткам — на 38.5% по сравнению с повреждением (рис. 10).

Согласно литературным данным, способность к проведению потенциала действия по нервным волокнам является важнейшей характеристикой

процесса регенерации нервной ткани после повреждения [10]. Исследование показало, что на фоне травмы нервного проводника наблюдается значительное снижение проводимости в проксимальном его участке и полная утрата данной функции в дистальном отрезке нерва. С увеличением сроков эксперимента отмечается восстановление способности проведения потенциала действия в проксимальном отрезке нерва, что указывает на сохранение центральной иннервации и частичное восстановление функциональной активности нервных волокон. В серии опы-

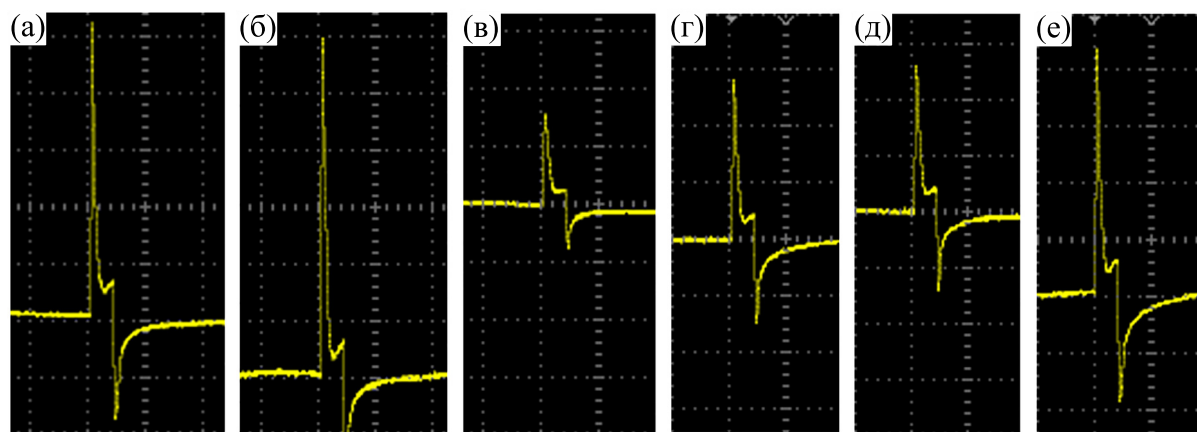


Рис. 11. Потенциал действия седалищного нерва крысы: (а) — контрольный нерв, (б) — проксимальный участок нерва после его стимуляции с частотой 100 имп/с в течение 5 мин, (в) — проксимальный участок нерва через 7 сут после повреждения, (г) — проксимальный участок нерва через 7 сут после повреждения и введения ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг, (д) — проксимальный участок нерва через 28 сут после повреждения, (е) — проксимальный участок нерва через 28 сут после повреждения и введения ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг. Масштаб по шкале потенциала — 20 мВ на клетку, масштаб по времени — 1.0 мс на клетку.

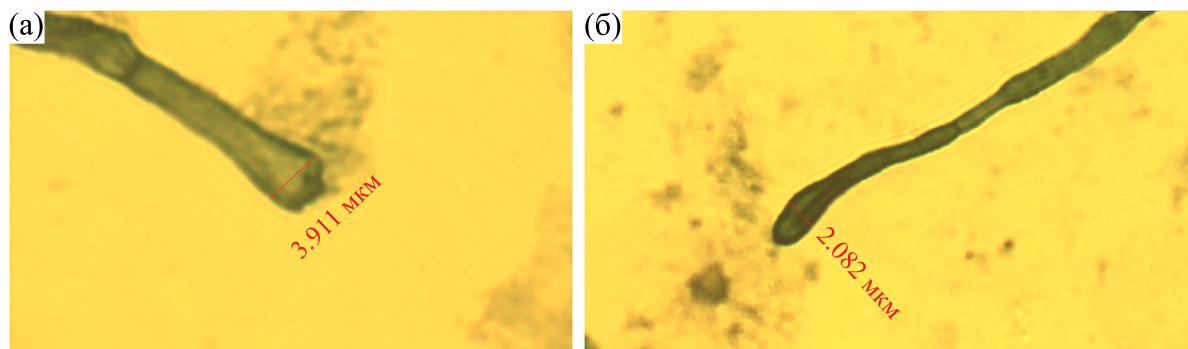


Рис. 12. Изображения конусов роста поврежденных аксонов через 21 сутки после перерезки (а) и действия ИФР-1 (б). Увеличение 63×.

