

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

## **СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

### **XXVI НАУЧНОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО ФИЗИОЛОГИИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ**

---

**(26-27 октября 2022 года)**

*Текстовое электронное издание*

Москва  
Квант Медиа  
2022

УДК 612.8  
ББК 28.707.391  
С23

**Сборник тезисов XXVI научной школы-конференции  
С23 молодых ученых по физиологии высшей нервной  
деятельности и нейрофизиологии (26-27 октября 2022 г.);  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии  
РАН. – Москва: Квант Медиа, 2022. – 330 с. – Загл. с титул.  
экрана. – Текст: электронный.**

ISBN 978-5-6047449-2-5.

Традиционная научная школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии прошла в Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук в конце октября 2022 года. Молодые ученые, занимающиеся изучением нервной системы, обсудили свои самые актуальные успехи. В сборнике работ представлены результаты, отражающие основные современные тенденции в развитии экспериментальной и теоретической нейрофизиологии в России.

Публикуемые материалы будут интересны не только исследователям из разных областей науки, но и тем, кто неравнодушно следит за сферой исследований мозга и поведения.

УДК 612.8  
ББК 28.707.391

*Системные требования:  
Internet Explorer 7, 8, 9 или 10; Firefox Extended Support Release; Chrome.*

ISBN 978-5-6047449-2-5

© Коллектив авторов, 2022  
© ИВНД и НФ РАН, 2022  
© Оформление. ООО «Квант Медиа», 2022

# Содержание

Ахмиров Р. Т., Смирнов К. С., Груздева В. А., Зайченко М. И., Сысоева О. В. АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ С ФИКСИРОВАННЫМИ ИНТЕРВАЛАМИ ПОДКРЕПЛЕНИЯ НА КРЫСАХ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ИМПУЛЬСИВНОСТИ В РАМКАХ ТРАНСЛЯЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОСПРИЯТИЯ ВРЕМЕНИ.....	9
Баженов А. Ю., Баженова С. К. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕАКЦИЕЙ НА СТРЕСС И С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ.....	16
Бикбавова А. А., Морозова М. В., Клеева Д. Ф. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЭГ КОРРЕЛЯТОВ В ПРОЦЕССЕ ВОСПРИЯТИЯ ЗАПАХА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТРЕНАЖЕРА ПО ВОССТАНОВЛЕНИЮ ОБОНЯНИЯ.....	20
Бородачева Ю. В. ЗАВИСИМОСТЬ СТРАТЕГИИ ОБУЧЕНИЯ И ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАЧИ ОТ ТЕМПЕРАМЕНТА ЖИВОТНОГО .....	24
Бородин М. А., Дашиева В. Ж., Сухов И. Б., Шестакова Н. Н. ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРЕПАРАТОМ КВ-Р7943 В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ ....	30
Бурмакина М. А., Трофимова Н. А., Саульская Н. Б. АКТИВНОСТЬ СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКАДЫ NO-СИГНАЛОВ.....	36
Домнин И. А., Вальчук А. С. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА ДЛЯ САМОДИАГНОСТИКИ.....	40
Волик А. В., Аверченков Д. М. ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЛЕВАМИЗОЛ-АССОЦИИРОВАННОЙ МУЛЬТИФОКАЛЬНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ И ДРУГИХ ФОРМ ОСТРОЙ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ .....	46
Ганичева А. А., Фомина Е. В. ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗНОСТИ МОЗГА И СЕТИ ПАССИВНОЙ РАБОТЫ МОЗГА (DEFAULT MODE NETWORK, DMN) В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА.....	53

Груздева В. А., Зайченко М. И., Павлова И. В., Брошевицкая Н., Григорьян Г. А. ВЛИЯНИЕ ОВАРИЭКТОМИИ И РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОЯВЛЕНИЕ ИМПУЛЬСИВНОГО И ДЕПРЕССИВНО- ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС.....	57
Каримова Е. Д., Гуляева А. С. ВЫЗВАННАЯ СИНХРОНИЗАЦИЯ/ДЕСИНХРОНИЗАЦИЯ ЭЭГ АКТИВНОСТИ ПРИ ПЕРЕКЛЮЧЕНИИ И УДЕРЖАНИИ ВИЗУАЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВНИМАНИЯ .....	63
Джалагония И. З., Усова С. В., Гамалея А. А., Томский А. А., Седов А. С. ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ БЛЕДНОГО ШАРА У ПАЦИЕНТОВ С ДУТ1 .....	69
Дзариева Ф. М., Павлова С.А, Самойленкова Н. С., Павлова Г. В. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АПТАМЕРОВ U2 И GR-GOL1 НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА INVITRO .....	72
Дыденкова Е. А., Варламов А. А., Скороходов И. В. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ ТАКТИЛЬНОЙ ДЕФЕНЗИВНОСТИ: ОСОБЕННОСТИ ПЛАНИРОВАНИЯ ЭЭГ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОТАЦИОННОЙ ТАКТИЛЬНОЙ СИСТЕМЫ .....	76
Доминова И. Н., Головнева К. Ю., Коршунова Н. Г., Жуков В. В. БИОИНФОРМАТИЧЕСКОЕ ПРЕДСКАЗАНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА PAH В ГЕНОМЕ МОЛЛЮСКА LISSASCHATINA FULICA.....	81
Доминова И. Н., Котова В.В, Мазур В. С., Жуков В. В. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА ХИМИЧЕСКОГО ПЛЮРАЛИЗМА ЭФФЕРЕНТНОГО КОНТРОЛЯ СЕТЧАТКИ LYMNAEA STAGNALIS .....	87
Доминова И. Н., Сергеева И. А., Жуков В. В. БИОИНФОРМАТИЧЕСКОЕ ПРЕДСКАЗАНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РОДОПСИНОВ В ГЕНОМЕ МОЛЛЮСКА LISSASCHATINA FULICA.....	91
Заломаева Е. С., Медведева А. В., Журавлев А. В., Никитина Е. А. СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ И СОХРАНЕНИЮ ПАМЯТИ У ЛИНИЙ DROSOPHILA MELANOGASTER С ИЗМЕНЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА LIMK1 В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ .....	95
Захаров Н. И., Белова Е. М., Гамалея А. А., Томский А. А., Седов А. С. ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА В ОБЛАСТИ ЭФФЕКТИВНОЙ СТИМУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА.....	99

Зигмантович А. С., Машеров Е. Л., Шарова Е. В. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭЭГ- АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ПРИ ПРОСЛУШИВАНИИ СЛУХОВЫХ СТИМУЛОВ РАЗНОЙ СЛОЖНОСТИ.....	103
Игнатова П. Д., Ереско С. О., Айрапетов М. И. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА IL6 У ДЛИТЕЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС В ПЕРИОД ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ .....	110
Иджилова О. С., Смирнова Г. Р., Малышев А. Ю. ХАРАКТЕРИСТИКА КАНАЛЬНОГО РОДОПСИНА ИЗ ВОДОРОСЛИ PLATYMONAS SUBCORDIFORMIS, ЭКСПРЕССИРОВАННОГО В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА .....	113
Иерусалимский Н. В., Самотаева И. С., Каримова Е. Д. МОРФОЛОГИЯ МИНДАЛИНЫ, ТАЛАМУСА И СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ .....	119
Исаев М. Р., Бобров П. Д., Люкманов Р. Х. ИНТЕРФЕЙС МОЗГ–КОМПЬЮТЕР НА ОСНОВЕ СПЕКТРОМЕТРИИ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА В РЕАБИЛИТАЦИИ .....	124
Искалиева А. Р., Ереско С. О., Айрапетов М. И. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ PANAX JAPONICUS НА СИСТЕМУ TLR-РЕЦЕПТОРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОТМЕНЫ ДЛИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ .....	130
Калинина А. Д. ВЛИЯНИЕ ЛИЗИНСОДЕРЖАЩЕГО ТЕТРАПЕПТИДА НА МЕДЛЕННЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ НОЦИЦЕПТИВНЫХ НЕЙРОНОВ .....	134
Канцеров А. О., Окнина Л. Б., Пицхелаури Д. И., Подлепич В. В. СРЕДНИЙ МОЗГ ОСУЩЕСТВЛЯЕТ ВЫСОКОУРОВНЕВУЮ ОБРАБОТКУ СЛУХОВОЙ ИНФОРМАЦИИ ТОЛЬКО ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ ЗВУЧАНИЯ СТИМУЛА, ТОГДА КАК КОРА СПОСОБНА ОСУЩЕСТВЛЯТЬ ВЫСОКОУРОВНЕВУЮ ОБРАБОТКУ ЗВУКА УЖЕ ВО ВРЕМЯ ЗВУЧАНИЯ СТИМУЛА .....	138
Капитунова А. И., Доминова И. Н. ТРАНСКРИПЦИЯ ГЕНОВ Г-КРИСТАЛЛИНОВ В ХРУСТАЛИКЕ CYPRINUS CARPIO.....	144
Каровецкая Д. М., Медведева А. В., Никитина Е. А. ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ ЛИНИИ ДИКОГО ТИПА CANTON-S DROSOPHILA MELANOGASTER .....	149
Карчевская А. Е., Кроткова О. А., Каверина М. Ю. ОСОБЕННОСТИ ДВИЖЕНИЙ ГЛАЗ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ АСПОНТАННОСТИ .....	153

Козырева А. В., Виноградова Е. П. ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА НА ТРЕВОЖНОСТЬ У МЫШЕЙ ЛИНИИ С57BL/6 .....	159
Колесникова В. А., Павлова Г. В. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИЙ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО АПТАМЕРА И ИНДУКТОРОВ НЕЙРАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА .....	164
Колесова К.А, Смирнов К. С., Махортых А. Э., Ситникова Е. Ю. ТАКТИЛЬНАЯ БОЛЕВАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ — РАЗРАБОТКА НОВОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАРАДИГМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОСПРИЯТИЯ АВЕРЗИВНОГО МЕХАНИЧЕСКОГО СТИМУЛА У КРЫС.....	168
Корягина А. А., Недогреева О. А., Спивак Ю. С., Белецкий А. П., Большаков А. П., Дашинамаев Э. Б., Гуляева Н. В., Степанчиков М. Ю. ПОСЛЕДСТВИЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНА СНАТ В НЕЙРОНАХ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТАЛЬНОГО ЯДРА У МЫШЕЙ С57BL/6.....	173
Кострюков П. А. Комольцев И. Г., Шальнева Д. В., Франкевич С. О., Волкова А. А., Широбокова Н. И., Салып О. Ю., Башкатова Д. А., Костюнина О. В., Чижова О. А., Беликова А. А., Балан С. И., Новикова М. Р., Гуляева Н. В. КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ .....	179
Костюнина О. В., Волкова А. А., Комольцев И. Г., Широбокова Н. И., Франкевич С. О., Салып О. Ю., Башкатова Д. А., Шальнева Д. В., Кострюков П. А., Чижова О. А., Беликова А. А., Балан С. И., Новикова М. Р., Гуляева Н. В. ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ ГИППОКАМПА В ОТДАЛЁННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС .....	183
Кулева А. Ю., Болдырева Г. Н., Шарова Е. В., Галкин М. В., Кроткова О. А. ВЛИЯНИЕ РАДИОТЕРАПИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЛАТЕРАЛИЗОВАННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ МЕДИОБАЗАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ВИСОЧНОЙ ДОЛИ.....	188
Манаенков А. Е., Прохоренко Н. О., Дорохов В. Б. ВАЛИДАЦИЯ ПСИХОМОТОРНОГО ТЕСТА С МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЭПИЗОДАМИ ЗАСЫПАНИЯ И ПРОБУЖДЕНИЯ В ДОМАШНИХ УСЛОВИЯХ...	194
Митюрева Д. Г., Бобров П. Д., Ребрейкина А. Б., Сысоева О. В. ИНКЛЮЗИВНАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОЦЕДУРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ МЮ-РИТМА .....	200
Незвинский А. А., Белова Е. М., Гамалея А. А., Томский А. А., Седов А. С. ОСЦИЛЛЯЦИИ НЕЙРОНОВ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА.....	207

Неклюдова А. К., Сысоева О. В. СЛУХОВОЙ СТАЦИОНАРНЫЙ ОТВЕТ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ РАЗВИТИЯ ВОСПРИЯТИЯ РЕЧИ В ШУМЕ И РАЗЛИЧЕНИЯ ЧАСТОТ У ДЕТЕЙ .....	211
Никитина А. А., Белокоскова С. Г., Цикунов С. Г. НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ ПРИ ВВЕДЕНИИ ВАЗОПРЕССИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ БОЛИ У КРЫС .....	215
Павлова С. А., Голанов А. В., Павлова Г. В. ВЛИЯНИЕ АКТИВНО МИГРИРУЮЩИХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ОПУХОЛИ К ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ .....	222
Полтаржицкая А. Ю., Клеева Д. Ф., Дорохов В. Б., Осадчий А.Е. МЭГ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ МЕЖПРИСТУПНЫХ РАЗРЯДОВ И К-КОМПЛЕКСОВ У ПАЦИЕНТА С ЭПИЛЕПСИЕЙ ВО ВРЕМЯ ДНЕВНОГО СНА.....	226
Паршина В. В., Шамадыкова Д.В, Колесникова В. А., Ревещин А. В., Фаб Л. В., Павлова Г. В. СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ SHGDNF-1 И GDNFB КУЛЬТУРЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА, РАЗДЕЛЕННОЙ НА CD133 И L1CAM БОГАТЫЕ И CD133 И L1CAM ОБЕДНЕННЫЕ ПОПУЛЯЦИИ .....	231
Поляниченко А. А., Счастливецва Д. В. ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ. ....	234
Пронина В. М., Подвигина Д. Н. ОНЛАЙН- И ОФФЛАЙН-ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ: ЕСТЬ ЛИ РАЗНИЦА? .....	241
Пупикина М. Е., Ситникова Е.Ю. МЕТОД ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОВОКАЦИИ» ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА У КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА АЛЬФА-2 АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ.....	245
Ребик А. А., Рига В. Д., Смирнов К. С., Сысоева О. В., Мидзяновская И. С. ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО- МОЛОДКИНОЙ В ТЕСТАХ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ.....	251
Рига В. Д., Ребик А. А., Смирнов К. С., Сысоева О. В., Мидзяновская И. С. УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ВОКАЛИЗАЦИЯ КАК МАРКЕР НАРУШЕНИЙ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У КРЫС .....	257
Ромшин А. М., Осипов А. А., Попова И. Ю., Цееб В. Э., Власов И. И. ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ПРОФИЛЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА МЫШЕЙ: ПРЯМОЕ ИЗМЕРЕНИЕ АЛМАЗНЫМ МИКРОТЕРМОМЕТРОМ .....	262
Рощина М. А., Рощин М. В., Бородинова А. А., Асеев Н. А., Балабан П. М. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ПОЛЯ CA1 ГИППОКАМПА ВО ВРЕМЯ ФОРМИРОВАНИЯ И РЕАКТИВАЦИИ АВЕРСИВНОЙ ПАМЯТИ У МЫШЕЙ INVIVO .....	267

Сайфулина К. Э., Филюшкина В. И., Белова Е. М., Томский А. А., Гамалея А. А., Седов А. С. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ НИЗКО- И ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ БЕТА- АКТИВНОСТИ В СУБТАЛАМИЧЕСКОМ ЯДРЕ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА..	272
Саликова Д. А., Шестопалова Л. Б., Петропавловская Е. А. СЛУХОВОЕ ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ В КОНТЕКСТЕ МОДЕЛЕЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЗВУКОВЫХ СТИМУЛОВ .....	276
Симон Ю. А., Дмитриева Е. С., Александров А. Ю. СЕНСОРНЫЙ ГЕЙТИНГ У МЫШЕЙ НОКАУТНЫХ ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРА СЛЕДОВЫХ АМИНОВ ПЕРВОГО ТИПА (TAAR1).....	281
Смирнов И. В., Малышев А. Ю. СТИМУЛЯЦИЯ ЕДИНИЧНЫХ НЕЙРОНОВ ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ МЫШИ ПРИВОДИТ К ИЗМЕНЕНИЮ ХАРАКТЕРИСТИК СЕНСОРНЫХ ОТВЕТОВ НЕЙРОНОВ .....	286
Филюшкина В. И., Белова Е. М., Усова С.В., Томский А. А., Седов А. С. ЗАТУХАНИЕ НЕЙРОННЫХ РЕАКЦИЙ В СУБТАЛАМИЧЕСКОМ ЯДРЕ ВО ВРЕМЯ САМОИНИЦИИРУЕМЫХ ДВИЖЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА.....	290
Харламова А. С., Прощина А. Е., Отлыга Д. А., Дремин Е. М., Савельев С. В. КОНЦЕПЦИЯ ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ СБОРА И ОБРАБОТКИ ДАННЫХ О РАЗВИТИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА НА ПРЕНАТАЛЬНОМ ЭТАПЕ ОНТОГЕНЕЗА .....	296
Шальнева Д. В., Комольцев И. Г., Франкевич С. О., Волкова А. А., Широбокова Н. И., Салып О. Ю., Башкатова Д. А., Костюнина О. В., Чижова О. А., Кострюков П. А., Беликова А. А., Балан С. И., Новикова М. Р., Гуляева Н. В. НАРУШЕНИЯ ПАМЯТИ В ОСТРОМ И ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС.....	301
Шамаева С. А., Ереско С. О., Айрапетов М. И. УЧАСТИЕ МИКРО-РНК В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ.....	308
Шамсиев И. Д., Крайнев В. Д., Жиганов Л. С., БородачеваЮ. В. ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ БАЗОЛАТЕРАЛЬНОЙ МИНДАЛИНЫ КРОЛИКА ПРИ ПРЕДЪЯВЛЕНИИ ЗООСОЦИАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ .....	311
Швадченко А. М., Баль Н. В., Иерусалимский В. Н. ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА IGFBR2 В КОРЕ МОЗГА ГРЫЗУНОВ .....	318
Яковлев А. Н., Грицкова А. В., Ублинский М. В., Манжурцев А. В., Меньшиков П. Е., Ахадов Т. А., Семенова Н. А. ИЗМЕРЕНИЕ КИНЕТИКИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ОСНОВНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ОТВЕТ НА КОРОТКИЙ ЗРИТЕЛЬНЫЙ СТИМУЛ ПРИ ПОМОЩИ ПРОТОННОЙ МРС .....	322



# **АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ С ФИКСИРОВАННЫМИ ИНТЕРВАЛАМИ ПОДКРЕПЛЕНИЯ НА КРЫСАХ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ИМПУЛЬСИВНОСТИ В РАМКАХ ТРАНСЛЯЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОСПРИЯТИЯ ВРЕМЕНИ**

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-9-15

**Ахмиров Р. Т., Смирнов К. С., Груздева В. А.,  
Зайченко М. И., Сысоева О. В.**

Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН,  
Москва, ул. Бутлерова, 5 А  
*e-mail: akhmir5000@gmail.com*

**Аннотация:** Изучение восприятия времени является перспективной областью исследования, так как данная модальность включает в себя множество механизмов регуляции, а их понимание позволит прояснить природу таких аспектов высшей нервной деятельности как внимание, память и принятие решений. В исследовании предложены две парадигмы для изучения импульсивности и чувства времени на крысах, что в дальнейшем будет использовано для определения параметров нейронной активности, которые характерны для серотонинергической модуляции оценки временных интервалов. В данной работе показаны предварительные данные, свидетельствующие о применимости и функциональности используемых методов в изучении восприятия времени на крысах.

