

КРИОСОХРАНЕНИЕ СРЕЗОВ МОЗГА КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ИХ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

А.А. Мокрушин

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Исследовали влияние криосохранения переживающих срезов мозга крыс-самцов популяции линий Wistar с различной длительностью (4, 8, 10, 23 и 90 сут) на изменения электрической активности. Измерялись амплитуды АМПА- и НМДА-зависимых глутаматергических ионотропных механизмов, а также потенциала действия латерального обонятельного тракта (ПД ЛОТ) при температуре -20°C и последующем отогревании до $+37^{\circ}\text{C}$. После криоконсервации эти механизмы сохранялись и восстанавливались. Использовалась методика электрофизиологической регистрации АМПА-, НМДА-потенциалов и суммарного ПД ЛОТ. После криосохранения АМПА-зависимые механизмы и активность проводящих волокон ЛОТ восстанавливались до нормотермических значений. Напротив, восстановление НМДА-зависимых механизмов было неполным и составляло в среднем 34% по сравнению с нормотермическими значениями. Результаты свидетельствуют, что после криоконсервации срезов мозга крыс активности базовых ионотропных глутаматергических механизмов восстанавливаются.

Ключевые слова: срезы мозга крыс, криоконсервация, АМПА-зависимые механизмы, НМДА-зависимые механизмы

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 65.2).

Для цитирования: Мокрушин А.А. Криосохранение срезов мозга крыс с различной длительностью и восстановление их электрической активности. *Биомедицина*. 2019;15(4):98–106. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-98-106>

Поступила 13.02.2019

Принята после доработки 18.09.2019

Опубликована 10.12.2019

CRYOPRESERVATION OF RAT BRAIN SLICES WITH DIFFERENT DURATION AND RESTORATION OF THEIR ELECTRICAL ACTIVITY

Anatoliy A. Mokrushin

*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences
199034, Russian Federation, Saint Petersburg, Makarova embankment, 6*

Effects of cryopreservation of male Wistar rat brain slices with different duration (4, 8, 10, 23, and 90 days) on changes in their electrical activity was investigated. The amplitudes of AMPA- and NMDA-dependent glutamatergic ionotropic mechanisms were measured, as well as the action potential of the lateral olfactory tract (AP LOT) at a temperature of -20°C and subsequent warming to $+37^{\circ}\text{C}$. After cryopreservation, these mechanisms were preserved and restored. We used the method of electrophysiological registration

of the AMPA and NMDA potentials and the total AP LOT. After cryopreservation, the AMPA-dependent mechanisms and the activity of conductive LOT fibers were restored to normothermal values. On the contrary, the recovery of NMDA-dependent mechanisms was incomplete and averaged 34% compared with the normothermal values. The results indicate that, after cryopreservation, the activity of basic ionotropic glutamatergic mechanisms in rat brain slices is restored.

Keywords: rat brain slices, cryopreservation, AMPA-dependent mechanisms, NMDA-dependent mechanisms

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Funding: The study was financially supported by the Programme of Basic Research in RF Academies for 2013–2020 (GP-14, Section 65.2).

For citation: Mokrushin A.A. Cryopreservation of Rat Brain Slices with Different Duration and Restoration of Their Electrical Activity. *Journal Biomed.* 2019;15(4):98–106. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-98-106>

Submitted 13.02.2019

Revised 18.09.2019

Published 10.12.2019

Введение

Криосохранение — это перспективная биотехнология, позволяющая длительно сохранять биологический материал в жизнеспособном состоянии при низких температурах. Исследование обратимого ингибирования активности клеток и органов млекопитающих после их криоконсервации имеет практическое значение с развитием методов трансплантации тканей, органов и необходимостью создания криобанка трансплантатов.

В настоящее время в медицине и ветеринарии успешно применяется низкотемпературное хранение однопипных клеток (ооциты, сперматозоиды, клетки крови и др.) с последующим восстановлением их биологических функций после отогревания. Что касается сложноорганизованных органов и тканей, например нервной, то методы криоконсервации до сих пор детально не разработаны для использования в клинических условиях. Очевидно, это связано с гетерогенным клеточным составом нервной ткани (разного типа нейроны, глиальные клетки, синапсы) и отсутствием стандартных протоколов процесса замораживания/отогревания [12].