тов с повреждением амплитуда потенциала действия снижается в среднем на 50% по сравнению с контролем к 28-м суткам наблюдения. При действии ИФР-1 в концентрации 100 нг/кг наблюдается восстановление проводимости в проксимальном отрезке нерва практически до контрольного уровня к концу эксперимента (рис. 11).

Одним из ярких свидетельств активации регенерационных процессов при действии ИФР-1 является появление конусов роста на поврежденных аксонах (рис. 12). В серии опытов с перерезкой конусы роста имеют слабо выраженную форму и представляют собой утолщения, не имеющие четких границ. В то же время на фоне внутримышечного введения препарата обнаруживаются конусы роста, характеризующиеся более оформленными очертаниями и меньшим диаметром, что связано с активным протеканием регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике.

ВЫВОДЫ

Исходя из полученных данных, стимуляция нервных волокон приводит к снижению содержания наиболее лабильных фракций фосфоинозитидов, а именно ФИ и ФИ2Ф, и увеличению доли ФИФ и ФИ3Ф, что свидетельствует об интенсификации метаболизма фосфоинозитидов в условиях проведения возбуждения по нервным проводникам. Кроме этого, изменения претерпевает не только полярная часть молекул фосфоинозитидов, но и их гидрофобная область, представленная жирными кислотами, определяющими физико-химическое состояние липидного бислоя. Было показано, что при проведении возбуждения по соматическим нервам наблюдается перераспределение жирных кислот в составе фракций ФИ, ДАГ и СЖК. Таким образом, при

переходе нервного проводника из состояния покоя в состояние возбуждения меняется состав и микровязкость липидного бислоя мембраны нервного волокна, что сопровождается изменением поступления ионов Ca^{2+} внутрь нервного волокна [21]. Корреляция между этими параметрами указывает на существование системы регуляции транспорта ионов кальция в соматических нервах за счет изменения состояния липидного бислоя. При этом ионы кальция и структурные изменения, происходящие в плазматической мембране нервного волокна, активируют фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу С, в результате чего происходит усиленный распад фосфатидилинозитола, а также накопление ДАГ и снижение уровня СЖК. Полученные нами данные по исследованию липидного состава нервного волокна подтверждаются результатами спектроскопии комбинационного рассеяния, свидетельствующими об изменении физико-химического состояния полярной и гидрофобной областей липидного бислоя при проведении возбуждения по нервному проводнику.

На следующем этапе эксперимента было установлено, что перерезка нерва сопровождается накоплением всех форм фосфоинозитидов и снижением уровня ДАГ как в проксимальном, так и в дистальном отрезках нервного проводника, что, вероятнее всего, объясняется инактивацией фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы С [13]. Из литературных данных известно, что действие ИФР-1 на клетки определяется его связыванием с ИФР-рецептором 1-го типа (ИФР-Р1), который экспрессируется во всех типах клеток, кроме гепатоцитов и Т-лимфоцитов, и является важным элементом обеспечения нормального развития организма. Недавние исследования продемонстрировали, что эмбрионы мышей, лишенные ИФР-Р1, имеют дефекты развития легких, кожи,