**Ключевые слова:** импульсивность, фиксированный интервал подкрепления.

## **Введение.**

На поведенческом уровне восприятие времени значительно влияет на принятие решений, а импульсивность является ключевой психофизиологической метрикой, отражающей внутреннее ощущение течения времени [1]. Нарушения восприятия времени могут приводить к повышенной импульсивности и рассогласованию внимания — данные черты являются характерными для многих психических расстройств, таких как: синдром дефицита внимания и гиперактивности, биполярное расстройство, пограничное рас-

стройство личности, наркотическая зависимость и депрессивные расстройства [2]. Известно, что механизм обработки временной информации включает в себя множество структур коры, лимбической системы, мозжечка и стриатума [3], а также задействует различные нейромедиаторные системы. В частности, было показано, что серотониновая регуляция играет ключевое значение в скорости течения субъективного времени, что влияет на восприятие коротких временных интервалов в диапазоне 0,5—30 секунд [4, 5]. Таким образом исследование механизмов влияния серотонинергической системы на чувство времени и поведение является перспективной областью исследования.

Поведение живых систем можно представить, как вероятностный процесс перехода к определенной реакции. С этой точки зрения распределение случайных величин всегда отражается в разбросе поведенческих реакций, что основывается на разнице в особенностях нервной системы. Ключевым аспектом адаптации является способность натренировать и сформировать окна реализации поведения в ответ на внешние и внутренние раздражители. Во время обучения окно возможных поведенческих реакций и скорость их наступления сужаются. Выбор правильного временного интервала для реализации поведения является основанием предсказательной способности. Смещения этого окна в сторону преждевременных или запоздалых поведенческих реакций является коррелятом устройства нейронных групп. Данное исследование проведено в рамках трансляционного исследования восприятия времени и связанных с ним форм поведения.

Нами были последовательно проведены две поведенческие парадигмы на крысах, в которых была зафиксирована динамика активности животных. На первом этапе для определения уровня импульсивности на крысах проводили тест предпочтения отложенной награды (Delay discounting), после чего животных использовали в эксперименте с фиксированным интервалом подкрепления (Fixed interval).

### **Методика.**

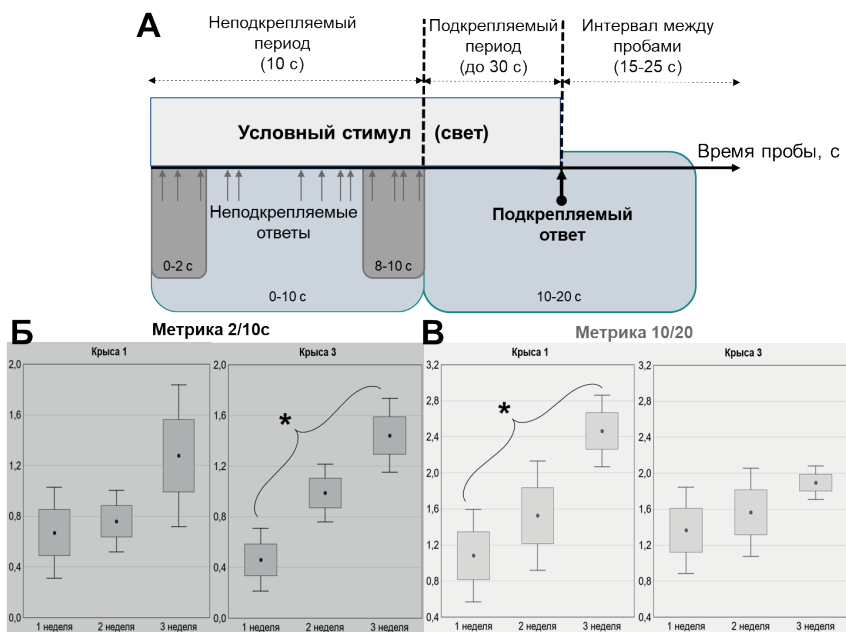
В опытах было использовано 19 самцов крыс линии Вистар. Во время проведения экспериментов предпочтения отсроченной награды (delay discounting) крысам ограничивали доступ к пище так, чтобы их вес поддерживался на уровне 85 % от их веса при свободном доступе к пище. Крыс в возрасте 6 мес начинали обучать нажимать на педаль для получения пищевого подкрепления

–стандартной пелеты (dustless precision pellets) 45 мг производства фирмы “BioServ” (США). Обучение проводилось до тех пор, пока крыса с равной вероятностью не нажимала на каждую из педалей. Во время экспериментальной сессии нажатие на одну из педалей мгновенно предоставляло 1 пелету, тогда как нажатие на другую — 4 пелеты, но с задержкой в 5 с. Во время ежедневной экспериментальной сессии проводили 25 проб. Регистрировали число нажатий на обе педали ( $k_1$  — число нажатий на педаль, предоставляющую малое-мгновенное подкрепление,  $k_2$  — число нажатий на педаль для получения большего-задержанного подкрепления). Рассчитывали долю задержанных реакций ( $K$ ), как отношение число нажатий  $k_2$  к общему числу нажатий:

$K = k_2 / (k_1 + k_2)$ , где 1—100 % выбор задержанного подкрепления, а 0—100 % выбор малоценного немедленного. При обработке результатов использовали программу STATISTICA 10.0.

Для апробации парадигмы с фиксированным интервалом подкрепления (fixed interval schedule) отобрали 4 крысы из предыдущего опыта. Эксперимент проводили в “Five choice chamber” (MazeEngineers, US). Для проведения эксперимента, была разработана программа для установления временных интервалов в экспериментальном протоколе, а также сбора информации о времени и количестве ответов. Экспериментальная сессия состояла из 30 проб. В течение первых двух дней проходила адаптация к установке. При этом крыса помещалась в экспериментальную установку, после чего запускался протокол обучения. Каждая проба начиналась с включения света в установке. Пищевое подкрепление давалось в случае, если в качестве ответа крыса тыкалась носом в окно подкрепления во время попытки, либо по истечению 30 секунд с момента зажигания света. В конце попытки выключался свет и начинался 30 секундный интервал между пробами. Адаптацию проводили до тех пор, пока крыса не набирала больше 80 % подкрепленных попыток, после чего крысу использовали в последующем эксперименте с фиксированным интервалом подкрепления. Парадигма проводилась по стандартной методике [6]. Крысы проходили по 30 попыток за одну экспериментальную сессию 5 дней в неделю. Проба начинается с 10 секундного неподкрепляемого интервала и включения света в установке. Спустя первые 10 с наступает период длительностью 30 с, в течение которого первый ответ приводит к завершению попытки, выключению света и выпадению пелеты, после чего начинается интервал между пробами длительностью 15—25 с. В случае от-

сутствия подкрепляемого ответа проба завершается без выпадения пелеты (Рисунок 1 А). При обработке результатов экспериментальные сессии для каждой крысы группировали по неделям. Было посчитано общее количество ответов для каждых двух секунд пробы внутри каждой недели. Для статистической обработки рассчитывали критерий Фридмана в программе STATISTICA 10.0. В качестве метрики импульсивности сравнивали отношение количества ответов между первыми и последними двумя секундами неподкрепляемого ответа (Метрика 2/10с) и между количеством ответов между первыми и последующими 10 с (Метрика 10/20с).



**Рис 1.** А — схема экспериментальной пробы с фиксированными интервалами подкрепления; Б — сравнение метрики 2/10с для крысы 1 и 3 по трем неделям; В — сравнение метрики 10/20с для крысы 1 и 3 по трем неделям.

## Результаты.

Для определения уровня импульсивности крысы проходили тест на предпочтение отсроченной награды (delay discounting), при этом подсчитывалось количество выбранных малых-мгновенных

и больших-отсроченных подкреплений. Отношение отложенных подкреплений к общему количеству подкреплений ( $K$ ) использовалось в качестве метрики импульсивности. При этом крысу относили к импульсивной в случае, если  $K < 0,4$ , к не импульсивной, если  $K > 0,6$ , а оставшиеся животные в диапазоне  $0,4 < K < 0,6$  не проявляли предпочтения немедленного или задержанного подкрепления. В результате анализа данных, полученных в тесте на предпочтение отсроченной награды две крысы номер 1 и номер 2 были определены как импульсивные ( $K = 0,31$  и  $K = 0,1$ ), в то время как крысы номер 3 и номер 4 не показали предпочтения к немедленному или задержанному подкреплению ( $K = 0,48$  и  $K = 0,44$ ).

Четыре указанные крысы были выбраны для пилотного эксперимента с фиксированными интервалами подкрепления. Для каждого животного было собрано 15 записей из каждой сессии, которые были разделены на три недели. По каждой неделе были построены диаграммы суммарного количества ответов для каждых 2 с пробы. Для сравнения общей точности реагирования и отсутствия неспецифичных к условному сигналу ответов нами было проведено сравнение их количества в первые и последующие 10 с для каждой экспериментальной сессии (Метрика 10/20с. Рисунок 1.В). В результате статистической обработки было показано, что количество ответов достоверно отличается в первую и последующую недели для импульсивной группы (крысы 1 и 2,  $p = 0,015$  и  $p = 0,02237$  соответственно), в то время как для неимпульсивной группы достоверных отличий не было найдено (крысы 3 и 4,  $p = 0,44933$  и  $p = 0,2466$  соответственно). Полученные результаты можно интерпретировать как то, что к третьей неделе крысы импульсивной группы усваивают связь условленного сигнала с возможностью получить подкрепление и уменьшают количество ответов в отсутствии условного сигнала. Отсутствие эффекта для неимпульсивной группы можно объяснить тем, что у данной группы активность в первые 10 с ниже, чем у импульсивной, так что на данной группе не наблюдается достоверного снижения активности в последующие 10 с из-за умеренной активности в первые 10 с.

Также для определения динамики нарастающей активности было проведено сравнение отношений активности в первые и последние 2 с неподкрепляемого периода (Метрика 2/10 с. Рисунок 1.Б). В результате статистической обработки было показано, что количество ответов достоверно отличается лишь для крысы номер 3 ( $p = 0,01500$ ), в то время как для крыс номер 1, 2 и 4 достоверных

отличий обнаружено не было ( $p = 0,54881$ ,  $p = 0,33112$  и  $p = 0,09072$ ). Стоит отметить, что крыса номер 3 является самой не импульсивной из данной выборки ( $K = 0,48$ ), а спустя три недели увеличилось количество ответов, смещенное к десятой секунде пробы, после которой появляется возможность получить подкрепление. Увеличение количества выборки и включение животных с пониженной импульсивностью ( $K > 6$ ) в перспективе позволит выявить взаимосвязь между данной метрикой и уровнем импульсивности.

### **Выводы.**

Проведена серия экспериментов, позволяющая определить уровень импульсивности и динамику активности крыс в эксперименте с фиксированными интервалами. В то время как основная часть работ с использованием эксперимента с фиксированными интервалами анализирует пиковую скорость и угасание ответов внутри пробы, нами был проведен сравнительный анализ внутри длительности проб, что позволяет оценить стабильность полученной активности с течением времени и адаптации к экспериментальным условиям. Предложенный анализ метрики 10/20 с позволил достоверно разделить отношение активности между тремя неделями для импульсивной и неимпульсивной группы, в то время как метрика 2/10 с показала достоверное различие активности между тремя неделями для животного с наименьшим показателем импульсивности. На данном этапе было использовано ограниченное количество животных, однако в дальнейшем вся когорта, прошедшая тест на предпочтение отсроченной награды, будет использована в тесте с фиксированными интервалами подкрепления, а также в вариации этого теста с пробами без подкрепления (Peak Interval), что позволит проследить угасание моторных ответов отдельно взятых пробах. Дальнейшее применение фармакологических препаратов селективных к рецепторам серотонинергической системы позволит выявить в наибольшей степени модулируемые параметры нейронной активности.

### **Список литературы:**

1. M. Wittmann and M. P. Paulus, "Decision making, impulsivity and time perception," *Trends CognSci*, vol. 12, no. 1, pp. 7–12, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.tics.2007.10.004.
2. C. A. Winstanley, "The utility of rat models of impulsivity in developing pharmacotherapies for impulse control disorders," *Br J Pharm*

- macol, vol. 164, pp. 1301—1321, 2011, doi: 10.1111/bph.2011.164.issue-4.
3. A. Toso, S. Reinartz, F. Pulecchi, and M.E. Diamond, “Time coding in rat dorsolateral striatum,” *Neuron*, vol. 109, no. 22, pp. 3663—3673.e6, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.neuron.2021.08.020.
  4. M. Wittmann et al., “Effects of psilocybin on time perception and temporal control of behaviour in humans,” *Journal of Psychopharmacology*, vol. 21, no. 1, pp. 50—64, Jan. 2007, doi: 10.1177/0269881106065859.
  5. O.v. Sysoeva, A.G. Tonevitsky, and J. Wackermann, “Genetic determinants of time perception mediated by the serotonergic system,” *PLoSOne*, vol. 5, no. 9, pp. 1—7, 2010, doi: 10.1371/journal.pone.0012650.
  6. F. Balci and D. Freestone, “The Peak Interval Procedure in Rodents: A Tool for Studying the Neurobiological Basis of Interval Timing and Its Alterations in Models of Human Disease,” *Bio Protoc*, vol. 10, no. 17, 2020, doi: 10.21769/bioprotoc.3735.

## PILOT FIXED INTERVAL SCHEDULE ON RATS WITH DIFFERENT LEVELS OF IMPULSIVITY AS PART OF A TRANSLATIONAL STUDY OF TIME PERCEPTION

Akhmirov R. T., Smirnov K. S., Gruzdeva V. A.,  
Zaichenko M. I., Sysoeva O. V.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation

**Abstract:** The study of time perception is a promising area of research, since this modality involves many mechanisms of regulation, and their understanding will allow to clarify the nature of such aspects of higher nervous activity as attention, memory and decision-making. The study proposes two paradigms for studying impulsivity and time perception in rats, which will be used in the future to determine the parameters of neural activity that are characteristic of serotonergic modulation of time interval assessment. This paper shows preliminary data showing the applicability and functionality of the methods used in the study of time perception in rats.

**Keywords:** impulsivity, fixed interval schedule

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕАКЦИЕЙ НА СТРЕСС И С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-16-19

**Баженов А. Ю.<sup>1</sup>, Баженова С. К.<sup>1,2</sup>**

1 Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

2 Лаборатория функциональной биохимии нервной системы, Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, ул. Бутлерова, 5 А

*e-mail: anton2311@icloud.com*

**Аннотация:** Стресс в раннем онтогенезе может приводить к развитию психоневрологических заболеваний в более старшем возрасте. Целью работы было изучить влияние неонатального провоспалительного стресса (НПС) на экспрессию генов, связанных со стресс-реакцией и с нейровоспалением, в отставленные сроки. В предположении, что дополнительное стрессорное воздействие необходимо для проявления нарушений, экспрессию оценивали у крыс, подвергнутых батарее поведенческих тестов, и у интактных. Оценку экспрессии мРНК проводили при помощи обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР «в реальном времени». Было показано, что НПС приводит к снижению экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов в вентральной части гиппокампа в подростковом возрасте, что может указывать на измененное функционирование микроглии. НПС приводил к снижению экспрессии мРНК глюкокортикоидных рецепторов в дорсальном гиппокампе крыс возраста 3 месяца. При этом поведенческий стресс не влиял на эффекты НПС. Таким образом, что НПС приводит к изменениям функционирования ЦНС в значительно отставленные сроки.