При разработке протоколов криоконсервации нервной ткани переживающие срезы мозга являются оптимальными экспе-

риментальными объектами для изучения закономерностей криосохранения нервной системы. Они представляют собой эксплантат мозга размером 10×15 мм и толщиной 400–500 мкм. В срезах мозга можно регистрировать элек. трическую активность нейронов и синапсов аналогично условиям *in vivo* для моделирования нормальных и патологических состояний мозга [6].

Исследования криосохранения на срезах мозга выявили закономерности воздействия скорости и глубины замораживания на восстановление синаптической активности в срезах мозга, а также применения некоторых криопротекторов [10]. В данном исследовании для разработки биотехнологий криосохранения нервной ткани использовали глубину замораживания –20°C. Обнаружено, что активность энзимов в клетках при такой температуре ингибируется, но восстанавливается при отогревании [5].

Целью исследования явилось определение влияния криосохранения срезов мозга при температуре –20°C с различной длительностью (недели, месяцы) на восстановление электрической активности в виде ионотропных глутаматергических рецепторных АМПА- (α -амино-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропионовая

кислота) и НМДА-зависимых (*N*-метил-D-аспартат) механизмов. Кроме того, были изучены эффекты криосохранения проводящих нервных волокон латерального обонятельного тракта (ЛОТ), который локализован в срезах обонятельной коры мозга крыс. Скорости замораживания/отогревания срезов мозга не превышали 0,1–0,125°C/мин, и не использовались криопротекторы.

Материалы и методы

В исследованиях использовались белые крысы-самцы популяции линий Wistar массой 180–200 г. Все эксперименты проведены на крысах из биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России с соблюдением рекомендаций по этике работы с животными, предложенных European Communities Council Direction (86/609 ЕЕС). Опыты с животными были одобрены в строгом соответствии с Руководством Совета Федерации по уходу и использованию лабораторных животных (1994 г.) и с руководящими принципами Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук (1996 г.).

Тангенциальные срезы толщиной 400–500 мкм изготавливали из мозга крыс-самцов популяции линий Wistar (по 13 контрольных и опытных животных) [2]. Из мозга крыс-самцов были приготовлены по 25 контрольных и опытных срезов, каждый из которых преинкубировали отдельно в стеклянных виалах инкубационной средой объемом 1 мл в аппарате Варбурга (Германия) при температуре +37°C. Обе группы животных (контрольная и опытная) были идентичны по весу, режиму кормления и содержания в виварии.

После преинкубации в течение 2-х ч срезы помещали в камеру электрофизио-

логической установки [3] и перфузировали со скоростью 2 мл/мин искусственной церебральной жидкостью следующего состава (мМ): NaCl — 124,0; KCl — 5,0; CaCl₂ — 2,6; KH₂PO₄ — 1,24; MgSO₄ — 1,2; NaHCO₃ — 3,0; глюкоза — 10,0; трис-HCl — 23,0; pH — 7,2–7,3.

Электрическая активность срезов определялась при регистрации АМПА-, НМДА-потенциалов. Регистрацию этих потенциалов производили экстраклеточно стеклянными микроэлектродами, заполненными 1М NaCl, сопротивлением 1–5 МОм в ответ на одиночные ортодромные электрические импульсы (прямоугольной формы, длительностью 0,1 мс, интенсивностью 1–3 В, частотой 0,003 Гц) ЛОТ. Индифферентный хлорсеребряный электрод располагали в камере.

АМПА-, НМДА-потенциалы усиливались прибором (НТО, Россия) и оцифровывались аналого-цифровым интерфейсом (Е 20-10, Россия) с частотой квантования 25 кГц. С помощью специальной программы на компьютере анализировались изменения амплитуд АМПА-, НМДА-потенциалов.

Химические реактивы, необходимые для приготовления инкубационной среды, получены от фирмы «Химреактив» (Россия).

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием непараметрического анализа (*U*-критерий Вилкоксона — Манна — Уитни). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Протокол криосохранения заключался в следующем. Срезы после преинкубации помещались в проточную камеру электрофизиологической установки, и в них регистрировались амплитуды АМПА-, НМДА-потенциалов при температуре +37°C [3]. Затем срезы градуально охлаждались до температуры +16°C в установке при медленных скоростях (0,1–0,125°C/мин). Далее срезы переносили в стеклянные виалы с инкубационным

р-ром объемом 1 мл, постепенно замораживали до -20°C и сохраняли в морозильнике термостата ThermoStat plus (Eppendorf, Germany).