костей, а также неврологические нарушения [22]. Было показано, что внутримышечное введение инсулиноподобного фактора роста-1 способствует интенсификации фосфоинозитидного обмена, накоплению ДАГ и снижению уровня СЖК. Полученные нами результаты исследований согласуются с литературными данными, указывающими на способность ИФР-1 запускать несколько сигнальных путей, связанных с образованием метаболитов липидной природы. Один из них опосредуется активацией фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы С, в результате чего количественное содержание фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата снижается. Распад ФИ2Ф сопровождается образованием диацилглицерина и инозитолтрифосфата, активирующего Ca^{2+} -каналы внутриклеточных депо, через которые Ca^{2+} высвобождается в цитоплазму. Диацилглицерин остается в плазматической мембране и Ca^{2+} -зависимым образом активирует протеинкиназы семейства PKC, PKD, а также ряд ионных каналов. Известно, что данный сигнальный путь регулирует такие физиологические функции, как клеточный рост, пролиферацию и дифференцировку [23]. Кроме этого, связывание инсулиноподобного фактора роста-1 с ИФР-рецептором 1-го типа запускает фосфатидилинозитол-3-киназный сигнальный путь, в результате чего фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат фосфорилируется до фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата, который, в свою очередь, стимулирует цитоплазматический фактор PDK1 (3-фосфоинозитидзависимая протеинкиназа 1) данного сигнального пути, что сопровождается активацией Akt (серин/треониновой протеинкиназы В, участвующей в регуляции процессов выживания и пролиферации клеток) и повышением экспрессии различных факторов транскрипции, необходимых для аксональной регенерации и восстановления функционирования поврежденных соматических нервов [24]. Тем не менее, на фоне действия препарата существенные изменения наблюдаются не только в количественном содержании, но и в жирнокислотном составе исследуемых липидных фракций. Сходный набор жирных кислот во фракции фосфатидилинозитола и свободных жирных кислот, а также динамика их перераспределения свидетельствуют о том, что значительная часть СЖК может образовываться из фосфатидилинозитола в результате активации ферментов из семейства фосфолипазы А. Введение препарата подопытным животным вызывает заметные изменения во фракции свободных жирных кислот, способствуя стабилизации жирнокислотного состава и снижению количества ненасыщенных жирных кислот, которые, как известно, являются основным субстратом процесса перекисного окисления липи-

дов. Следует отметить, что наиболее выраженное действие препарата практически на все исследуемые показатели проявляется в проксимальном отрезке нервного проводника, поскольку в дистальном его участке наблюдаются глубокие дегенерационные процессы в связи с нарушением механизмов центральной иннервации. Полученные данные также коррелируют с восстановлением способности соматических нервов проводить потенциал действия на фоне действия инсулиноподобного фактора роста-1, что свидетельствует об эффективном протекании регенерационных процессов в травмированных нервных проводниках.

Таким образом, согласно результатам собственных исследований и литературным данным [14, 22–24], ИФР-1 способствует интенсификации фосфоинозитидного обмена в поврежденных соматических нервах в результате активации сигнального каскада, опосредованного фосфоинозитид-специфичной фосфолипазой С, и фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути. Появление конуса роста и возникновение потенциала действия при действии препарата свидетельствуют об активации регенерационных процессов, что приводит к восстановлению функциональной активности соматических нервов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (код научной темы FZRS-2024-0005) в рамках государственного задания Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарёва (создание новых молодежных лабораторий).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работы с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минвуза от 13.11.1984 № 742).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Adidharma W., Khouri A. N., Lee J. C., Vanderboll K., Kung T. A., Cederna P. S., and Kemp S.W. P. Sensory nerve regeneration and reinnervation in muscle following peripheral nerve injury. *Muscle & Nerve*, **66**, 384–396 (2022). DOI: 10.1002/mus.27661