**Ключевые слова:** стресс, онтогенез, гиппокамп, микроглия, ПЦР.

Стресс в раннем онтогенезе является одной из причин развития психоневрологических заболеваний в более старшем возрасте. Стрессорное воздействие в критический период развития гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси может приводить к нарушению системы рецепции кортикостероидов — минерал- и глюкокортикоидов, участвующих в регуляции гомеостаза при стресс-реакции [1]. В связи с этим, реакция на стресс во взрослом возрасте изменяется,



возникает предрасположенность организма к стрессогенным заболеваниям. В дополнение к этому, повышенный уровень кортикостероидов в раннем онтогенезе может повлиять на созревание резидентных макрофагов центральной нервной системы — микроглию. Так называемое, праймирование микроглии кортикостероидами приводит к изменению ее реакции на провоспалительные стимулы, что может повлиять на формирование нейрональных связей в отставленный от стрессирующего воздействия период. Маркером нарушения нейрон-микроглиальной коммуникации может служить изменение экспрессии хемокина семейства фракталкина и/или его рецептора. При развитии провоспалительного ответа микроглия активируется и экспрессирует цитокины IL-1 $\beta$  и CCL2, которые можно использовать в качестве маркеров нейровоспаления [2]. Целью исследования было изучить влияние неонатального провоспалительного воздействия (НПС) на экспрессию мРНК генов, связанных с реакцией на стресс и с состоянием микроглии, в гиппокампе крыс в отставленные сроки, а именно в подростковом и взрослом возрастах.

В работе использовали самцов крыс линии Вистар возраста 1 и 3 месяца. Стрессом в раннем онтогенезе служила инъекция бактериального липополисахарида (ЛПС, 50 мкг/кг, подкожно) на 3 и 5 постнатальные дни. Контрольная группа получала инъекцию эквивалентного объема физ. раствора. Размеры пометов составляли 8—10 крысят, весь помет получал либо ЛПС, либо физ. раствор. Часть животных в возрасте 1 месяц и часть животных в возрасте 3 месяца подвергали батарее поведенческих тестов (открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, вынужденное плавание), служившей умеренным стрессом в подростковом и взрослом возрастах. Через полчаса после второго предъявления вынужденного плавания животных забивали. Животных, не участвовавших в поведенческих тестах, забивали в то же время суток. Крыс усыпляли сублетальной дозой хлоралгидрата, после чего проводили перфузию физ. раствором, декапитуировали и извлекали мозг. На холоде иссекали гиппокамп и делили его на дорсальный и вентральный отделы, после чего замораживали в жидком азоте. Оценку экспрессии целевых генов проводили путем оценки относительной представленности мРНК при помощи обратной транскрипции с последующей количественной полимеразной цепной реакцией «в реальном времени» относительно нормировочных генов *Hprt* и *Ywhaz*. Проводили оценку экспрессии генов минерал- и глюкокортикоидных рецепторов (*Nr3c2* и *Nr3c1* соответственно), фракталкина (*Cx3cl1*)

и его рецептора (Cx3cr1) и провоспалительных цитокинов  $\text{Il-1}\beta$  и  $\text{Ccl2}$  в дорсальной и вентральной частях гиппокампа. Полученные данные проверяли на соответствие нормальному распределению (критерий Шапиро-Уилка) и на равенство дисперсий между группами (критерий Левена). В случае, если распределение данных удовлетворяло этим критериям, проводили двухфакторный дисперсионный анализ, в противном случае проводили сравнение между группами с использованием критерия Манна-Уитни и с учетом поправки Бенджамини-Хохберга на множественные сравнения.

Для возраста 1 месяц было показано влияние фактора «неонатальный провоспалительный стресс» (НПС) на экспрессию мРНК  $\text{Ccl2}$  в вентральном отделе гиппокампа ( $p=0.026$ , критерий Манна-Уитни, сравнение групп животных, не подвергавшихся батарею поведенческих тестов) и на экспрессию мРНК  $\text{Il-1}\beta$  в вентральном гиппокампе ( $p=0.0006$ , критерий Манна-Уитни, сравнение групп животных, подвергавшихся батарею поведенческих тестов). Как экспрессия  $\text{Ccl2}$ , так и экспрессия  $\text{Il-1}\beta$  снижались по сравнению с уровнем в контрольной группе через месяц после НПС. Поведенческий стресс в возрасте 1 месяц приводил к повышению экспрессии мРНК минералкоидных рецепторов в дорсальной части гиппокампа ( $p=0.049$ , двухфакторный дисперсионный анализ), независимо от неонатального провоспалительного стресса. Влияния взаимодействия факторов «НПС» и «батарея поведенческих тестов» на экспрессию исследуемых генов обнаружено не было.

Для возраста 3 месяца было выявлено влияние фактора «НПС» на экспрессию мРНК глюкокортикоидных рецепторов в дорсальной части гиппокампа ( $p=0.048$ , двухфакторный дисперсионный анализ), которое наблюдалось независимо от наличия стресса во взрослом возрасте. Экспрессия мРНК гена  $\text{Nr3c1}$  была снижена у крыс, подвергнутых НПС. Других эффектов НПС, поведенческого стресса во взрослом возрасте или взаимодействия этих факторов на экспрессию мРНК целевых генов в гиппокампе взрослых крыс выявлено не было.

Таким образом, было показано, что даже спустя почти месяц после неонатального провоспалительного воздействия в вентральном гиппокампе можно наблюдать изменение экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов, что может указывать на измененное функционирование микроглии. Через 3 месяца после НПС наблюдали изменение экспрессии мРНК генов глюкокортикоидных рецепторов в дорсальном гиппокампе, что может свидетельство-

вать о длительном изменении функционирования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [3]. Оба этих факта показывают, что НПС приводит к изменениям функционирования ЦНС в значительно отставленные сроки. Полученные данные необходимы для понимания механизмов патогенеза психоневрологических заболеваний, ассоциированных со стрессом в раннем онтогенезе.

#### **Список литературы:**

1. S. D. Bilbo, J. M. Schwarz, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 33 (2012).
2. P. Ganguly, H. C. Brenhouse, *Developmental Cognitive Neuroscience*, 11 (2015).
3. R. M. Sapolsky, *Developmental Brain Research*, 18 (1985).

## **THE EFFECT OF STRESS IN EARLY ONTOGENESIS ON THE EXPRESSION OF GENES ASSOCIATED WITH STRESS RESPONSE AND NEUROINFLAMMATION**

**Bazhenov A.Yu.<sup>1</sup>, Bazhenova S. K.<sup>1,2</sup>**

1 Lomonosov Moscow State University

2 Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Butlerova str., 5A

**Abstract:** Stress in early ontogenesis may lead to the development of psychiatric disorders in adults. The aim of the work was to study the effect of neonatal proinflammatory stress (NPS) on the expression of genes associated with the stress reaction and neuroinflammation in the delayed time points. Assuming that additional stress exposure in adults may be necessary for the manifestation of NPS induced disorders, mRNA expression was evaluated in rats subjected to a behavioral stress in comparison with intact ones. mRNA expression was evaluated using reverse transcription followed by quantitative real-time PCR. It has been shown that NPS leads to a decrease in the expression of proinflammatory cytokines mRNA in the ventral hippocampus in adolescence rats, which may be attributed to an altered functioning of microglia. NPS also led to a decrease in the expression of glucocorticoid receptor mRNA in the dorsal hippocampus of adult rats. At the same time, behavioral stress did not influence on the effects of NPS. Thus, the NPS leads to changes in the functioning of the central nervous system in significantly delayed time points.

**Keywords:** stress, ontogenesis, hippocampus, microglia, PCR.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЭГ КОРРЕЛЯТОВ В ПРОЦЕССЕ ВОСПРИЯТИЯ ЗАПАХА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТРЕНАЖЕРА ПО ВОССТАНОВЛЕНИЮ ОБОНЯНИЯ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-20-23

Бикбавова А. А.<sup>1</sup>, Морозова М. В.<sup>1</sup>, Клеева Д. Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сколковский институт науки и технологий

<sup>2</sup> НИУ ВШЭ, Москва Россия

*E-mail:* A. Bikbavova@skoltech.ru

**Аннотация:** Показатели превалентности нарушений обоняния достигают высоких значений (от 20 до 40 %), а после пандемии COVID-19 вопрос восстановления обоняния встал крайне остро. Известно, что нарушение в восприятии запахов может негативно сказаться на качестве жизни человека. Изучение ЭЭГ-коррелятов в процессе восприятия запаха позволит объективно подойти к оценке обонятельной способности пациента, а также может послужить основой для разработки нейроинтерфейса мозг-компьютер (ИМК) в целях восстановления данной способности. В данной работе мы демонстрируем результаты анализа ЭЭГ у здоровых пациентов, выполняющих различные обонятельные задачи.

**Ключевые слова:** ЭЭГ; ИМК; обонятельные тренировки

## **Введение.**

О возможности тренировки обонятельной функции может свидетельствовать пластичность структур мозга, отвечающих за обработку обонятельной информации. Известно, что значимым коррелятом обонятельной дисфункции является объем обонятельной луковицы (ОЛ) [1]. На данный момент одна из наиболее популярных методик восстановления чувствительности — обонятельная тренировка (ОТ). Ее широкая распространенность связана с простотой проведения процедуры. ОТ производится следующим образом: на протяжении 12 недель участники дважды в сутки должны вдыхать эфирные масла с четырьмя запахами. Наблюдаются следующие недостатки ОТ: монотонность процесса и невозможность регулировать характеристики запаха. Поиск значимых нейрофи-

физиологических коррелятов позволит разработать нейротренажер, решающий данные проблемы. Так, возможна адаптация запаха в зависимости от показателей ЭЭГ. Однако обработка потенциалов, связанных с хемосенсорными событиями, имеет ряд сложностей из-за небольшого отношения сигнал/шум. В работе Schriever et al. (2017) [2], авторы проанализировали индуцированные изменения мощности ЭЭГ через 200—2000 мс после появления аромата в диапазоне частот от 2 до 6 Гц и обнаружили, что эти изменения обладают высокой прогностической способностью для определения людей с нарушением обоняния от здоровых людей. Конкретная частотно-временная область была выбрана в соответствии с предыдущими исследованиями [3], в которых были проанализированы связанные с хемосенсорными событиями потенциалы при стимуляции тройничного и обонятельного нервов.

Важно отметить, что в большинстве существующих обонятельных исследований датчики дыхания не использовались. До сих пор нет четкого понимания изменений ЭЭГ на протяжении всего дыхательного цикла несмотря на то, что было показано, что вдыхание вызывает изменения в функциональной связности мозга (Perl et al., 2019) [4].

В данной работе мы занимаемся поиском значимых ЭЭГ коррелятов и с учетом дыхательного цикла в процессе выполнения обонятельных испытаний. Мы предполагаем, что полученные результаты будут полезны при оценке обонятельной функции и дальнейшей разработке ИМК.

### **Методика.**

В эксперименте приняло участие 13 здоровых добровольцев. Участники выполняли две основные задачи. Первая — дыхание по команде компьютера, включающее 100 проб, в половине из которых распылялся один из 6 ароматов, а в другой половине стимуляция не осуществлялась («пустая» проба). Второе задание — «Матрица». Оно включает в себя попарную подачу запахов. Задача участников — определить, одинаковые ли запахи были поданы или нет. Подачу запахов можно представить как матрицу 6\*6, основная диагональ которой будет соответствовать распылению двух одинаковых запахов. При этом количество проб с одинаковыми запахами и разными одинаково. В процессе выполнения заданий у испытуемых производилась регистрация ЭЭГ и измерение показателей с датчика дыхания, которые реагирует на температуру воздушного потока.

## Результаты.

Выделенные нормализованные эпохи подверглись частотно-временному анализу. Тест статистической перестановки кластерного уровня с односторонним ANOVA в качестве тестовой статистики был применен для сравнения частотно-временных карт: 1) в пробах с запахом и без запаха, 2) в эпохах при первой и второй подаче аромата в упражнении «Матрица». Мы обнаружили значительное увеличение активности тета-диапазона в периоды “аромата” по сравнению с периодами “пустоты” в лобной области мозга от 1,5 до 2,5 секунд после начала вдоха, что в среднем было пиком вдоха. Мы рассчитали среднюю мощность в кластере тета-диапазона для каждой эпохи и обнаружили статистически значимую разницу в средней тета-мощности между эпохами “пустоты” и “аромата” (независимая статистика t-теста =  $-8,07$ ,  $p = 1,56e-15$ ). С увеличением тета-мощности в кластере в среднем на 10,5 % в эпохи “аромата”. Мы также обнаружили небольшую, но статистически значимую корреляцию между точностью в матричном упражнении и средней тета-мощностью в случайном упражнении ( $r$ -Пирсона =  $0,108$ ,  $p = 7,45e-05$ ).

## Заключение.

Корреляции тета-мощности, во-первых, с наличием/отсутствием аромата и, во-вторых, с когнитивной нагрузкой дают возможность использовать тета-мощность в качестве объективной метрики на основе ЭЭГ для модели машинного обучения, используемой в ИМК. Модель может быть скорректирована таким образом, чтобы дать объективный балл для оценки порога восприятия запаха и уровня сосредоточенности на обонятельной задаче.

## Список литературы:

1. Buschhüter D. et al. Correlation between olfactory bulb volume and olfactory function//Neuroimage. — 2008. — Т. 42. — №. 2. — С. 498—502.
2. Schriever V.A. et al. Time frequency analysis of olfactory induced EEG-power change//PloS one. — 2017. — Т. 12. — №. 10. — С. e0185596. doi: 10.1371/journal.pone.0185596.
3. Huart C. et al. Time-frequency analysis of chemosensory event-related potentials to characterize the cortical representation of odors in humans//PLoS One. — 2012. — Т. 7. — №. 3. — С. e33221. doi: 10.1371/journal.pone.0033221.
4. Perl O. et al. Human non-olfactory cognition phase-locked with inhalation//Nature human behaviour. — 2019. — Т. 3. — №. 5. — С. 501—512. doi: 10.1038/s41562—019—0556-z.

# THE STUDY OF EEG CORRELATES IN SMELL PERCEPTION FOR THE DEVELOPMENT OF THE SMELL RESTORATION SYSTEM

**Bikbavova A. A.<sup>1</sup>, Morozova M. V.<sup>1</sup>, Kleeva D.F.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

**Abstract:** The prevalence rates of olfactory disorders reach high values (from 20 to 40%), and after the COVID-19 pandemic, the issue of restoring the sense of smell became extremely acute. It is known that a violation in the perception of odors can negatively affect the quality of human life. The study of EEG correlates in the process of smell perception will allow an objective approach to the assessment of the patient's olfactory ability, and can also serve as a basis for the development of a Brain-Computer Interface (BCI) in order to restore this ability. In this paper, we demonstrate the results of EEG analysis in healthy patients performing various olfactory tasks.

**Keywords:** EEG; BCI; olfactory training

# ЗАВИСИМОСТЬ СТРАТЕГИИ ОБУЧЕНИЯ И ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАЧИ ОТ ТЕМПЕРАМЕНТА ЖИВОТНОГО

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-24-29

**Бородачева Ю. В.** <sup>1,2</sup>

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

2 Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

*e-mail: uliaborodaceva429@gmail.com*

**Аннотация:** В работе было изучено влияние темперамента на обучение и выполнение стоящей перед животным экспериментальной задачи. Темперамент кроликов оценивался тестированием на исследовательскую деятельность и методом субъективной оценки животного исследователем-экспериментатором. После указанных тестов у кроликов методом поэтапного обучения вырабатывался инструментальный условный рефлекс. Нами были выделены активная и пассивная стратегии, применяемые кроликами в процессе обучения и базирующиеся на их темпераменте. Была выявлена особенность работы активных животных в условиях задачи, состоящая в увеличении частоты непродуктивных моторных реакций.

**Ключевые слова:** темперамент, научение, оперантное поведение

## **Введение.**

Темперамент можно определить как отдельный поведенческий фенотип, существующий у многих видов животных и демонстрирующий индивидуальные различия, которые проявляются последовательно во времени или в разных контекстах [2].

В последнее время все большее число исследований показывает существование отдельных поведенческих фенотипов у животных разных видов [2]. Изучение влияния темперамента крайне важно в современной науке, так как при проведении экспериментов по обучению или оценке когнитивных способностей животных необходимо учитывать индивидуальные особенности, которые могут оказывать влияние на анализируемые показатели [3]. Отдельно стоит необходимость изучения изменений индивидуальных особенностей в задачах с разным контекстом и сопоставлении этих изменений с индивидуальными особенностями, выявленными у необу-



ченных животных, что необходимо для более точного определения темперамента.

### **Методика.**

Эксперимент проводился на кроликах породы Советская шиншилла. Все животные — половозрелые самцы массой 4—5 кг (5 животных). За неделю до начала и в течение всего обучения все животные были подвергнуты пищевой депривации.

Тестирование на исследовательскую деятельность было проведено перед началом обучения. Кролики помещались в экспериментальную камеру и свободно исследовали ее в течение 20 минут. Далее животных поэтапно обучали выполнению условного инструментального рефлекса. Задача состояла в нажатии передними лапами на педаль в ответ на предъявляемый звуковой стимул, в результате чего животное получало пищевое подкрепление.

В конце обучения два экспериментатора, чаще всего контактировавшие с кроликами, заполнили анкету, разработанную для оценки темперамента кроликов [4] и адаптированную нами для применения в лабораторных условиях.

Анализ данных: Тестирование на исследовательскую активность, последующее обучение и работа кролика над задачей записывались на видео для дальнейшего анализа.

В тестировании на исследовательскую активность фиксировалось время, проведенное кроликом в активном, пассивном состояниях, количество “стоек” на задних лапах, обнюхивание пространства вокруг и груминг. Кроликов делили по категориям активности/пассивности, спокойствия/тревожности. Показателем активности считалось преобладание времени, проведенного в активном состоянии (в%), большое количество стоек, как пример активного исследовательского поведения. Показателем пассивности животного считалось преобладание времени, проведенного в пассивном состоянии, малое количество стоек, частое обнюхивание пространства вокруг. Последнее является примером пассивного исследовательского поведения. Основным показателем высокого уровня тревожности считалась повышенная частота груминга, также обращалось внимание на большое количество стоек и частое обнюхивание пространства вокруг.