После криосохранения срезы отогревались с медленными скоростями ($0,1-0,125^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) до $+37^{\circ}\text{C}$ и затем переносились в перфузионную камеру электрофизиологической установки. В ней изучали степени восстановления электрической активности глутаматергических ионотропных механизмов по изменениям амплитуд АМПА-, НМДА-потенциалов и ПД ЛОТ после различных временных интервалов их криосохранения: 4, 8, 10, 23 и 90 сут.

Результаты и их обсуждение

Срезы мозга после криоконсервации были испытаны на возникновение и восстановление АМПА- и НМДА-потенциалов и пресинаптического компонента — ПД ЛОТ в течение 15–20 мин. Скорость отогревания срезов составляла $0,1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Было выявлено, что во всех срезах (100%, $n=25$) активности АМПА- и НМДА-механизмов восстанавливались после криоконсервации с различной длительностью.

Далее анализировались степени восстановления активностей АМПА-, НМДА-зависимых механизмов после различных сроков криосохранения.

Степени сохранения активностей АМПА- и НМДА-механизмов были различны (рис. 1). Так, активность проводящих волокон ЛОТ (амплитуда ПД ЛОТ) восстанавливалась после 10-ти сут, но возрастала после 23-х и 90-та сут криосохранения. Активность АМПА-механизмов возрастала при меньших сроках криосохранения (рис. 1А, Б), но после 90-та сут она восстанавливалась до контрольного значения (рис. 1В). Степень восстановления активности НМДА-механизмов после всех сроков криосохранения была меньше по сравнению с ПД ЛОТ и АМПА-механизмов (рис. 1).

Для выяснения, как воздействуют различные сроки криосохранения на восстановленные активности проводящих волокон (ПД ЛОТ), АМПА- и НМДА-механизмов, были проанализированы суммарные данные изменения амплитуд этих потенциалов.

В результате проведенных исследований было обнаружено, что амплитуды АМПА-потенциалов после отогревания увеличивались в течение всего времени отогревания и статистически не отличались от контрольных значений после 4-х и 23-х сут криосохранения ($U=15$, $n=25$, $p\geq 0,05$) (рис. 2). В интервалах 8-ми и 10-ти сут криосохранения амплитуды АМПА-потенциалов достоверно превышали контрольные значения в среднем на 47% ($U=7$, $n=25$, $p\leq 0,05$). Эти данные показывают, что воздействие кратковременной криоконсервации способствует восстановлению активностей АМПА-зависимых рецепторных механизмов.

Криосохранение НМДА-механизмов представляет особый интерес, поскольку известно, что при обучении активности НМДА-рецепторов являются исключительно важными для инициирования функциональной пластичности, связанной с обучением [13].

Результаты исследований выявили, что НМДА-зависимые механизмы после криосохранения, в отличие от изменений активности АМПА-зависимых механизмов, восстанавливались иным образом. Амплитуды НМДА-потенциалов имели тенденцию к восстановлению, но значение их амплитуд составляло в среднем 11% по сравнению с амплитудой до замораживания после 4-х, 8-ми, 10-ти и 90-та сут криоконсервации (рис. 3). Было выявлено, что восстановление амплитуд НМДА-потенциалов усиливалось после 23-х сут криоконсервации и составляло в среднем $53\pm 12\%$ ($U=8$, $n=25$, $p\leq 0,05$) (рис. 3).