2. Slavin B. R., Sarhane K. A., von Guionneau N., Hanwright P. J., Qiu C., Mao H. Q., Höke A., and Tuffaha S. H. Insulin-like growth factor-1: A promising therapeutic target for peripheral nerve injury. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **9**, 695850 (2021). DOI: 10.3389/fbioe.2021.695850
3. Revin V. V., Nabokina S. M., Anisimova I. A., and Gruniushkin I. P. Activity of phosphoinositide-specific phospholipase C in rabbit nerves at rest and during stimulation. *Biokhimiia*, **61** (5), 815–820 (1996).
4. Parchaykina M., Chudaikina E., Revina E., Molchanov I., Zavarykina A., Popkov E., and Revin V. The effect of insulin-like growth factor-1 on the quantitative and qualitative composition of phosphoinositide cycle components during the damage and regeneration of somatic nerves. *Scientia Pharmaceut.*, **92** (4), 60 (2024). DOI: 10.3390/scipharm92040060
5. Roy D. and Tedeschi A. The role of lipids, lipid metabolism and ectopic lipid accumulation in axon growth, regeneration and repair after CNS injury and disease. *Cells*, **10** (5), 1078 (2021). DOI: 10.3390/cells10051078
6. Bligh E. G. and Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37** (8), 911–917 (1959). DOI: 10.1139/o59-099
7. Прохорова М. И., Романова Л. С. и Туманова С. Ю. *Биохимия и функции нервной системы* (Наука, М., 1967).
8. Findlay J. B. C. and Howard Evans W. *Biological membranes: A practical approach* (IRL Press, 1987).
9. Morrison W. R. and Smith L. M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Lipid Res.*, **5**, 600–608 (1964).
10. Kuz'menko T. P., Parchaykina M. V., Revina E. S., Gladysheva M. Y., and Revin V. V. Influence of neurotrophic factors on the composition of proteins during damage and regeneration of somatic nerves. *Biophysics*, **68**, 334–348 (2023). DOI: 10.31857/S0006302923020138
11. Cocco L., Follo M. Y., Manzoli L., and Suh P. G. Phosphoinositide-specific phospholipase C in health and disease. *J. Lipid Res.*, **56** (10), 1853–1860 (2015). DOI: 10.1194/jlr.R057984
12. Nelson T. J., Sun M. K., Hongpaisan J., and Alkon D. L. Insulin, PKC signaling pathways and synaptic remodeling during memory storage and neuronal repair. *Eur. J. Pharmacol.*, **585** (1), 76–87 (2008). DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.01.051
13. Ревина Э. С., Девяткин А. А., Ревин В. В. и Громова Н. В. *Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран* (Изд-во Мордов. ун-та, Саранск, 2012).
14. Nuñez A., Zagarra-Valdivia J., Fernandez de Sevilla D., Pignatelli J., and Torres Aleman I. The neurobiology of insulin-like growth factor I: From neuroprotection to modulation of brain states. *Mol. Psychiatry*, **28** (8), 3220–3230 (2023). DOI: 10.1038/s41380-023-02136-6
15. Britten-Jones A. C., Craig J. P., Anderson A. J., and Downie L. E. Association between systemic omega-3 polyunsaturated fatty acid levels and corneal nerve structure and function. *Eye*, **37**, 1866–1873 (2023). DOI: 10.1038/s41433-022-02259-0
16. Iqbal Z., Bashir B., Ferdousi M., Kalteniece A., Alam U., Malik R. A., and Soran H. Lipids and peripheral neuropathy. *Curr. Opin. Lipidol.*, **32** (4), 249–257 (2021). DOI: 10.1097/MOL.0000000000000770
17. de Almeida Melo Maciel Manguiera M., Caparelli-Dáquer E., Filho O. P. G., de Assis D. S. F. R., Sousa J. K. C., Lima W. L., Pinheiro A. L. B., Silveira L. Jr., and Manguiera N. M. Raman spectroscopy and sciatic functional index (SFI) after low-level laser therapy (LLLT) in a rat sciatic nerve crush injury model. *Lasers Med. Sci.*, **37** (7), 2957–2971 (2022). DOI: 10.1007/s10103-022-03565-5
18. Guo Y., Sun L., Zhong W., Zhang N., Zhao Z., and Tian W. Artificial intelligence-assisted repair of peripheral nerve injury: a new research hotspot and associated challenges. *Neural Regen. Res.*, **19** (3), 663–670 (2024). DOI: 10.4103/1673-5374.380909
19. Morisaki S., Ota C., Matsuda K., Kaku N., Fujiwara H., Oda R., Ishibashi H., Kubo T., and Kawata M. Application of Raman spectroscopy for visualizing biochemical changes during peripheral nerve injury *in vitro* and *in vivo*. *J. Biomed. Opt.*, **18** (11), 116011 (2013). DOI: 10.1117/1.JBO.18.11.116011
20. Li R., Slipchenko M. N., Wang P., and Cheng J. X. Compact high power barium nitrite crystal-based Raman laser at 1197 nm for photoacoustic imaging of fat. *J. Biomed. Opt.*, **18** (4), 040502 (2013). DOI: 10.1117/1.JBO.18.4.040502
21. Forbes B. E., Blyth A. J., and Wit J. M. Disorders of IGFs and IGF-1R signaling pathways. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **518**, 111035 (2020). DOI: 10.1016/j.mce.2020.111035
22. Dya G. A., Klychnikov O. I., Adasheva D. A., Vladychenskaya E. A., Katrukha A. G., and Serebryanaya D. V. IGF-Binding proteins and their proteolysis as a mechanism of regulated IGF release in the nervous tissue. *Biochemistry*, **88** (S1), 105–122 (2023). DOI: 10.1134/S0006297923140079
23. Nieuwenhuis B. and Eva R. Promoting axon regeneration in the central nervous system by increasing PI3-kinase signaling. *Neural Regen. Res.*, **17** (6), 1172–1182 (2022). DOI: 10.4103/1673-5374.327324
24. Wisessaowapak C., Niyomchan A., Visitnonthachai D., Leelaprachakul N., Watcharasi P., and Satayavivad J. Arsenic-induced IGF-1 signaling impairment and neurite shortening: The protective roles of IGF-1 through the PI3K/Akt axis. *Environ. Toxicol.*, **39** (3), 1119–1128 (2024). DOI: 10.1002/tox.23995