При применении метода субъективной оценки поведения кроликов вопросы из анкеты были разделены на 4 категории, в соответствии с категориями, выделенными в тестировании на исследовательскую активность: “активность + тревожность”, “активность +

спокойствие”, “пассивность + тревожность”, “пассивность + спокойствие”. В каждую категорию вошло около 8 вопросов. В самой анкете вопросы по категориям разделены не были, при ответе на каждый вопрос требовалось охарактеризовать кролика по ранжированной системе оценки (от 1 до 7) в зависимости от степени соответствия животного представленной в вопросе характеристике.

Стратегии, применяемые животными при обучении были разделены на пассивную и активную. Активной считалась стратегия, в которой кролик много времени уделял задаче, а после неудачной попытки выполнения необходимого действия продолжал пытаться достичь желаемого результата. Пассивной считалась стратегия, в которой кролик уделял мало времени задаче, а после неудачной попытки выполнения необходимого действия прекращал пытаться и переключался на деятельность с более низкой активностью. Анализ данных производился на основе протокола, который велся ежедневно в течение всего периода обучения, и в котором отражалась основная информация о работе кролика. Было подсчитано количество дней, в которые животное проявляло пассивную или активную стратегию, затем рассчитывалось процентное соотношение и определялась ведущая стратегия.

При анализе видеоматериала с работой кролика в условиях задачи основное внимание уделялось количеству нажатий на педаль, количеству ошибок, частоте груминга, времени, в течение которого животное выполняет задачу, времени, проведенному в движении, отдыхе. При этом ошибки делились на классические (кролик неправильно выполнил нажатие на педаль или не попал по педали) и импульсивные (после неправильного нажатия выполнялась серия импульсивных нажатий без проверки кормушки).

### **Результаты.**

У экспериментальных животных были выявлены следующие темпераменты: активный тревожный (кролик 1, кролик 2), активный спокойный (кролик 3), пассивный тревожный (кролик 4) и пассивный спокойный (кролик 5). Активные тревожные кролики 64 % от продолжительности теста на исследовательскую активность провели в активном состоянии, у них наблюдалась большое количество стоек (30 и 24 стойки за 20 минут), обнюхиваний пространства вокруг (139 и 116), было отмечено 2 эпизода груминга. Активный спокойный кролик 64 % от времени тестирования провел в активном состоянии, при этом у него наблюдалось меньшее количество

стоек (21), обнюхиваний пространства вокруг (112) и количество эпизодов груминга (1). Пассивный тревожный кролик 51 % от времени тестирования провел в активном состоянии, при этом у него наблюдалось меньшее количество стоек (8) при сопоставимом числе обнюхиваний пространства вокруг (102) и высокие показатели груминга (2). Пассивный спокойный кролик 55 % от времени тестирования провел в активном состоянии, у него вообще не наблюдалось стоек, часто встречалось обнюхивание пространства вокруг (139), груминг также отсутствовал.

По результатам проведения субъективной оценки темперамента один кролик был определен в категорию “активный тревожный” (кролик 2), два кролика в категорию “пассивный спокойный” (кролик 1, кролик 3), один в категорию “активный спокойный” (кролик 5) и один в категорию “пассивный тревожный” (кролик 4).

В ходе анализа процесса обучения было выяснено, что активной стратегии взаимодействия с экспериментальной установкой придерживались 2 активных кролика: 1 спокойный (72 % от всех дней наблюдалась активная стратегия обучения) и 1 тревожный (89 %), пассивной стратегии обучения придерживались 2 пассивных кролика: спокойный (46 %) и тревожный (38 %) и 1 активный спокойный кролик (45 %). Таким образом, оценка применяемой стратегии подтверждает результаты теста на исследовательскую деятельность: активные кролики чаще использовали активную стратегию.

При работе над задачей у активных кроликов доля импульсивных ошибок от общего количества взаимодействий с педалью составляла около 38 %, у пассивных кроликов этот процент составил 31 % для тревожного кролика и 35 % для спокойного кролика. Количество нажатий на педаль за одну рабочую сессию длиной в 10 минут у животных всех темпераментов было примерно одинаково и составляло около 40 нажатий.

Обсуждение: По ходу работы над задачей некоторые из индивидуальных особенностей животных модифицировались, что могло быть обусловлено привыканием к экспериментальной установке и снижением уровня стресса [5].

В результате сопоставления данных тестирования на исследовательскую активность и метода субъективной оценки было выявлено, что со временем может происходить снижение тревожности, а также смена уровня активности животного на этапе выполнения задачи, что может быть объяснено переходом от этапа обучения к этапу с однотипным действием, не требующем приобретения но-

вых навыков, что дает кролику возможность войти в комфортный для него темп работы.

### **Выводы.**

Во время обучения кроликами может применяться активная или пассивная стратегия взаимодействия с экспериментальной установкой, базирующаяся на их темпераменте;

Возможно определение индивидуальных особенностей кроликов методом субъективной оценки поведения животного наблюдателем-исследователем и формирование на основе этих индивидуальных особенностей более точного представления о темпераменте;

Импульсивность поведения кроликов, выраженная в увеличении частоты непродуктивных моторных реакций во время выполнения задачи, связана с активностью животного: у активных животных процент импульсивных нажатий выше.

### **Список литературы:**

1. Heiko G. Rödel and Raquel Monclús (2011) Long-term consequences of early development on personality traits: a study in European rabbits. *Behavioral Ecology*.
2. Hooker CI, Verosky SC, Miyakawa A, Knight RT, D'Esposito M. (2012) The influence of personality on neural mechanisms of observational fear and reward learning. *Neuropsychologia*. 2008;46 (11):2709—2724.
3. Andersson, A., Laikre, L. & Bergvall, U. A. (2014) Two shades of boldness: novel object and anti-predator behavior reflect different personality dimensions in domestic rabbits. *J Ethol*32, 123—136.
4. F. M. Meijsser, A. M. P. Kersten, P. R. Wiepkema, J. H. M. Metz (1989) An Analysis of the Open-Field Performance of Sub-Adult Rabbits. *Applied Animal Behaviour Science*,24 (1989) 147—155.

## **DEPENDENCE OF LEARNING STRATEGY AND TASK WORK ON ANIMAL TEMPERAMENT**

**Borodacheva U. V.**<sup>1,2</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences, Moscow

2 Moscow State University M. V. Lomonosov, Moscow, Russia

**Abstract:** This work investigated the influence of temperament on the learning and work of an animal on an experimental task. To evaluate the rabbits' temperament, research activity tests were conducted and a subjective evaluation of the individual characteristics of the animal by the researcher-experimentalist was given. After the tests, an instrumental conditioned reflex was developed in the rabbits by the step by step learning method. Finally, active and passive strategies used by rabbits in the learning process and based on their temperament were identified. In active rabbits, a peculiarity was found in working under task conditions, consisting in an increase in the frequency of non-productive motor reactions.

**Keywords:** Temperament, learning, operant conditioning

# ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРЕПАРАТОМ KB-R7943 В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-30-35

Бородин М. А.<sup>1,2</sup>, Дашиева В. Ж.<sup>1</sup>, Сухов И. Б.<sup>1,2</sup>,  
Шестакова Н. Н.<sup>1</sup>

1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН)

2 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

*e-mail: sukhov.ivan@gmail.com*

**Аннотация:** Данная работа посвящена исследованию эффектов применения селективного блокатора натрий-кальциевого обменника KB-R7943 как противоболевого препарата у крыс с вызванным стрептозотоцином сахарным диабетом 1-го типа (СД1) и нейропатией. Был проведен анализ уровней экспрессии генов белков, задействованных в патогенезе диабетической нейропатией, включая ионные каналы: SCN9A (канал VGSC Nav1.7), SACNA1H ( $\alpha 1$  субъединица канала VGCCs T-типа), SACNA2D1 ( $\alpha 2\delta$ -1 субъединица канала VGCCs T-типа) и белков, регулирующих апоптоз: Bcl-2 и Вах — в тканях гипоталамуса и гиппокампа после 1-недельного введения KB-R7943. Было обнаружено, что введение KB-R7943 привело к увеличению экспрессии SACNA2D1 и её снижению для SCN9A в гиппокампе у крыс с СД1, в то же время в контрольной группе уровень мРНК Nav1.7 повысился под влиянием препарата. Экспрессия и Вах, и Bcl-2 была увеличена в гиппокампе у контрольных животных после введения KB-R7943. В диабетической группе в гипоталамусе терапия KB-R7943 снижала уровень мРНК Bcl-2, оставляя прежним уровень экспрессии Вах.

**Ключевые слова:** крыса, диабет, нейропатия, KB-R7943, экспрессия генов

Данная работа посвящена исследованию эффектов применения селективного блокатора натрий-кальциевого обменника KB-R7943 как противоболевого препарата у крыс с вызванным стрептозотоцином сахарным диабетом 1-го типа и диабетической

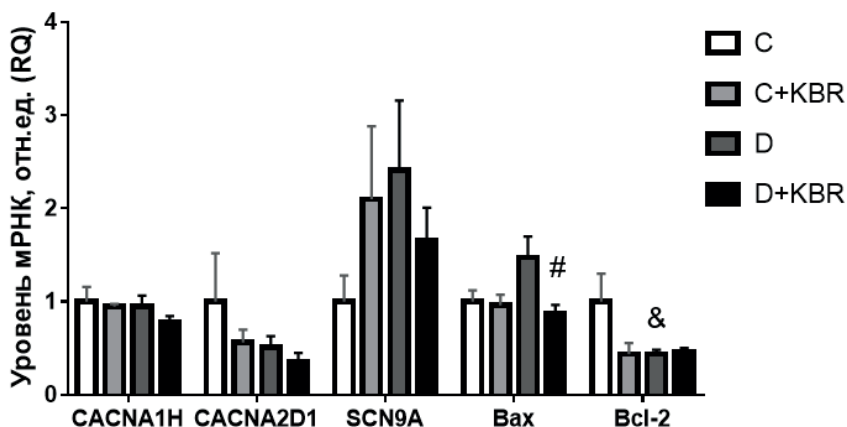
нейропатией, которая может быть связана с гиперактивацией глутаматергической передачи, и в частности зависеть от активации рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDAR). На мембране нейронов белки NMDAR и натрий-кальциевый обменник (NCX) функционально взаимосвязаны: ингибирование NCX усиливает десенситизацию NMDAR и ограничивает вход кальция через NMDAR [1, 2]. В связи с этим применение селективного ингибитора NCX KB-R7943 может быть перспективным подходом в поиске адекватной противоболевой терапии.

Для исследования влияния перорального введения KB-R7943 были выбраны гены, кодирующие белки ионных каналов, участвующих в патогенезе диабетической нейропатии (SCN9A (VGSC Nav1.7), CACNA1H ( $\alpha 1$  субъединица VGCCs T-типа), CACNA2D1 ( $\alpha 2\delta$ -1 субъединица VGCCs T-типа), и белки, регулирующие апоптоз (Bcl-2 и Bax). Исследования проводились на самцах крыс линии Wistar, которые были разделены на группы контроля С, диабета D, контроля с введением препарата С+KBR и диабета с введением препарата D+KBR. Введение KB-R7943 производилось в течение 1 недели. Оценка уровня экспрессии генов проводилась в образцах тканей гипоталамуса и гиппокампа с помощью ПЦР в реальном времени (амплификатор 7500 Real-Time PCR System (LifeTechnologies, ThermoFisherScientificInc., USA). Сахарный диабет 1-го типа индуцирован внутривнутрибрюшинным введением стрептозотоцина.

Анализ уровней экспрессии исследуемых генов в гипоталамусе выявил достоверное изменение только для гена Bax: уровень его экспрессии статистически значимо уменьшился в группе D+KBR по сравнению с D ( $p = 0.038$ ) (Рисунок 1). Кроме того, было обнаружено ожидаемое уменьшение уровня экспрессии Bcl-2 в группе диабетических животных по сравнению с контролем ( $p = 0.026$ ) (Рисунок 1).

Оценка экспрессии исследуемых генов в гиппокампе показала значительное увеличение уровня экспрессии гена CACNA2D1, кодирующего  $\alpha 2\delta$ -1-субъединицу потенциал-зависимых кальциевых каналов, у диабетических животных, получавших KB-R7943 в течение 1 недели, по сравнению с группой диабетических животных, получавших плацебо в течение такого же срока ( $p = 0.021$ ) (Рисунок 2). Анализ результатов кПЦР для гена SCN9A, кодирующего потенциал-зависимый натриевый канал  $Na_v1.7$ , обнаружил увеличение экспрессии у группы С+KBR ( $p = 0.041$ ), а также у диабетической группы ( $p = 0.021$ ) в сравнении с контролем. У группы D+KBR было

зафиксировано достоверное снижение экспрессии SCN9A по сравнению с группой D ( $p = 0.008$ ) (Рисунок 2).

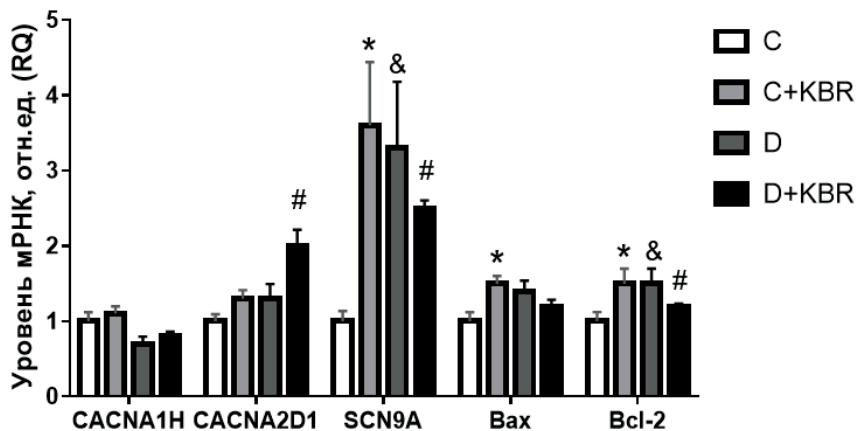


*Рис. 1. Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки, участвующие в сигнальной трансдукции при диабетической нейропатии и апоптозе, в гипоталамусе крыс в сравнении с этим показателем у контрольных животных. Значения RQ рассчитаны по отношению к контрольной группе. Уровень экспрессии мРНК генов нормирован по Rn18S (рРНК 18S-субъединицы) в гипоталамусе крыс по данным ПЦР в реальном времени. Данные представлены как  $M \pm SEM$ . Различия между группами C и C+KBR (\*), между группами D и D+KBR (#), а также между группами C и D (&) достоверны при  $p < 0.05$*

Полученные результаты объясняются тем, что при повреждении, вызванном СД1, повышается экспрессия генов и, как следствие, усиливается активность потенциал-зависимых натриевых каналов Nav1.7 [3]. Однако, в случае потенциал-зависимых кальциевых каналов не наблюдался ожидаемый результат: при диабетической нейропатии экспрессия генов не менялась [3], а KB-R7943 вызывал 2-х кратное увеличение экспрессии CACNA2D1. Таким образом, выявленные изменения в экспрессии ионных каналов показывают, что влияние KB-R7943 на распространение болевого сигнала и гипервозбудимости нейронов отделов головного мозга, участвующих в обработке болевой информации, является неоднозначным, поскольку повышенная экспрессия  $\alpha 2\delta$ -1 субъединицы VGCCs T-типа и увеличение активности Nav1.7 ассоциированы с развитием болевой гиперчувствительности при диабетической нейропатии.



Уровень экспрессии генов Вах и Bcl-2 увеличился в группе C+KBR в сравнении с контрольной группой ( $p=0,0007$  и  $p=0,004$  соответственно). В группе D+KBR наблюдалось снижение экспрессии Bcl-2 относительно D ( $p = 0,0004$ ). Кроме того, уровень экспрессии Bcl-2 увеличился в группе диабетических животных по сравнению с контролем ( $p = 0,0007$ ) (Рисунок 2).



**Рис. 2.** Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки, участвующие в сигнальной трансдукции при диабетической нейропатии и апоптозе, в гиппокампе крыс в сравнении с этим показателем у контрольных животных. Значения RQ рассчитаны по отношению к контрольной группе. Уровень экспрессии мРНК генов нормирован по Rn18S (рРНК 18S-субъединицы) в гиппокампе крыс по данным ПЦР в реальном времени. Данные представлены как  $M \pm SEM$ . Различия между группами C и C+KBR (\*), между группами D и D+KBR (#), а также между группами C и D (&) достоверны при  $p < 0.05$ .

Обнаруженное повышение уровня экспрессии Вах и его понижение для Bcl-2 в отделах мозга у крыс с СД1 согласуются с литературными данными [4].

Таким образом, в данном исследовании было показано, что введение KB-R7943 привело к увеличению экспрессии CACNA2D1 и её снижению для SCN9A в гиппокампе у крыс с СД1, в то же время в контрольной группе уровень мРНК Nav1.7 повысился под влиянием препарата. Экспрессия Вах, и Bcl-2 была увеличена в гиппокампе у контрольных животных после введения KB-R7943. В диабетической группе в гипоталамусе терапия KB-R7943 снижала уровень мРНК Bcl-2, оставляя прежним уровень экспрессии Вах.