Данные, представленные выше, свидетельствуют о том, что НМДА-зависимые

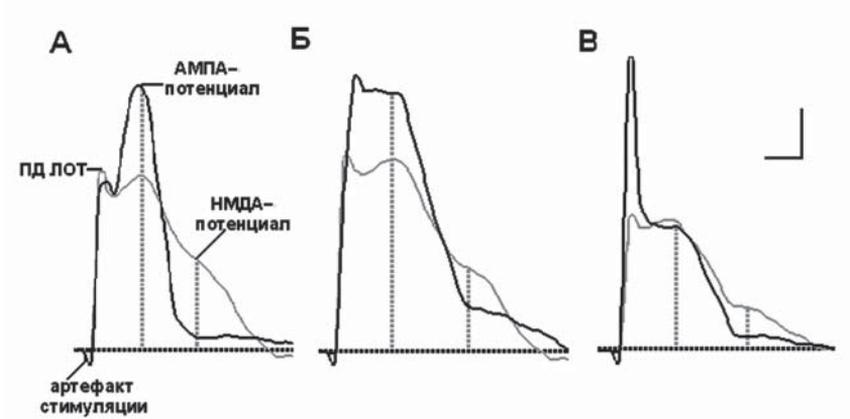


Рис. 1. Изменения амплитуд ПД ЛОТ, АМПА- и НМДА-потенциалов после криосохранения с различными длительностями: 10 (А), 23 (Б) и 90 (В) сут при отогревании срезов до +37°C.

Примечание: Горизонтальная пунктирная линия — изолиния. Вертикальные серые линии показывают амплитуды АМПА- и НМДА-потенциалов. Потенциал ПД ЛОТ показан стрелкой. Измерения амплитуд потенциалов производились от изолинии до пика. Калибровка: 0,1 мВ; 5,0 мс.

Fig. 1. Changes in the amplitudes of AP LOT, AMPA and NMDA potentials after cryopreservation with different duration: 10 (A), 23 (B), and 90 (B) days when the slices were rewarming to +37°C.

Note: Horizontal dashed line — isoline. Vertical gray lines show the amplitudes of the AMPA and NMDA potentials. The potential of AP LOT is shown by an arrow. The amplitudes of the potentials were measured from the isoline to the peak. Calibration: 0.1 mV; 5.0 ms.

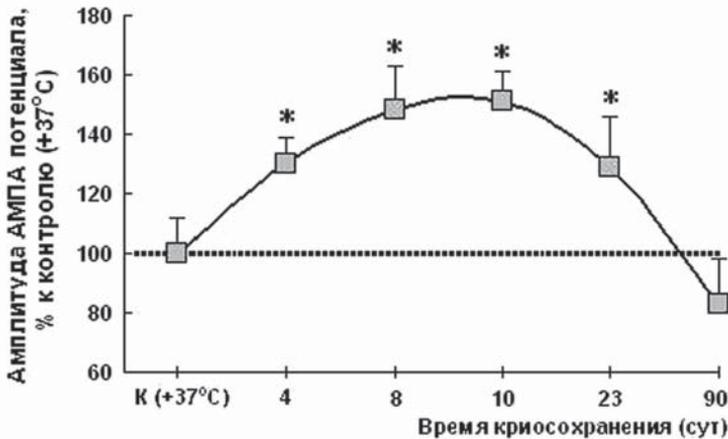


Рис. 2. Изменения амплитуды АМПА-потенциалов после криосохранения с различными длительностями при отогревании срезов до +37°C.

Примечание: По оси абсцисс: К (+37°C) — контрольные значения АМПА-потенциалов при +37°C. Горизонтальная пунктирная линия — контрольные значения АМПА-потенциалов при +37°C до замораживания. n=25 для каждой точки, * — p<0,05; U-критерий Вилкоксона — Манна — Уитни.

Fig. 2. Changes in the amplitude of the AMPA potentials after cryopreservation with different duration when re-warming slices to +37°C.

Note: On the abscissa axis: K (+37°C) — control values of AMPA potentials at +37°C. The horizontal dashed line is the control values of the AMPA potentials at +37°C before freezing. n=25 for each point, * — p<0.05; Wilcoxon — Mann — Whitney U-test.

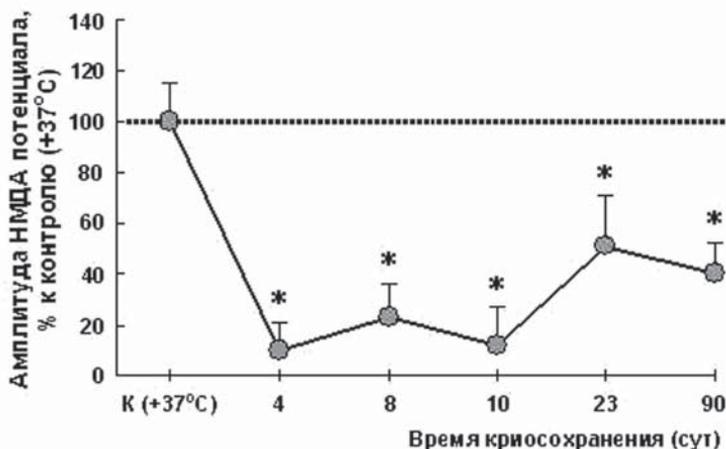


Рис. 3. Изменения амплитуды НМДА-потенциалов после криосохранения с различными длительностями при отогревании срезов до +37°C.