The Role of Metabolites of the Phosphoinositide Cycle in the Regulation of Excitation Conditions and Regeneration of Damaged Somatic Nerves under the Action of Insulin-Like Growth Factor-1

**E.V. Chudaikina*, M.V. Parchaykina*, I.D. Molchanov*, E.S. Revina*,
A.V. Zavarykina*, M.A. Simakova*, I.P. Grunyushkin*, and V.V. Revin***

**National Research Ogarev Mordovia State University, Bol'shevistskaya ul. 68, Saransk, 430005 Russia*

Changes in the qualitative composition and quantitative content of metabolites of the phosphoinositide cycle have been studied and their participation in the process of excitation conduction along nerve conductors and regeneration of damaged somatic nerves under the action of insulin-like growth factor-1 have been established. It was shown that during nerve excitation there is a decrease in the level of phosphatidylinositol and phosphatidylinositol-4,5-diphosphate and an increase in the content of phosphatidylinositol-4-monophosphate and phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, which indicates the intensification of phosphoinositide metabolism under conditions of depolarization of the nerve fiber membrane, and there is also a redistribution of fatty acids in the composition of phosphatidylinositol, diacylglycerol and free fatty acid fractions. Nerve transection is accompanied by accumulation of all forms of phosphoinositides and a decrease in the level of diacylglycerol in both proximal and distal sections of the nerve conductor, apparently as a result of inactivation of phosphoinositide-specific phospholipase C. Against the background of intramuscular injection of insulin-like growth factor-1 at a concentration of 100 ng/kg, intensification of phosphoinositide metabolism, accumulation of diacylglycerol and decrease in the level of free fatty acids were observed. The methods of Raman spectroscopy, registration of action potentials and growth cones revealed the restoration of the physico-chemical state of the lipid bilayer and functional activity in the proximal segment of somatic nerves using insulin-like growth factor-1, which correlates with the data we obtained on the changes in the composition of the lipid fraction of damaged nerve conductors against the background of the drug action. We believe that insulin-like growth factor-1 is one of the factors of axonal regeneration and restoration of functioning of damaged nerve conductors, exerting its effect as a result of activation of phosphoinositide-specific phospholipase C and phosphatidylinositol-3-kinase signaling pathways.

Keywords: somatic nerves, excitation, nerve injury, phosphoinositides, insulin-like growth factor-1, growth cone