### **Список литературы:**

1. Sibarov D. A., Abushik P. A., Poguzhelskaya E. E., Bolshakov K. V., Antonov S. M. Inhibition of plasma membrane Na/Ca-exchanger by KB-R7943 or lithium reveals its role in Ca-dependent N-methyl-D-aspartate receptor inactivation//Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2015. — V. 355. — N. 3. — PP. 484—495.
2. Sukhov I. B., Dashieva V. Zh., Chistyakova O. V., Spasova A. P., Ivanova N., Gateva P. A., Shestakova N. N. Study of the selective blocker of sodium-calcium exchanger KBR7943 as an analgesic drug in rats with induced type 1 diabetes mellitus//RUSNEUROCHEM 2022: Всероссийская международная конференция Российского нейрохимического общества, г. Санкт-Петербург (22—24 мая 2022 г.). — Тезисы докладов. — СПб.: Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 2022. с. 157—158.
3. Alles S. R. A., Smith P. A. Peripheral Voltage-Gated Cation Channels in Neuropathic Pain and Their Potential as Therapeutic Targets//Frontiers in Pain Research. — 2021. — P. 106.
4. Soleymaninejad M., Joursaraei S. G., Feizi F., Jafari Anarkooli I. The Effects of Lycopene and Insulin on Histological Changes and the Expression Level of Bcl-2 Family Genes in the Hippocampus of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Diabetes Res. 2017; 2017:4650939.

## **STUDY OF THE LEVEL OF GENE EXPRESSION IN RAT BRAIN DURING PAIN THERAPY WITH KB-R7943 IN THE CONDITIONS OF DIABETIC NEUROPATHY**

**Borodin M. A.<sup>1,2</sup>, Dashieva V. Zh.<sup>1</sup>, Sukhov I. B.<sup>1,2</sup>, Shestakova N. N.<sup>1</sup>**

1 Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia

2 Almazov National Medical Research Centre, St.-Petersburg, Russia

**Abstract:** This work is devoted to the investigation of the side effects of the selective sodium-calcium exchanger blocker KB-R7943 as an anti-pain drug in

rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus (DM1). We analyzed the levels of gene expression of proteins involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy, including ion channels: SCN9A (VGSC Nav1.7), CACNA1H ( $\alpha$ 1 subunit of T-type VGCCs), CACNA2D1 ( $\alpha$ 2 $\delta$ -1 subunit of T-type VGCCs) and proteins, regulating apoptosis: Bcl-2 and Bax — in the tissues of the hypothalamus and hippocampus after 1-week administration of KB-R7943. It was found that the administration of KB-R7943 led to an increase in CACNA2D1 expression and its decrease for SCN9A in the hippocampus of rats with DM1, while in the control group the level of Nav1.7 mRNA increased under the influence of the drug. The expression of both Bax and Bcl-2 was increased in the hippocampus of control animals after administration of KB-R7943. In the diabetic group in the hypothalamus, KB-R7943 therapy reduced the level of Bcl-2 mRNA, leaving the level of Bax expression unchanged.

**Keywords:** rat, diabetes, neuropathy, KB-R7943, gene expression

# АКТИВНОСТЬ СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКАДЫ NO-СИГНАЛОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-36-39

**Бурмакина М. А., Трофимова Н. А., Саульская Н. Б.**

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

*E-mail: burmakinata@infran.ru*

**Аннотация:** Работа направлена на исследование эффектов, оказываемых активацией и блокадой нитрергической системы на серотониновую нейротрансмиссию в медиальной префронтальной коре крыс. Показано, что введения в медиальную префронтальную кору донора NO диэтиламинноата (0.1, 0.5, 1 мМ) приводят к увеличению уровня внеклеточного серотонина в этой области. Введение диэтиламинноата в концентрации 2.5 мМ снижало этот показатель. Инфузия в медиальную префронтальную кору ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинина (0.5 мМ) уменьшала фоновый уровень внеклеточного серотонина в данной области коры.

**Ключевые слова:** медиальная префронтальная кора, серотонин, оксид азота

Медиальная префронтальная кора (мПК) является полифункциональной структурой. Одной из ее функций является участие в регуляции некоторых аспектов страха, в частности, в дискриминации опасных и безопасных стимулов. Активность этой зоны коры находится под контролем нескольких нейромодуляторных систем, включая нитрергическую и серотонинергическую системы. Существуют морфологические данные, которые указывают на возможное взаимодействие этих двух систем в мПК. Однако, в литературе нет сведений, касающихся влияний локальных нитрергических сигналов в мПК на активность серотониновой системы в этой зоне коры. Ранее нами было показано, что нитрергическая активация мПК введением донора NO (диэтиламинноат, DEA, 1 мМ) вызывает подъём уровня внеклеточного серотонина в этой области [1], однако неизвестно, является ли такой эффект дозозависимым, т. е.

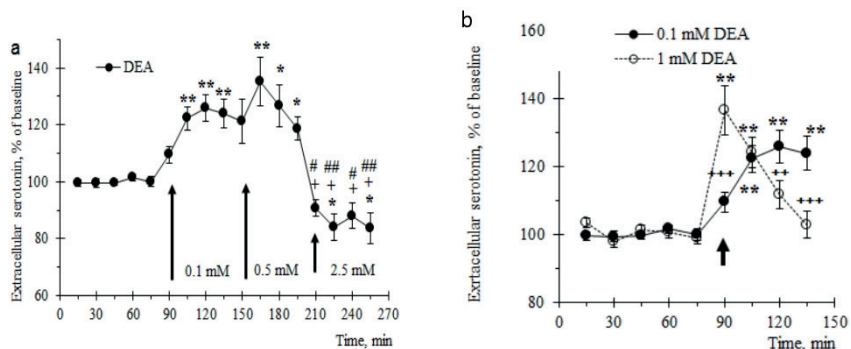
физиологически релевантным. Нет сведений о влиянии локальной блокады нитрергической передачи на высвобождение серотонина в этой зоне коры. Настоящая работа направлена на выяснение этих вопросов. С этой целью, во-первых, исследованы влияния нитрергической стимуляции мПК локальными введениями донора NO DEA в диапазоне концентраций 0.1—2.5 мМ на уровень внеклеточного серотонина в этой области коры. Во-вторых, изучены эффекты введения в мПК ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинина на фоновый уровень внеклеточного серотонина в мПК.

### **Методика.**

Работа выполнена на крысах-самцах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа. Крысам (n=22) под общим наркозом в мПК имплантировали диализные канюли. На вход канюли подключали диализный насос и начинали перфузию искусственной спинномозговой жидкостью (ИСМЖ). Животных разделили на 3 группы. Крысам группы 1 (n=8) в ИСМЖ добавляли донор оксида азота диэтиламинноат (DEA, «Sigma», США) в концентрациях 0,1, 0,5 и 2,5 мМ (по 1 ч каждая концентрация). Крысам группы 2 (n=8) в ИСМЖ добавляли DEA в концентрации 1 мМ. Крысам группы 3 (n=6) в ИСМЖ добавляли ингибитор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин (NA) в концентрации 0.5 мМ. Диализат собирали на протяжении всего периода экспериментов. Уровень внеклеточного серотонина в диализате мПК измеряли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией.

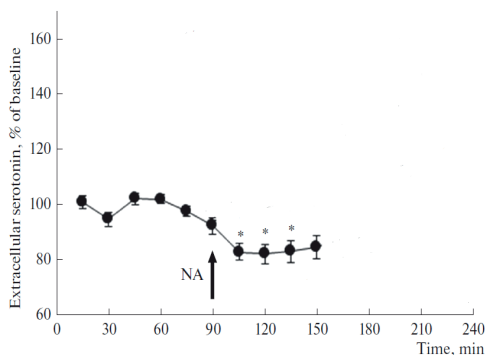
### **Результаты.**

Показано, что введения в мПК DEA животным группы 1 (0.1 мМ, 0.5 мМ) приводят к увеличению уровня внеклеточного серотонина в этой области, коррелирующему в первые 15 минут введения с концентрацией вводимого препарата (рис. 1 а). Введение в мПК DEA животным группы 2 (1 мМ) также повышало уровень внеклеточного серотонина в мПК (рис. 1б). При этом отмечалась следующая закономерность: чем ниже концентрация DEA, тем позднее наступает максимальный подъем уровня внеклеточного серотонина и тем величина этого максимума меньше. Вместе с тем, введение DEA в концентрации 2.5 мМ снижало уровень внеклеточного серотонина относительно фоновых значений (рис. 1), что, возможно, отражает десенситизацию растворимой гуанилатциклазы, одной из основных мишеней NO, высокими концентрациями NO [2].



**Рис. 1. (а)** — изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении в эту область диэтиламинноата (DEA) в концентрациях 0.1, 0.5 и 2.5 мМ; **(б)**—Изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК крыс с введениями в мПК 0.1 мМ DEA (группа 1) и 1 мМ DEA (группа 2).

Также показано, что инфузия в мПК ингибитора NO-синтазы NA (0.5 мМ) уменьшала фоновый уровень внеклеточного серотонина в данной области коры (рис. 2).



**Рис 2.** Изменение уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении N-нитро-L-аргинина в концентрации 0,5 мМ

### Заключение.

Показано, что введение в мПК донора NODEA в концентрациях 0.1 мМ-1 мМ оказывает дозозависимое активационное влияние на высвобождение серотонина в этой области, наблюдаемое в начале введений препарата, а дальнейшее увеличение концентрации

вводимого NO донора до 2.5 мМ тормозит этот процесс. Помимо этого, полученные данные свидетельствуют, что серотониновая система мПК находится под тоническими активационными влияниями эндогенного NO, поскольку устранение таких влияний локальным введением ингибитора NO-синтазы NA (0.5 мМ) снижало уровень внеклеточного серотонина в этой области.

### Список литературы:

1. Саульская Н. Б., Бурмакина М. А., Трофимова Н. А. 2021. Оксид азота тормозит функциональную активацию серотониновой системы медиальной префронтальной коры при формировании страха и уменьшает его генерализацию. *Нейрохимия*. 2021. 38 (3): 249—256.
2. Sayed N., Baskaran P., Ma X., vanden Akker F., Beuve A. 2007. Desensitization of soluble guanylyl cyclase, the NO receptor, by S-nitrosylation. *Proc Natl Acad Sci*. 2007. 104:12312—12317.

## ACTIVITY OF THE SEROTONIN SYSTEM OF THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX UNDER STIMULATION AND BLOCKADE OF NO-SIGNALS

Burmakina M. A., <sup>1</sup>Trofimova N. A., <sup>1</sup>Saulskaya N. B. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg, Russia

*E-mail: burmakinama@infran.ru*

**Abstract:** The work examines effects of activation and blockade of the nitroergic system on serotonin transmission in the medial prefrontal cortex (MPC) of rats. It has been shown that injections of NO-donor diethylaminoethanol (0.1, 0.5, 1 mM) into the medial prefrontal cortex led to an increase in the level of extracellular serotonin in this area. Injections of diethylaminoethanol at a concentration of 2.5 mM reduced this parameter. Infusion into the medial prefrontal cortex of the NO synthase inhibitor N-nitro-L-arginine (0.5 mM) decreased the basal extracellular serotonin level in this area.

**Keywords:** medial prefrontal cortex, serotonin, nitric oxide

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА ДЛЯ САМОДИАГНОСТИКИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-40-45

**Домнин И. А., Вальчук А. С.**

ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия  
*e-mail: domni3174@gmail.com*

**Аннотация:** В статье рассмотрены теоретические основы влияния физиологического стресса на организм человека, представлены различные существующие на данный момент средства и методики для диагностики, а также предложена авторская разработка определения уровня стресса для самодиагностики с дальнейшими рекомендациями.

**Ключевые слова:** физиологический стресс, здоровье человека, сенсорные системы, методика выявления стресса.

Стресс (от англ. stress — напряжение) или «общий адаптационный синдром» — это совокупность общих неспецифических физиологических, психологических и биохимических реакций организма в ответ на действие стрессоров — раздражителей чрезвычайной силы любой природы [5]. Адаптация — приспособление организма к внешним условиям в процессе эволюции, включая морфофизиологические и поведенческие составляющие [1]. При действии на организм стрессоры вызывают два вида реакций [7]: специфические, связанные с качеством действующего фактора; неспецифические, общие при действии различных стрессоров.

Г. Селье пронаблюдал и описал многообразные изменения, возникающие в организме при стрессе и называемые в настоящее время «триадой Селье» [6]: гипертрофия коры надпочечников и инволюция тимиколимфатического аппарата (тимуса, селезенки, лимфоузлов); образование геморрагических язв в желудочно-кишечном тракте; нарушение обмена веществ и изменения в периферической крови в виде нейтрофильного лейкоцитоза, снижения количества лимфоцитов и эозинофильных гранулоцитов.

Неблагоприятные факторы стресса [1]:



- Необычно длительное действие глюкокортикоидов и катехоламины;
- Гипофиз и гипоталамус истощают свои функции;
- Образование язв в желудочно-кишечный тракт;
- Инволюция тимуса;
- Чрезмерное окисление липидов;
- Атрофия лимфоидной ткани.

Стадии стресс-синдрома [6]:

Стадия тревоги (опасности):

- Характеризуется уменьшением размеров тимуса, селезенки, лимфатических узлов
- Длится от 6 до 48 ч после действия стрессора.

Первоначально Г. Селье применял термины «шок» и «противоток»:

- Во время «шока» снижается артериальное давление, уменьшается частота дыхательных движений и сокращений сердечной мышцы, снижаются температура тела и др.
- Шок сменяется «противотоком» — включением механизмов противодействия повреждению: начинается мобилизация общих защитных сил организма; возрастает секреция адренокортикотропного гормона (АКТГ) и глюкокортикоидных гормонов (кортизола, кортикостерона); учащаются дыхание, сердцебиение, повышаются температура тела, уровень глюкозы и ненасыщенных жирных кислот в крови, уменьшается содержание гликогена в печени и др.

Стадия резистентности, или выравнивания нарушенного равновесия:

- Наступает через 48 ч после действия стрессора
- Характеризуется гипертрофией коры надпочечников с устойчивым повышением секреции глюкокортикоидов. При этом обычно повышается устойчивость организма к действию ряда чрезвычайных раздражителей, хотя бывают случаи и повышения чувствительности.
- Сохраняется усиленная секреция катехоламинов в мозговом слое и повышается их концентрации в крови.
- Повторные стрессорные воздействия, с одной стороны, производят тренирующий эффект, с другой — способны истощать защитные силы организма, вследствие чего даже слабые раздражители обуславливают развитие тяжелых заболеваний.

Стадия истощения.

- Устойчивость к вредному фактору вновь снижается, и в организме появляются изменения, похожие на те, что происходят при старении.
- Известно, что при перенапряжении той или иной функции она может оказаться неадекватной условиям и из физиологической перейти в патологическую, т. е. стать источником дальнейших нарушений.

При анализе последствий общего адаптационного синдрома Г. Селье утверждал, что хотя этот синдром в целом имеет защитно-приспособительный характер, в ряде случаев ответная реакция организма может оказаться неадекватной условиям, ее вызывающим. Она может оказаться более сильной, чем нужно, ослабленной или извращенной, и тогда эта реакция становится причиной последующих патологических изменений в организме [6]. Многочисленные эксперименты последних десятилетий показали, что процесс адаптации к повторяющемуся воздействию стрессоров сопровождается уменьшением реакций гипоталамо-адреналовой системы при сохранении ее повышенной фоновой активности. Это не связано с истощением функциональных возможностей надпочечников. В основе подобной адаптации лежит активация нейроэндокринных механизмов, ограничивающих чрезмерное возбуждение высших адренергических центров и выход рилизинг-факторов, которые стимулируют секрецию АКТГ. Таким образом, предотвращается увеличение содержания катехоламинов и кортикостерона в крови, действующих на органы-мишени, и уменьшается вероятность стрессорных повреждений. Выяснилось, что сами кортикостероиды через рецепторы гиппокампа частично тормозят вышеуказанные механизмы стимуляции. Однако роль «основных ограничителей» выполняют центральная и периферическая стресс-лимитирующие системы [6, 8, 9].

Методика выявления стресса:

- По изменениям поведения. Темп речи, оценка собранности, наличие отличий от поведения в спокойном состоянии [2, 3];
- По изменению визуальных параметров. Окраска кожи, движения глаз, оценка размера зрачков [3];
- По изменению в психологических параметрах. Общая оценка тревожности и напряжения тестированием [3];
- По изменениям в физиологии процессов, происходящих в теле [4, 8, 9].

На данный момент в психологии четко разделяют два вида определения стресса — определение в моменте, которое подразумевает определение резкого повышения уровня стресса психологом, для дальнейшего применения мер для быстрого его снижения. И наоборот, определение длительного стресса, для этого проводятся различные опросники нервно-психологического напряжения, а также может назначаться анализ крови, для выявления изменений на гормональном фоне. Основной целью такого определения является выявление стрессовых факторов для дальнейшего их планомерного снижения [3]. В связи с этим, представляется актуальным создание прикладного решения, способного осуществить возможность self-диагностики без посещения квалифицированного специалиста. Такое решение перспективно, так как достаточно большая часть населения России подвержена стрессу и не всегда существует возможность своевременной диагностики стресса. Наше прикладное решение, основанное на определении кратковременного и длительного стресса, позволит с определенной точностью определить нервно-психологическое напряжение, а также направить на консультацию с квалифицированным специалистом. В ходе решения данного проекта планируется повышение уровня грамотности населения в области психологии и физиологии стресса, снижение общего уровня стресса среди населения, внедрение современных информационных технологий в психофизиологию, разработка готового прикладного решения.