Примечание: Обозначения как на рис. 2.

Fig. 3. Changes in the NMDA potential amplitude after cryopreservation with different duration during re-warming slices to +37°C.

Note: Designations as in Fig. 2.

механизмы наиболее уязвимы к действию глубокого замораживания -20°C и последующего отогревания до нормотермических значений.

В работе было проанализировано восстановление суммарной активности волокон ЛОТ после различных сроков криосохранения. Было обнаружено, что амплитуды ПД ЛОТ после криоконсервации восстанавливались (рис. 4). Рассматривая влияние длительности криосохранения на степени восстановления активности волокон ЛОТ, можно выявить определенную закономерность. Так, после 4-х сут криоконсервации активность волокон ЛОТ восстанавливалась до $76 \pm 10\%$ и достоверно отличалась от контрольных значений ($U=7, n=5, p \leq 0,05$). Пролонгация длительности криосохранения до 8-ми, 10-ти сут способствовала полному восстановлению волокон ЛОТ. Дальнейшее увеличение длительности до 23-х и особенно до 90-та сут криосохранения вызывало значительное возрастание амплитуд ПД ЛОТ, достоверно превышающее контрольные значе-

ния до замораживания срезов ($U=11, n=5, p \leq 0,05$) (рис. 4).

Таким образом, увеличение длительности криосохранения сопровождается не только восстановлением активности волокон ЛОТ, но их гиперактивацией после отогревания.

В результате проведенных исследований были получены данные, которые свидетельствуют, что после криоконсервации срезов мозга негипернующих животных (крыс) активность ионотропных глутаматергических АМПА- и НМДА-зависимых механизмов, а также активность проводящих волокон ЛОТ восстанавливались.

Существенными факторами примененного нами протокола криосохранения были глубина и скорость замораживания/отогревания. Для криоконсервации срезов мозга была применена глубина замораживания срезов -20°C . Такой выбор температуры был основан на установленном факте, что метаболическая активность клеток ингибируется, но не блокируется [5]. Важно отметить, что в проведенном исследовании была использована медленная скорость

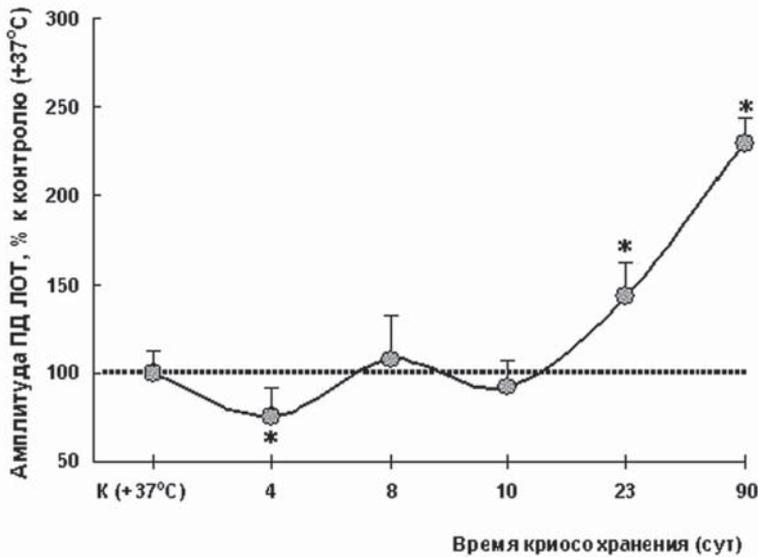


Рис. 4. Изменения амплитуды суммарного ПД ЛОТ после криосохранения с различными длительностями при отогревании срезов до +37°C.

Примечание: Обозначения как на рис. 2.

Fig. 4. Changes in the total AP LOT amplitude after cryopreservation with different duration during re-warming slices to +37°C.

Note: Designations as in Fig. 2.