Нами был разработан прототип, позволяющий неинвазивно измерять уровень стресса у каждого конкретного человека с учетом его психофизиологических особенностей. Прогрессивность нашей разработки заключена в использовании ряда проверенных временем методик. Мы основываемся на том, что нами было создано IOS-приложение, позволяющее соединить в себе несколько важных частей функционала — web-приложение, а также обработку и интерпретацию данных, получаемых с датчиков Смарт-устройства. IOS-приложение было создано в среде разработки Xcode и на данный момент состоит из нескольких приветственных экранов, благодаря которым пользователь узнает всю главную информацию о приложении, а также WebView, позволяющий отображать данные с веб-страницы, на которой пользователю потребуется пройти тестирование. На данный момент уже реализовано проведение психологического тестирования на веб-странице (сайт реализован на домене [welcome-dear.ru](http://welcome-dear.ru) с использованием услуг

веб-хостинга компании Beget). При помощи скрипта, написанного на JavaScript, а также HTML5 и CSS реализован интерфейс, позволяющий пройти тестирование “Опросник Нервно-психологического напряжения”. Это не единственное тестирование, которое возможно реализовать, но на данный момент мы ограничились именно им, так как это стандартная процедура, описанная в научной литературе по психологии [1].

В будущем наши планы делятся на две основные ветки: доработка приложения и веб-страницы, для упрощения взаимодействия с пользователем, усложнения и доработки самой системы тестирования; проработка физических методов измерения при помощи датчиков на смарт-устройстве.

Нами планируется внедрение функции отслеживания прогресса в виде графиков зависимости уровня стресса от времени в приложении, создание модуля, позволяющего проводить тестирование в определенное время, устанавливаемое таймером и уведомлением на смартфоне, доработка тестирования, для усложнения структуры и проведения сначала более общих тестов, позволяющих более точно определить стрессовое воздействие на организм человека. В план будущей работы также входит использование датчика пульса для анализа вариабельности частоты сердечных сокращений, также планируется использование датчиков, позволяющих измерить кожно-гальванический потенциал, по всем этим факторам планируется прогнозирование наиболее точного уровня стресса у каждого конкретного человека. Все датчики планируется интегрировать на базе платформы Arduino UNO, а подключение к приложению осуществлять при помощи защищенного Bluetooth-канала. Прогнозируемое значение будет коррелировать с определенной таблицей коэффициентов, соответствующей важности параметра, позволяющей в случае различных показаний опираться на более точные параметры, корректируя прогноз.

### **Список литературы:**

1. Брайт Д., Джонс Ф. Стресс. Теории, исследования, мифы. — Спб.: Прайм-Еврознак, 2003. — 352 с.
2. Стресс, фрустрация, конфликт, кризис и аффект в экстремальной психологии//Sci-book <https://clck.ru/xfqKY> (дата обращения: 20.08.2022).
3. Психопрофилактика стрессов//Elibrary URL: <https://clck.ru/xfr-Mu> (дата обращения: 25.08.2022).

4. О чем вам расскажет вариабельность сердечного ритма: гид// Reminder URL: <https://clck.ru/xfs3T> (дата обращения: 25.08.2022).
5. Карпенко Л. А., Петровский А. В., М. Г. Ярошевский М. Г. Краткий психологический словарь. — Ростов-на-Дону: «ФЕНИКС». 1998. — 512 с.
6. Патологическая физиология: учебник: в 2 т./под ред. Новицкого В. В., Гольдберга Е. Д., Уразовой О. И. — 4-е изд., перераб. и доп. — ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 1. — 848 с.
7. Патологическая физиология: учебник для студентов мед. вузов/ под ред. Зайко Н. Н., Быця Ю. В. — 3-е изд., перераб. и доп. — К.: «Логос», 1996. — 644 с.
8. Гаркави Л. Х., Михайлов Н. Ю., Жукова Г. В., Мащенко Н. М. Средства и методы для диагностики физиологического стресса// Известия Южного федерального университета. Технические науки. — 2009. — С. 41—45.
9. Михайлов Н. Ю., Толмачев Г. Н., Гаркави Л. Х., Пляка П. С. Экспресс-метод диагностики донологических состояний, предболезни и процессов адаптации пациентов с помощью аппаратно-программного комплекса «Пульс-Антистресс»//Главный врач Юга России. — 2012. — № 1 (28). — С. 55—57.

## THE STUDY OF THE EFFECT OF STRESS ON THE HUMAN BODY AND THE DEVELOPMENT OF A DEVICE FOR SELF-DIAGNOSIS.

Domnin I. A., Valchuk A. S.

OINPE NRNU MEFH, Obninsk, Russia

**Abstract:** The article discusses the theoretical foundations of the influence of physiological stress on the human body, presents various currently existing tools and techniques for diagnosis, and also suggests the author's development of determining the level of stress for self-diagnosis with further recommendations.

**Keywords:** physiological stress, human health, sensory systems, methods of stress detection

# ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЛЕВАМИЗОЛ-АССОЦИИРОВАННОЙ МУЛЬТИФОКАЛЬНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ И ДРУГИХ ФОРМ ОСТРОЙ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-46-52

Волик А. В.<sup>1,2</sup>, Аверченков Д. М.<sup>3</sup>

1 ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»,  
Москва, Россия

2 ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии,  
Москва, Россия

3 ГБУЗ «Городская клиническая больница им. В. М. Буянова» ДЗМ, Москва, Россия  
*e-mail: volikanastasya@yandex.ru*

**Аннотация:** В рамках данной работы нами был проведен сравнительный анализ лабораторных данных пациентов с левамизол-ассоциированной мультифокальной воспалительной энцефалопатией (ЛАМВЭ) и другими формами острой демиелинизации (острый рассеянный энцефаломиелит и дебют рассеянного склероза). Оценивались следующие параметры: уровни белка и цитоза в цереброспинальной жидкости, тип синтеза олигоклональных антител, уровни легких цепей иммуноглобулинов, фосфорилированных тяжелых цепей нейрофиламента, а также значения альбуминового и иммуноглобулинового индексов. По результатам анализа полученных данных уровень альбумина и IgG в сыворотке был значимо выше в группе ЛАМВЭ. В группе острой демиелинизации преобладал 2 тип синтеза олигоклональных антител, в то время как при ЛАМВЭ чаще отмечался 1 тип синтеза. При этом в ряде случаев у пациентов с ЛАМВЭ выявлялся 2 тип синтеза без трансформации в РС. Для других биохимических маркеров значимых различий между сравниваемыми группами выявлено не было. Однако в обеих группах иммуноглобулиновый и альбуминовый индексы, а также уровень лямбда-цепей иммуноглобулинов были повышены относительно референсных значений.

**Ключевые слова:** энцефалопатия, левамизол, острый рассеянный энцефаломиелит, демиелинизация

Левамизол-ассоциированная мультифокальная воспалительная энцефалопатия (ЛАМВЭ) — это тяжелое неврологическое заболевание, являющееся осложнением приема левамизола (ТН “Декарис”) — антигельминтного препарата с иммуномодулирующей активностью. Для ЛАМВЭ характерно наличие в головном мозге очагов лейкоэнцефалопатии, выявляемых при нейровизуализации и в большинстве случаев накапливающих контрастный препарат, с эпизодическим вовлечением в патологический процесс серого вещества головного мозга, а именно базальных ганглиев и коры больших полушарий. Клиническая картина, а также данные лабораторно-инструментальных исследований при ЛАМВЭ сходны с таковыми при рассеянном склерозе (РС) и острым рассеянном энцефаломиелите (ОРЭМ), что обуславливает необходимость проведения дифференциальной диагностики между данными заболеваниями [1].

На сегодняшний день есть основания предполагать, что в России ЛАМВЭ встречается чаще, чем в других странах, поскольку в нашей стране распространено употребление левамизола без назначения врача для профилактики глистной инвазии [2]. Таким образом, проблема диагностики и дифференциальной диагностики ЛАМВЭ является крайне актуальной.

В диагностике ЛАМВЭ, наряду с другими методами, используется исследование состава цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). При ЛАМВЭ, как и при ОРЭМ, в ЦСЖ может наблюдаться незначительное повышение уровня белка и невысокий лимфоцитарный плеоцитоз [4,7]. Однако в ряде случаев исследование ЦСЖ не выявляет никаких отклонений от нормы.

Поскольку интратекальный синтез иммуноглобулинов (ИГ) является специфичным для РС, определение типа синтеза олигоклональных антител (ОГ-АТ) может быть полезным для проведения дифференциальной диагностики между ЛАМВЭ и дебютом РС, хотя следует учитывать, что при ЛАМВЭ достаточно часто может встречаться транзиторный интратекальный синтез ОГ-АТ [3,9].

В диагностике ЛАМВЭ также может помочь анализ ЦСЖ на наличие легких цепей ИГ. В процессе синтеза ИГ легкие цепи продуцируются в избытке, поэтому при наличии интратекального синтеза антител в ЦСЖ можно детектировать свободные легкие цепи ИГ каппа и лямбда. Кроме того, при воспалительных заболеваниях ЦНС информацию о проницаемости гематоэнцефалического барьера можно получить при анализе альбуминового и иммуноглобулинового индексов, а также индекса интратекального синтеза ИГ

[6]. Представление о наличии или отсутствии повреждения нейронов при ЛАМВЭ может дать исследование ЦСЖ на фосфорилированные тяжелые цепи нейрофиламента (ФНФТ) [5].

Целью нашей работы было провести сравнительный анализ лабораторных данных пациентов с ЛАМВЭ и острой демиелинизацией.

Анализ лабораторных данных проводился нами в два этапа: в рамках первого этапа оценивались рутинные, а в рамках второго — развернутые биохимические показатели.

В рамках первого этапа оценивались данные лабораторных показателей 37 пациентов с ЛАМВЭ и 19 пациентов с острой демиелинизацией (группа сравнения). В группе ЛАМВЭ у 19 пациентов был выявлен 1 тип синтеза ОГ-АТ, у 15 пациентов — 2 тип, у 1—4 тип и у 2—3 тип синтеза (у одного из них при повторных пункциях был выявлен 2 тип синтеза и трансформация в РС). Таким образом, в исследуемой группе пациентов превалировал 1 тип синтеза (51,35%). По результатам наблюдения у 3 пациентов из группы со 2 типом синтеза наблюдалась трансформация в РС (20% пациентов). В группе сравнения у 14 пациентов наблюдался 2 тип (82,35%), и только у 3 — первый тип (17,65%) синтеза ОГ-АТ. При проведении анализа данных для двух групп выявлено достоверное различие в виде преобладания 2 типа синтеза в группе острой демиелинизации по сравнению с группой ЛАМВЭ ( $p=0,035$ ).

Следует отметить, что у подавляющей части пациентов со 2 типом синтеза не наблюдалось трансформации в РС. Наличие 2 типа синтеза при ЛАМВЭ в этом случае может быть обусловлено транзиторным характером интратекального синтеза ОГ-АТ. В связи с этим при проведении дифференциальной диагностики ЛАМВЭ с дебютом РС данный показатель должен быть использован с осторожностью. Кроме того, для установления правильного диагноза может потребоваться проведение повторного анализа на тип синтеза ОГ-АТ.

Уровень белка в группе сравнения составил 0,43 г/л ( $\pm 0,11$ ), цитоз 40 клеток в 3 мкл ( $\pm 26$ ). В группе ЛАМВЭ — уровень белка 0,54 г/л ( $\pm 0,67$ ), цитоз — 25 клеток в 3 мкл ( $\pm 41$ ), преимущественно лимфоцитарный. При сравнении групп между собой был получен более высокий уровень цитоза в группе острой демиелинизации, тогда как в группе ЛАМВЭ был крайне высокий разброс показателей ( $p=0,03$ ). Различий в уровне белка в ЦСЖ между группами выявлено не было ( $p=0,29$ ).

В рамках второго этапа исследования был собран биологический материал (ЦСЖ и сыворотка крови) 11 пациентов с ЛАМВЭ



(3 мужчин/8 женщин) и 11 пациентов с острой демиелинизацией (5 мужчин/6 женщин). Средний возраст в данных группах составил 39,2 ( $\pm 7,2$ ) и 33,7 ( $\pm 6,4$ ) лет соответственно. Группы были сравнимы по полу и возрасту ( $p > 0,05$ ). Анализ развернутых биохимических показателей представлен в таблице 1.

Таблица 1

**Анализ развернутых биохимических показателей в ЦСЖ в группе ЛАМВЭ и группе сравнения**

Оцениваемые параметры	ЛАМВЭ	Острая демиелинизация	Уровень значимости (p)
Пациенты	11	11	
Возраст, лет	39,2 ( $\pm 7,2$ )	33,7 ( $\pm 6,42$ )	P=0,08
Мужчины/Женщины	3/8	5/6	p>0,05
Каппа-цепи, ЦСЖ, мкг/мл	0,21 ( $\pm 0,22$ )	0,20 ( $\pm 0,21$ )	P=0,7
Лямбда-цепи, ЦСЖ, мкг/мл	0,32 ( $\pm 0,59$ )	0,46 ( $\pm 0,93$ )	P=0,5
ФНФТ, ЦСЖ нг/мл	0,33 ( $\pm 0,19$ )	0,34 ( $\pm 0,37$ )	P=0,1
Альбумин ЦСЖ, мг/л	443,7 ( $\pm 321,04$ )	311,64 ( $\pm 149,27$ )	P=0,6
IgG ЦСЖ, мг/л	93,9 ( $\pm 86,3$ )	45,5 ( $\pm 18,1$ )	P=0,1
Альбумин сыворотка, г/л	57,98 ( $\pm 9,19$ )	45,59 ( $\pm 5,57$ )	P=0,007
IgG сыворотка, г/л	14,35 ( $\pm 5,88$ )	7,52 ( $\pm 1,78$ )	P=0,002
Альбуминовый индекс	7,79 ( $\pm 5,76$ )	6,63 ( $\pm 1,82$ )	P=0,9
Индекс IgG	0,91 ( $\pm 0,36$ )	0,9 ( $\pm 0,31$ )	P=0,9

*Все данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение.*

Уровень каппа-цепей в ЦСЖ находился в пределах нормальных значений и не различался между группами ( $p=0,7$ ). Для лямбда-цепей разницы выявлено также не было, однако в обеих группах их уровень был повышен по сравнению с контрольными значениями.

Уровень ФНФТ не отличался в обеих группах и находился в пределах референсных значений, что свидетельствует об отсутствии нейронального повреждения при ЛАМВЭ и других формах острой демиелинизации.

Уровень альбумина и IgG в ЦСЖ не отличался между группами, тогда как уровень IgG и альбумина в сыворотке был значимо выше в группе ЛАМВЭ ( $p=0,002$  и  $0,007$  соответственно), что может свидетельствовать о более выраженной активации общего иммунного ответа при ЛАМВЭ по сравнению с другими видами острой демиелинизации.

Иммуноглобулиновый и альбуминовый индексы значимо не различались между группами, однако в обеих группах индексы были повышены относительно референсных значений, что может указывать на увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера.

Итак, при ЛАМВЭ чаще встречается 1 тип синтеза ОГ-АТ, однако также достаточно часто, в нашем наблюдении в 40,5 % случаев, может наблюдаться наличие 2 типа синтеза как с трансформацией, так и без трансформации в РС. При ЛАМВЭ выявлено повышение уровня воспалительных маркеров как в сыворотке крови (альбумин, IgG), так и в ЦСЖ (альбуминовый и иммуноглобулиновый индекс, лямбда-цепи иммуноглобулинов) относительно референсных значений. Уровни альбумина и IgG сыворотки крови были значимо выше в группе ЛАМВЭ. Для других биохимических показателей значимых диагностических различий между группой ЛАМВЭ и группой острой демиелинизации (ОРЭМ и дебют РС) выявлено не было, что обуславливает необходимость подходить к дифференциальной диагностике указанных состояний с высокой осторожностью.

### **Список литературы:**

1. Белова А. Н., Соловьева В. С., Растеряева М. В., Белова Е. М. Мультифокальная воспалительная левамизол-индуцированная лейкоэнцефалопатия//Ж. Неврол Психиатр Им. С.С. Корсакова. — 2020. — Т. 120, № 7. — С. 89—96.
2. Михайлова С. А., Золотухина Л. А., Андреева Н. А. Анализ регионального рынка противоглистных лекарственных препаратов//Соврем. пробл. науки и образ. — 2015. — № 3. — С. 274—278.
3. Hook C. C., Kimmel D. W., Kvols L. K. et al. Multifocal inflammatory leukoencephalopathy with 5-fluorouracil and levamisole//Ann Neurol. — 1992. — Vol. 31, N 3. — P.262—627.

4. Kim Y., Hwang Y.-H., Kang D.-H. et al. The diagnostic role of diffusion tensor imaging in multifocal inflammatory leukoencephalopathy// *Int J Neurosci.* — 2013. — Vol. 124, N 5. — P.383—386.
5. Poesen K., Van Damme P. Diagnostic and Prognostic Performance of Neurofilaments in ALS [WEB resource]// *Front Neurol.* — 2019. — Vol. 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2018.01167/full>
6. Tibbling G., Link H., Onman S. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values// *Scand. J. din. Lab. Invest.* — 1977. — Vol. 37, N 5. — P.385—390.
7. Vosoughi R., Schmidt B. J. Multifocal leukoencephalopathy in cocaine users: a report of two cases and review of the literature [WEB resource]// *BMC Neurol.* — 2015. — Vol. 15, N 1. — 208. <https://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-015-0467-1>
8. Wienholt L., Kane A., Adelstein S. et al. Cerebrospinal fluid free light chain quantitation is a specific biomarker for inflammatory neurological disorders in a paediatric patient cohort// *Pathology.* — 2021. — Vol. 53, N 6. — P.753—758.
9. Wu V.-C., Huang J.-W., Lien H.-C. et al. Levamisole-Induced Multifocal Inflammatory Leukoencephalopathy// *Medicine.* — 2006. — Vol. 85, N 4. — P.203—213.

## **LABORATORY MARKERS IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF LEVAMISOLE-ASSOCIATED MULTIFOCAL INFLAMMATORY ENCEPHALOPATHY AND OTHER FORMS OF ACUTE DEMYELINATION**

**Volik A. V.<sup>1,2</sup>, Averchenkov D. M.<sup>3</sup>**

1. Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Moscow, Russia;

2 Bujanov Moscow City Clinical Hospital, Moscow, Russia

3 Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M. V. Lomonosov Moscow State University

**Abstract:** In this study, we analyzed laboratory data of patients with levamisole-associated multifocal inflammatory encephalopathy (LAMIE) and other forms of acute demyelination (acute disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis). The following parameters were evaluated: the levels of protein and cytosin in the cerebrospinal fluid, intrathecal oligoclonal bands, immunoglobulin kappa-chains and lambda-chains, phosphorylated neurofilament

heavy chains, as well as albumin and immunoglobulin indices. We revealed a higher level of serum albumin and IgG in LAMIE patients. Oligoclonal bands synthesis type 2 prevailed in the group of acute demyelination, while in most patients with LAMIE, oligoclonal bands synthesis type 1 synthesis was detected. However, in case of LAMIE synthesis type 2 without MS transformation can also be observed. Other biochemical markers were similar between groups but IgG and albumin index, and free lambda light chain were higher in LAMIE compared to normal reference.

**Keywords:** encephalopathy, levamisole, acute multiple encephalomyelitis, demyelination

# ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗНОСТИ МОЗГА И СЕТИ ПАССИВНОЙ РАБОТЫ МОЗГА (DEFAULT MODE NETWORK, DMN) В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-53-56

**Ганичева А. А., Фомина Е. В.**

Институт медико-биологических проблем РАН  
*e-mail: annagancheva16@gmail.com*

**Аннотация:** Условия космического полёта оказывают значительное влияние на двигательную систему и управление движениями, а также на когнитивные функции. Исследования мозга методом функциональной магнитно-резонансной томографии указывают на то, что в ходе полёта могут происходить изменения в работе сети пассивной работы мозга. Эта функциональная нейронная сеть активна в спокойном состоянии, когда человек не сфокусирован, расслаблен, при этом эффективность её работы отражается на качестве выполнения когнитивных задач в активном режиме. Изучение сети пассивной работы мозга актуально для космической физиологии, медицины, психологии, так как позволяет расширить понимание изменений, происходящих в мозге во время полёта, а также сделать выводы о возможности успешной операторской деятельности в дальних миссиях. В данной работе представлены результаты исследований функциональных нейронных сетей и, главным образом, сети пассивной работы мозга, в наземных моделях невесомости и реальных космических полётах.

**Ключевые слова:** сеть пассивной работы мозга, фМРТ, космический полёт

Функциональные нейронные сети головного мозга — это совокупность нейронных взаимодействий между различными структурами мозга, которые совместно активируются в различных состояниях. Работая совместно, дополняя друг друга, они составляют структурную основу психических процессов, а также они служат для регуляции, слаженной работы систем органов и всего организма в целом. Понимание работы функциональных нейронных сетей помогает установить механизмы различных изменений при действии на организм факторов среды, механизмы управления реакциями,

которые, в конечном счете, образуют сложные поведенческие проявления и обуславливают изменения в них. Это особенно важно для тех ситуаций, в которых значима способность человека выполнять трудные задачи, контролировать свои действия — например, в экстремальных ситуациях, в ситуации управления составными механизмами — пилотирования самолёта или космического аппарата.

Default mode network (DMN), сеть пассивной работы мозга — функциональная нейронная сеть, которая работает в спокойном состоянии, без фокусировки внимания на выполнении какой-либо задачи, «по умолчанию», в покое, без выполнения когнитивных задач. Её активность связывают с автобиографической памятью, поиском, мониторингом и другими видами внутреннего мышления, с расслабленным состоянием тихого отдыха, мечтательностью, блужданием ума или независимыми от стимулов мыслями [1], с восстановлением и консолидацией эпизодической памяти, сознательной репрезентацией информации в виде ментальных образов, планированием будущего, формированием желаний.

Критична роль DMN в организации и реализации рефлексов (может влиять импульсивность движений). Также, работа сети пассивного режима работы мозга может изменяться в условиях проявления болезни движения. Степень выраженности болезни движения коррелировала с различиями в связности между частью DMN правой супрамаргинальной извилиной (область 40 по Бродману) и правой островковой долей, отвечающей за обработку мультисенсорной информации и контроль моторики [2]. Как известно, космонавты ощущают симптомы болезни движения при переходе к невесомости (тошнота, рвота, головокружение, головная боль, дезориентация в пространстве) — исследования DMN при моделировании болезни движения помогут пролить свет на изменения работы мозга в ходе полёта.

Исследования, в которых описаны изменения непосредственно сети пассивной работы мозга, проведены, главным образом в наземных моделях невесомости — при антиортостатической гипокинезии (АНОГ), а также в сухой иммерсии. Так, в модели bedrest (в 7-дневном эксперименте, —6°, 20 испытуемых) обнаружено усиление связей между лимбической системой и корой больших полушарий, изменения в DMN. [3] В частности, в ходе АНОГ усиливалась связь между ретроспленальной корой и гиппокампом, что, по мнению авторов, может говорить о работе механизмов адаптации к новым условиям, так как ретроспленальная кора (26, 29, 30 поля по Бродману,

часть DMN) участвует в хранении пространственной информации, в эпизодической памяти. Также, обнаружено изменение связности между верхней лобной извилиной и париетальными и затылочными областями. Вероятно, это связано с изменением слухового восприятия, а именно ориентации в пространстве по слуховым стимулам — то есть вновь наблюдаются адаптационные процессы.

В целом, исследования функционирования DMN в модели АНОГ показали, что в состоянии покоя увеличивается функциональная связность с участием соматомоторных областей, вестибулярной коры, мозжечка, островковой и поясной коры, теменных областей и таламуса. Это говорит об увеличении веса сенсорных входов, что можно связать с включением адаптационных процессов, которые позволяют приспособиться к новым условиям.

Исследования состояния DMN после действия факторов реального космического полёта достаточно редки. Тем не менее, имеющиеся результаты говорят о снижении связности между правой островковой корой и задней поясной корой (область, где конвергируют афференты от отолитовых органов и полукружных каналов), об изменениях в DMN между левым мозжечком и моторно-ассоциированными областями [4]. При этом изучение иных нейронных сетей, таких, как лобно-теменная, сеть обнаружения ключевых событий (salience network, SN), слуховая, сенсомоторная и зрительная, не показало каких-либо послеполётных изменений. Снижение связности в правой островковой коре, и также в мозжечке рассматривается как приспособительная реакция к условиям полёта. При возвращении на Землю такие изменения отражаются на точности движений, могут становиться причиной соматосенсорных проблем, нарушения координации движений, изменений восприятия движения, двигательной памяти, ориентации в пространстве, восприятия вертикали [4].

Таким образом, изучение сети пассивной работы мозга перспективно для космических исследований, так как в ходе полёта, длительного воздействия фактора невесомости именно в структурах этой сети происходят значимые изменения. Кроме того, DMN участвует в управлении движениями, а это особенно важно для дальних и продолжительных полётов с посадкой на другие космические тела. Полученных данных о работе функциональных нейронных сетей мозга недостаточно для подробного и точного прогноза изменения работы мозга в дальнем космическом полёте, поэтому требуется дальнейшее проведение исследований в этой области и отработка новых методик.

## Список литературы:

1. Andrews-Hanna J.R., Reidler J.S., Sepulcre J., Poulin R., Buckner R.L. Functional-anatomic fractionation of the brain's default network//*Neuron*. — 2010. — 65 (4). — 550—62. doi: 10.1016/j.neuron.2010.02.005. PMID: 20188659; PMCID: PMC2848443.
2. Pechenkova E., Nosikova I., Rumshiskaya A. *et al.* Alterations of Functional Brain Connectivity After Long-Duration Spaceflight as Revealed by fMRI//*Front Physiol*. — 2019. — 10. 761. doi: 10.3389/fphys.2019.00761. PMID: 31333476; PMCID: PMC6621543.
3. Zeng L.L., Liao Y., Zhou Z., Shen H., Liu Y., Liu X., Hu D. Default network connectivity decodes brain states with simulated microgravity//*Cogn Neurodyn*. — 2016. — 10 (2). — 113—120. doi: 10.1007/s11571—015—9359—8. Epub 2015 Oct 14. PMID: 27066149; PMCID: PMC4805685.
4. Demertzi A., Van Ombergen A., Tomilovskaya E. *et al.* Cortical reorganization in an astronaut's brain after long-duration spaceflight//*Brain Struct Funct*. — 2016. — 221, 2873—2876. <https://doi.org/10.1007/s00429—015—1054—3>

## CHANGES IN FUNCTIONAL CONNECTIVITY AND DEFAULT MODE NETWORK IN SPACE FLIGHT CONDITIONS

Ganicheva A. A.<sup>1</sup>, Fomina E. V.<sup>2</sup>

Institute for Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences (IBMP RAS)  
*e-mail: annaganicheva16@gmail.com*

**Abstract:** Spaceflight conditions have a significant impact on the motor system and movement control, as well as on cognitive functions. fMRI studies indicate that changes in the default mode network (DMN) may occur during the flight. This functional neural network is active in a rest state, when a person is not focused, relaxed. At the same time, the quality of its functioning is reflected in the performing cognitive tasks. The study of DMN is relevant for space physiology, medicine, and psychology. It allows us to understand the changes in the brain during a flight and draw conclusions about the possibility of successful operator activity on long-distance missions. This paper presents the results of studies of functional neural networks and, mainly, the default mode network, in ground-based models of weightlessness and real space flights.

**Keywords:** default mode network, fMRI, spaceflight



## **ВЛИЯНИЕ ОВАРИЭКТОМИИ И РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОЯВЛЕНИЕ ИМПУЛЬСИВНОГО И ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС**

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-57-62

**Груздева В. А., Зайченко М. И., Павлова И. В.,  
Брошевицкая Н., Григорьян Г. А.**

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
*e-mail: work.gruzdeva@gmail.com*

**Аннотация:** исследовали влияние эстрогена на импульсивное и депрессивно-подобное поведение у крыс. Животные, которым была проведена овариэктомия, не имели существенных отличий от контрольной группы в тестах на импульсивное поведение. Депрессивно-подобное поведение было выявлено только у овариэктомизированных животных из ЛПС группы.

**Ключевые слова:** импульсивность, стресс, воспаление, изоляция, эстроген

Овариэктомия у грызунов, является удобной моделью для оценки тревожно-депрессивных расстройств у женщин. Известно, что женщины в два раза чаще мужчин страдают депрессивными расстройствами. В то же время мужская депрессия протекает почти в два раза тяжелее и чаще заканчивается суицидом. Одной из главных причин, которая влияет на такую разницу в клинической картине тревожно-депрессивных расстройств, является функция стероидных половых гормонов, и прежде всего, эстрогенов [1].

Известно также, что стресс в раннем возрасте существенно нарушает нормальное развитие гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в результате чего повторные стрессы вызывают неадекватные реакции нейроэндокринной, иммунной, гормональной и нервной систем организма. Распространенной моделью создания провоспалительного стресса является введение бактериального липополисахарида (ЛПС) в ранний постнаталь-

ный период (3—5 дни жизни). Известно, что ранний стресс может приводить к таким заболеваниям, как наркомания и алкоголизм [2], а также развитию синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [3]. Все эти заболевания включают нарушение импульсивного поведения [3, 4, 5]. В настоящей работе мы поставили цель исследовать влияние овариэктомии и раннего провоспалительного стресса на проявления импульсивного и депрессивно-подобного поведения у взрослых крыс в сравнении с нормальными крысами обоего пола.

### **Методика.**

Новорожденные крысята линии Вистар были разделены на три большие группы. На 3—5 дни постнатального развития для создания воспалительного процесса одной группе животных подкожно вводили пополисахарид (ЛПС группа, n=45) (50 мкг/кг веса), другой — эквивалентное количество физиологического раствора (ФИЗ группа, n=53). Операция по овариэктомии была проведена в возрасте 35 дней (ОЭ). В 3-х месячном возрасте — у всех животных исследовали признаки депрессивно-подобного поведения. Проявления импульсивного поведения изучали у взрослых крыс в возрасте 6 мес. Поведение ОЭ крыс сравнивали с поведением крыс из тех же пометов — самок и самцов как в группах ЛПС, так и в группах с физиологическим раствором (ФИЗ). Импульсивность оценивали по методике delay-discounting, при которой животному предоставляется выбор между малоценным немедленным и более ценным, но отставленным по времени подкреплениями. Коэффициент импульсивности рассчитывали по формуле  $k1/(k1+k2)$ , где  $k1$  — число нажатий на педаль для получения малоценного немедленного подкрепления,  $k2$  — ценного задержанного. Предпочтение малоценного подкрепления указывает на проявление импульсивного поведения, а предпочтение ценного отсроченного-самоконтролируемого поведения. Депрессивно-подобное поведение исследовали в тестах на предпочтение сахарозы (ангедония) и «вынужденного плавания» (ТВП). В первом случае определяли объем выпитого крысой раствора сахарозы за сутки и отношение его к общему объему потребленной жидкости. Во втором тесте оценивали время зависания (неподвижного состояния) крысы при плавании в цилиндре с водой (D=20 см, высота наполнения — 30 см) за весь опыт (5 минут) и поминутно, а также число эпизодов зависания и среднюю длительность эпизодов за опыт. Для

определения уровня кортикостерона в сыворотке крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками кортикостерон методом конкурентного иммуноферментного анализа. Содержание провоспалительного интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) в сыворотке крови определяли с помощью наборов производства R&D Systems (США) согласно инструкции производителя. При статистической обработке показателей уровня кортикостерона и при статистической обработке результатов использовали программу STATISTICA 8.0, применяли дисперсионный анализ ANOVA, раздел factorial ANOVA, Repeated measures ANOVA. Анализировали влияние факторов ПОЛ, ГРУППА, ВОЗРАСТ.

### **Результаты.**

Исследование импульсивного поведения овариэктомированных животных, а также нормальных самцов и самок не выявило значимых различий между ними по уровню проявления импульсивного поведения, о чем свидетельствует недостоверность влияния фактора ГРУППЫ ( $F(2, 49)=1.7283$ ,  $p=0.188$ ). В то же время показатели импульсивности у ОЭ животных ( $0.51\pm 0.08$ ) были выше, чем у нормальных самок ( $0.44\pm 0.05$ ) и самцов ( $0.35\pm 0.04$ ) (рис. 1). Ранний провоспалительный стресс не оказал существенного влияния ( $0.47\pm 0.06$  у ЛПС) и ( $0.51\pm 0.08$  у ФИЗ) на проявление импульсивности. Фактор СТРЕСС ( $F(1,24)=0.166$ ,  $p=0.69$ ) у овариэктомированных животных и  $F(2,49)=1.728$ ,  $p=0.19$  у всех групп ЛПС животных ( $0.47\pm 0.06$  у ОВ,  $0.43\pm 0.05$  у самок,  $0.45\pm 0.03$  у самцов).

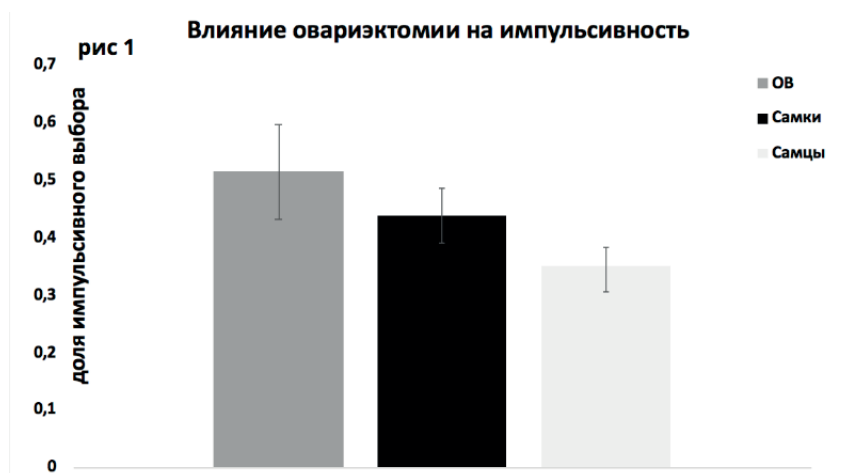
При исследовании влияния овариэктомии на депрессивноподобное поведение было показано, что процент потребленного раствора сахарозы от общего объема выпитой жидкости был меньше ( $p<0.05$ ) у ОЭ самок в группе ЛПС, чем у нормальных самцов и самок этой группы (Рис. 2). В тесте вынужденного плавания как у ОЭ, так и нормальных самок, время зависания было меньше, чем у самцов на 4-й и 5-й минутах теста. Существенных различий по времени зависания между ОЭ и самками обнаружено не было.