замораживания/отогревания срезов мозга (не более 0,125°C/мин). Этот прием был основан на результатах наших предыдущих исследований, в которых было показано, что скорости 0,1–0,125°C/мин замораживания/отогревания способствовали восстановлению активности АМПА- и НМДА-зависимых механизмов [9, 10].

Особое внимание в работе было обращено на выявление закономерностей влияния различных длительностей криоконсервации на сохранение и восстановление активности АМПА- и НМДА-зависимых механизмов, а также активностей проводящих волокон ЛОТ.

Анализ результатов экспериментов показал, что глутаматергические синаптические механизмы, а также активности проводящих волокон после всех интервалов длительности криоконсервации в срезах сохранялись и восстанавливались при отогревании, и были определены резистент-

ности этих механизмов к примененному протоколу криосохранения. Обнаружено, что резистентности исследованных механизмов к воздействию замораживания и последующего отогревания оказались различными. При сопоставлении толерантности глутаматергических механизмов к воздействию криосохранения выявилась закономерность, что АМПА-зависимые механизмы, а также активности проводящих волокон были более устойчивы к процедуре криосохранения. Активности этих механизмов восстанавливались при отогревании, а активность волокон ЛОТ была гиперактивирована при длительных сроках криосохранения (23 и 90 сут).

Напротив, резистентность НМДА-зависимых механизмов к воздействию различных длительностей криосохранения была ниже, чем АМПА-зависимых механизмов. Активность этих процессов восстанавливалась до 15–50% по отно-

шению к нормотермическому контролю до криосохранения.

Учитывая эти особенности восстановления НМДА-механизмов после криосохранения, можно полагать, что для оптимизации процесса криоконсервации гетерогенных структур эксплантатов мозга необходимо применять криопротекторы. Вместе с тем необходимо принимать во внимание, что применение традиционных криопротекторов, таких как диметилсульфоксид, этиленгликоль, глицерин и др., вызывает нарушение функционирования синаптических механизмов в мозговых структурах [1, 4, 7].

При поиске криопротекторов, не вызывающих токсические эффекты, следует ориентироваться на вещества эндогенного происхождения, такие как белки теплового шока [8], дипептид карнозин [11], пептид TSKY (Thr-Ser-Lys-Tyr), выделенный из мозга зимоспящих сусликов [1]. Эти вопросы планируется изучить в следующих исследованиях.

Важный аспект наших исследований заключался в том, что были проанализированы влияния различных длительностей криоконсервации на восстановление активностей волокон ЛОТ. Отметим, что для клиници криосохранение нервов представляет важное значение при трансплантации нервных волокон.

В результате проведенных исследований было обнаружено, что при всех сроках криосохранения происходит полное восстановление активностей волокон ЛОТ. Более того, при больших сроках криокон-

сервации (23, 90 сут) они гиперактивировались. Вероятно, что такая гиперактивация проявляется у немиелинизированных волокон группы В в составе ЛОТ. Отсутствие миелиновой оболочки этих нервных волокон индуцирует нарушение функционирования их мембран и натриевых каналов в них в процессе криоконсервации, тогда как миелиновые оболочки волокон ЛОТ группы А δ защищают мембраны и оптимизируют функции натриевых каналов в них.

Заключение

В результате проведенных исследований впервые получены данные, которые свидетельствуют, что после криоконсервации с глубиной замораживания эксплантатов мозга при температуре -20°C и медленной скорости замораживания/отогревания ($0,125^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) электрические активности глутаматергических ионотропных механизмов (АМПА и НМДА), а также проводящих волокон ЛОТ в срезах мозга негиберирующих животных (крыс) восстанавливаются. В таком протоколе криосохранения не использовались криопротекторы и применялась медленная скорость замораживания/отогревания.

Следует отметить, что воздействию длительной криоконсервации подвергались механизмы глутаматергической медиаторной системы, которая является доминирующей в мозге теплокровных. Полученные данные, как можно полагать, будут способствовать разработке биотехнологии длительной криоконсервации нервной ткани для создания криобанка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ивличева Н.А., Чистопольский И.А., Крамарова Л.И. Электрофизиологическая активность мозга моллюска *lymnaea stagnalis* после криоконсервации в жидком азоте (-196°C). *Биологические мембраны*. 2014;31(5):342–351. [Ivlicheva N.A., Chistopolsky I.A., Kramarova L.I. Elektrofizyologicheskaya aktivnost' mozga mollyuska *lymnaea stagnalis* posle kriokonservatsii v zhidkom azote (-196°C) [Electro-physiological activity of the brain of the mollusk *lymnaea stagnalis* after cryopreservation in liquid nitrogen (-196°C)]. *Biological Membranes*. 2014;31(5):342–351. (In Russian)].
2. Митюшов М.И., Емельянов Н.А., Мокрушин А.А. *Переживающий срез мозга как объект нейрофизиологического и нейрохимического исследования*. Л.: Наука, 1986. 127 с. [Mityushov M.I., Emelyanov N.A., Mokrushin A.A. *Переживающий срез мозга как объект нейрофизиологического и нейрохимического исследования*. Л.: Наука, 1986. 127 с. [Mityushov M.I., Emelyanov N.A., Mokrushin A.A. *Surviving brain slice as an object of neurophysiological and neurochemical research*. L.: Nauka, 1986. 127 p.]

- nov N.A., Mokrushin A.A. *Perezzhivayushchiy srez mozga kak ob'ekt neyrofiziologicheskogo i neyrokhimicheskogo issledovaniya [The surviving brain slices as an object of neurophysiological and neurochemical research]*. Leningrad: Nauka, 1986. 127 p. (In Russian)].
3. Мокрушин А.А., Боровиков С.Е. Установка для изучения гипотермических эффектов на переживающих срезах мозга теплокровных. *Международный журнал прикладных фундаментальных исследований*. 2017;2(2):214–217. [Mokrushin A.A., Borovikov S.E. Ustanovka dlya izucheniya gipotermicheskikh effektov na perezhivayushchikh srezakh mozga teplokovnykh [Installation for the study of hypothermic effects on surviving brain slices of warm-blooded]. *International Journal of Applied Basic Research*. 2017;2(2):214–217. (In Russian)].
 4. Пичугин Ю.И. *Теоретические и практические аспекты современной криобиологии*. М.: Медицина, 2013. С. 60–62. [Pichugin Yu.I. *Teoreticheskiye i prakticheskiye aspekty sovremennoy kriobiologii [Theoretical and practical aspects of modern cryobiology]*. Moscow: Medicine, 2013. P. 60–62. (In Russian)].
 5. Bakhach J. The cryopreservation of composite tissues: Principles and recent advancement on cryopreservation of different type of tissues. *Organogenesis*. 2009;5:119–126.
 6. Cho S., Wood A., Bowlby M.R. Brain slices as models for neurodegenerative disease and screening platforms to identify novel therapeutics. *Curr. Neuropharmacol*. 2007;5:19–33.
 7. Fang F., Zhang Z.-X. Cryopreservation of embryonic cerebral tissue of rat. *Cryobiology*. 1992;29:267–273.
 8. Mokrushin A.A., Pavlinova L.I. Hsp70 promotes synaptic transmission in brain slices damaged by contact with blood clot. *Eur. J. Pharmacol*. 2011;674:20–28.
 9. Mokrushin A.A., Pavlinova L.I., Borovikov S.E. Influence of cooling rate on activity of ionotropic glutamate receptors in brain slices at hypothermia. *J. Therm. Biol*. 2014;44:5–13.
 10. Mokrushin A.A. Effects cryopreservation of ionotropic glutamatergic receptor mechanisms *in vitro*. *Cryo-Letters*. 2015;36(6):367–377.
 11. Mokrushin A., Pavlinova L. Neurotropic and Protective Effects of L-carnosine: Studies *in vitro*. In: *Carnosine: Physiological Effects and Research Insights*. Ed. by D. Wells. New York: Nova Science Publishers, 2016. P. 113–158.
 12. Paynter S.J. Principles and practical issues for cryopreservation of nerve cells. *Brain Res. Bull*. 2008;75:1–14.
 13. Rebola N., Srikmuar B.N., Mülle C. Activity-Dependent Synaptic Plasticity of NMDA Receptors. *J. Physiol*. 2010;588:93–99.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Мокрушин Анатолий Александрович, д.б.н.,
ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН;
e-mail: mok@inbox.ru

Anatoliy A. Mokrushin, Dr. Sci. (Biol.), Pavlov
Institute of Physiology of the Russian Academy of
Sciences;
e-mail: mok@inbox.ru