Биохимический анализ крови показал, что во всех группах крыс как до, так и после теста вынужденного плавания у самок уровень кортикостерона был выше, чем у самцов. У ОЭ самок уровень кортикостерона в ФИЗ группах также был выше, чем у самцов, однако в ЛПС группах уровень кортикостерона не отличался

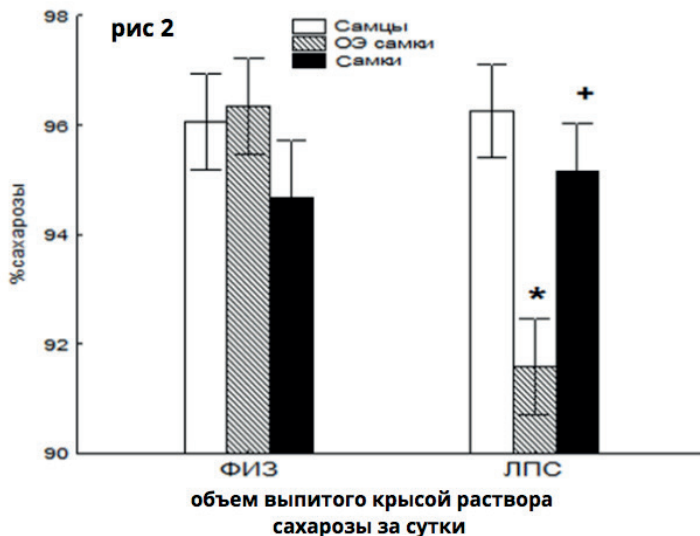
от наблюдаемого у самцов. При анализе уровня ИЛ-1 $\beta$  по суммарным данным до и после ТВП не было обнаружено влияния фактора ПОЛ ( $F(2,129)=0.88, p=0.417$ ), ГРУППА ( $F(1,129)=3.29, p=0.072$ ) и ВОЗДЕЙСТВИЕ ( $F(1,129)=1.10, p=0.296$ ). Отсутствие различий по уровню ИЛ-1 $\beta$  наблюдалось между всеми рассмотренными группами.

### Заключение.

Таким образом, в наших экспериментах овариэктомия и ранний провоспалительный ЛПС стресс не оказал существенного влияния на проявление импульсивного поведения у взрослых животных в модели delay discounting. ОЭ приводила к депрессивно-подобному поведению, которое проявлялось только у животных ЛПС группы. ОЭ уменьшала различия по уровню кортикостерона между самцами и самками у животных ЛПС группы. ОЭ оказала наибольшее влияние на животных после раннего провоспалительного стресса.



*Рис. 1. Влияние овариэктомии на импульсивное поведение. Серые столбики — ОЭ животные, темные — нормальные самки и белые — самцы. По вертикальной оси — коэффициент импульсивности (1—100% импульсивные).*



**Рис. 2.** Потребление сахарозы. По вертикальной оси — отношение потребления сахарозы к общему потреблению жидкости в %. \* — различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) между ФИЗ и ЛПС животными, + — между ОВ и нормальными самками. Остальные обозначения как на рис. 1

### Список литературы:

1. Григорьян Г. А. Овариоэктомия как модель тревожно-депрессивных расстройств. //Нейрохимия. 2022, 39 (1):1—14.
2. Andersen S. L. and Teicher M. H. Desperately driven and no brakes: Developmental stress exposure and subsequent risk for substance-abuse//Neurosci. Biobehav. Rev., 2009. 33:516—524
3. Bock J., Breuer S., Poeggel G., Braun K. Early life stress induces attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD)-like behavioral and brain metabolic dysfunctions: functional imaging of methylphenidate treatment in a novel rodent model//Brain Struct. Funct. 2017. 222 (2):765—780.
4. Everitt B. J., Robbins T. W. From the ventral to the dorsal striatum: devolving views of their roles in drug addiction//Neurosci Biobehav Rev. 2013. 37 (9 Pt A):1946—54.
5. Hosking J. and Winstanley C. A. Impulsivity as a mediating mechanism between early-life adversity and addiction//Behav. Neurosci. 2011. 125:681—686.

# EFFECT OF OVARECTOMY AND EARLY PRO-INFLAMMATORY STRESS ON THE MANIFESTATION OF IMPULSIVE AND DEPRESSION-LIKE BEHAVIOR IN ADULT RATS

Gruzdeva V. A., Zaichenko M. I., Pavlova I. P.,  
Broshevitskaya N. D., Grigoryan G. A.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** we studied the effect of estrogen on impulsive and depressive-like behavior in rats. Animals that underwent ovariectomy did not differ significantly from the control group in tests for impulsive behavior. Depressive-like behavior was found only in ovariectomized animals from the LPS group.

**Keywords:** impulsivity, stress, inflammation, isolation, estrogen

# ВЫЗВАННАЯ СИНХРОНИЗАЦИЯ/ ДЕСИНХРОНИЗАЦИЯ ЭЭГ АКТИВНОСТИ ПРИ ПЕРЕКЛЮЧЕНИИ И УДЕРЖАНИИ ВИЗУАЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВНИМАНИЯ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-63-68

Каримова Е. Д., Гуляева А. С.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*E-mail:* [ag@commontech.ru](mailto:ag@commontech.ru)

**Аннотация:** Поддержание и переключение внимания — это фундаментальные операции контроля восприятия, которые модулируются корковыми и подкорковыми сетями. Нисходящая нейронная сеть внимания осуществляет модуляцию активности зрительных областей во время переключения зрительного внимания. Исследование направлено на выявление особенностей спектральных характеристик нисходящей сети внимания при переключении и удержании визуального пространственного внимания у молодых людей при выполнении задачи Познера. В качестве метода исследования использовалась регистрация ЭЭГ.

**Ключевые слова:** пространственное внимание, переключение внимания, частотно-временной анализ, вызванная синхронизация/десинхронизация

Внимание — один из ключевых механизмов взаимодействия организма с окружающей средой, оптимизирующий процессы зрительной обработки объектов окружающего мира и моторных реакций на его изменения. Внимание интересовало ученых, мыслителей и философов всех времен. При этом с точки зрения нейрофизиологии понимание нейронных механизмов, лежащих в основе удержания и перемещения внимания, окончательно еще не сформировалось.

С развитием нейрофизиологических инструментальных методов с 1990-х годов начали появляться первые системообразующие работы, в которых наблюдается попытка привести эмпирические данные к одной теории. Одна них получила значимое распространение среди ученых — теория трех сетей внимания Познера и Пе-

терсона [1]. Согласно авторам, внимание представляет собой комплексный процесс, включающий разные функциональные области коры и подкорковые структуры. Первая сеть — сеть пробуждения (англ. “alerting”) отвечает за обретение и сохранение состояния предупреждения. Она включает систему регуляции норадреналина и активации голубого пятна, а также лобную и теменную доли. Сеть ориентирования (англ. “orienting”) обеспечивает переориентацию внимания на сенсорный стимул, которая вовлекает вентральную и дорсальную лобную и теменную доли, а также подкорковые структуры — верхнее двуххолмие и подушку таламуса. Сеть исполнительного контроля (англ. “executing”) регулирует волевой ответ на стимул, активирует переднюю поясную кору, островковую долю и нижележащее полосатое тело.

На сегодняшний день данная теория «разрослась» и теперь представляет собой не только три нейронные сети внимания: сеть пробуждения, сеть ориентирования и сеть исполнительного контроля, но и их составляющие. Так, Корбетта и Шульман [2] предложили собственную парадигму, включенную в сети ориентирования внимания и представляющую собой: восходящую (или вызванную стимулом) и нисходящую (ориентированную на цель) сеть. В свою очередь, Дозенбах [3] предложил свою теорию с двумя отдельными, но взаимодействующими друг с другом сетями исполнительного контроля по Познеру: лобно-затылочную и поясно-оперкулярную сети, отвечающие за выполнение каждой подзадачи в отдельности и всего задания целиком соответственно.

В представленной работе мы сосредоточились на изучении мозговой активности нисходящей нейронной сети внимания, входящей в сеть ориентирования по Познеру и Петерсону. Целью работы является выявление различий активации нисходящей сети внимания при переключении и удержании визуального пространственного внимания. Для достижения поставленной цели были выполнены следующие задачи:

- Разработать и реализовать экспериментальную парадигму для предъявления участникам исследования задачи Познера;
- Провести ЭЭГ-эксперимент для регистрации мозговой активности при выполнении задачи Познера;
- Произвести анализ вызванной синхронизации/десинхронизации активности ЭЭГ;
- Выявить различия вызванной активности ЭЭГ при переключении и удержании визуального пространственного внимания.



## Методика.

Для выявления особенностей мозговой активности при переключении визуального пространственного внимания использовалась регистрация 64-канального ЭЭГ и анализ вызванной синхронизации и десинхронизации активности нисходящей сети внимания в различных частотных диапазонах после предъявления двух типов стимульного материала.

Регистрация ЭЭГ (Brain Products GmbH, Германия) осуществлялась при выполнении респондентами (23 респондента, М: Ж:) задачи Познера — как можно быстрее и правильнее отреагировать на отклонения двух решеток Габора, расположенных справа и слева от центрального крестика (угол отклонения 30 градусов в каждую из сторон). До целевого стимула участникам исследования предъявлялись подсказки двух цветов (длительность предъявления — 150 мс), указывающие на целевую решетку Габора. Серия состояла из 2, 3 и 4 подсказок подряд с временным промежутком от 300 до 400 мс. Респондентам предъявлялись подсказки двух типов: удержание (подсказки появлялись только с одной стороны) и переключение (подсказки предъявлялись с разных сторон). В среднем между серией подсказок и целевым стимулом временной промежуток составлял от 1 до 2 секунд. Всего каждому участнику исследования предъявлялось 264 серии подсказок и целевых стимулов: 161 серия с подсказками типа «переключение» и 103 серии с подсказками типа «удержание» (Рис 1.).

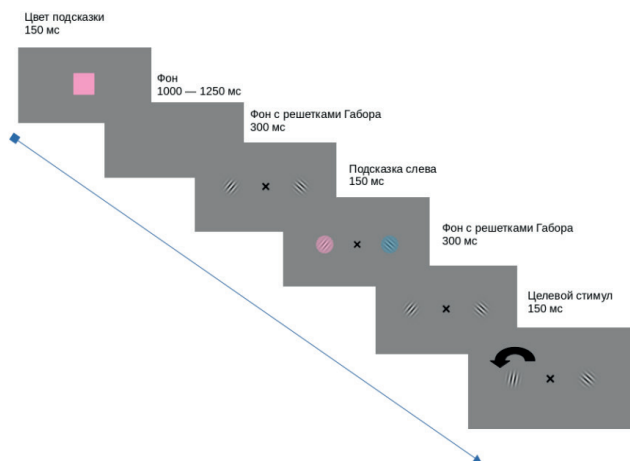


Рис. 1. Экспериментальная парадигма исследования: задача Познера

При каждом предъявлении стимульного материала участников исследования просили удерживать направление взгляда на центральном крестике, что фиксировалось с помощью системы ай-трекинга (Tobii 4С).

Обработка ЭЭГ производилась с использованием программного обеспечения на языке Python с использованием библиотеки MNE. При обработке ЭЭГ был использован метод независимых компонент (ICA) для выявления и удаления артефактных компонент. Для выявления особенностей мозговой активности после предъявления серии подсказок двух типов был проведен частотно-временной анализ с использованием вейвлета Морле. В качестве фоновой активности для анализа вызванной синхронизации/десинхронизации альфа-диапазона ЭЭГ был взят временной фрагмент состояния покоя от –600 до –100 мс до начала предъявления каждой серии подсказок. Для анализа вызванной синхронизации/десинхронизации рассматривались отведения FC3/FC4, F3/F4 и P3/P4, регистрирующие активность во фронтальном глазодвигательном поле, дорсолатеральной префронтальной коре и внутритеменной борозде. В качестве статистического анализа различий вызванных мощностей ЭЭГ при удержании и переключении внимания был использован метод кластерного анализа.

Выборка исследования составила 23 человека. Критерии включения: возраст от 18 до 28 лет. Критерии исключения: травмы головы, обмороки, судороги, постоянные головные боли, серьезные неврологические расстройства, приём нейролептических препаратов, высокий уровень депрессии (более 30 по шкале Бека) и тревожности (более 45 по шкале Спилбергера).

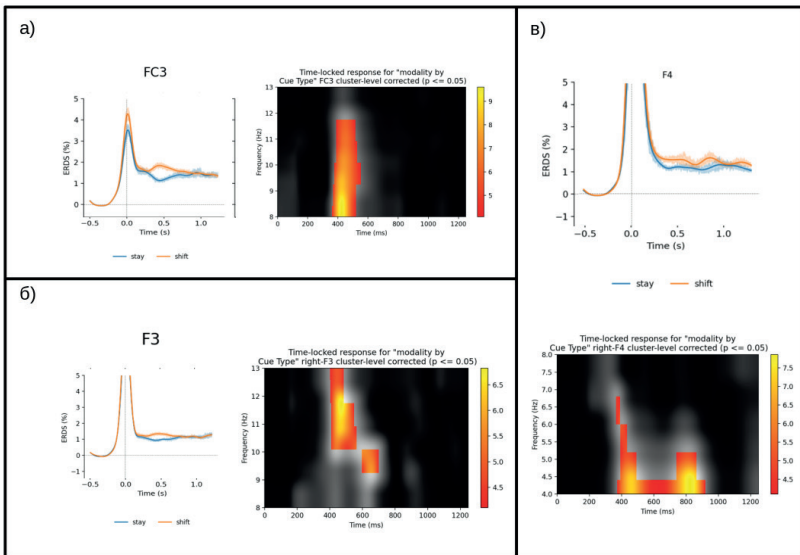
## **Результаты.**

Была проанализирована вызванная синхронизация/десинхронизация активности во фронтальных и теменных отведениях после предъявления двух типов подсказок: переключающих и удерживающих внимание. Также в анализе учитывалась сторона предъявления подсказок, а именно: латерализация последней подсказки типа «переключение» и всех подсказок типа «удержание».

Результаты кластерного анализа продемонстрировали:

- значимые различия вызванной активности в отведении FC3 в частотном диапазоне альфа-ритма для латентности 400—500 мс после предъявления стимула. После подсказок типа «переключение» наблюдается вызванная синхрониза-

- ция, после подсказок типа «удержание» — десинхронизация альфа-мощности (статистическая значимость в диапазоне 8—10 Гц,  $p=0.044$ );
- значимые различия вызванной активности в контралатеральном отведении F3 при предъявлении подсказок с правой стороны в частотном диапазоне альфа-ритма (статистическая значимость в диапазоне 11—13 Гц). Наблюдается вызванная синхронизация после подсказок типа «переключение», вызванная десинхронизация — после подсказок типа «удержание» в интервале 400—600 мс после предъявления стимула ( $p = 0.034$ );
  - значимые различия вызванной активности в ипсилатеральном отведении F4 при предъявлении подсказок с правой стороны в частотном диапазоне тета-ритма (статистическая значимость в диапазоне 4—5 Гц) в двух временных точках — 450 мс и 820 мс после предъявления стимула. Степень синхронизации активности после подсказок типа «переключение» значимо выше синхронизации активности после подсказок типа «удержание» ( $p = 0.042$ ).



**Рис. 2.** Результаты исследования вызванной синхронизации-десинхронизации ЭЭГ при переключении и удержании визуального пространственного внимания

## **Заключение.**

Таким образом, было выявлено статистически значимое отличие вызванной синхронизации альфа-ритма в левополушарной области фронтального глазодвигательного поля и дорсолатеральной префронтальной коры после удержания и десинхронизации активности после переключения визуального пространственного внимания в частотном диапазоне альфа-ритма. Кроме того, активность в тета-диапазоне после подсказок разного типа значимо отличается в ипсилатеральном отведении F4.

## **Список литературы:**

1. Posner M.I., S.E. Petersen. The Attention System of the Human Brain//Annual Review of Neuroscience. 1990. V. 13. № 1. P. 25—42.
2. Corbetta M., G.L. Shulman. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain//Nature Reviews Neuroscience. 2002. V. 3. № 3. P. 201—215. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.037>
3. Dosenbach N.U.F., D.A. Fair, A.L. Cohen. A dual-networks architecture of top-down control//Trends in Cognitive Sciences. 2008. V. 12. № 3. P. 99—105

# **EVENT-RELATED SYNCHRONIZATION/ DESYNCHRONIZATION OF EEG ACTIVITY WHEN SHIFTING AND HOLDING VISUAL SPATIAL ATTENTION**

**Каримова Е. Д., Гуляева А. С.**

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** Maintaining and shifting attention are fundamental operations of perception control that are modulated by cortical and subcortical networks. Dorsal attentional neural network (DAN) modulates the activity of visual areas during shifting of visual attention. The study is aimed at identifying the features of the spectral characteristics of DAN when shifting and retaining visual spatial attention in young people while performing the Posner task. EEG registration was used as a research method.

**Keywords:** spatial attention, attention switching, time-frequency analysis, induced synchronization/desynchronization

# ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ БЛЕДНОГО ШАРА У ПАЦИЕНТОВ С DYT1

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-69-71

Джалагония И. З.<sup>1</sup>, Усова С. В.<sup>1</sup>, Гамалея А. А.<sup>2</sup>,  
Томский А. А.<sup>2</sup>, Седов А. С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики имени  
Н. Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии  
имени академика Н. Н. Бурденко, Москва, Россия

*E-mail: indiko.dzh@gmail.com*

**Аннотация:** Дистония — двигательное расстройство, характеризующееся непроизвольными мышечными сокращениями. Патологические механизмы, приводящие к подобной симптоматике, остаются неизвестны. У некоторых пациентов с дистонией обнаружена мутация в гене DYT1. DYT1 мутация приводит к дисфункции белка торзина А, но эффект на нейронную активность бледного шара неизвестен. Целью данного исследования был сравнительный анализ электрофизиологической активности нейронов бледного шара у пациентов с DYT1 дистонией и идиопатической дистонией.

**Ключевые слова:** бледный шар; дистония; DBS; DYT1; микроэлектродная регистрация

## Введение.

На сегодняшний день нет понимания патофизиологических механизмов, приводящих к дистонии. Дополнительную сложность в исследовании дистонии вносят многочисленные мутации, ассоциированные с данным заболеванием. Одной из таких мутаций является DYT1 мутация, приводящая к некорректной работе белка торзина (TOR1A). Влияние данной мутации на активность бледного шара человека неизвестно.

Работа направлена на выявление изменений нейронной активности бледного шара человека, уточнение имеющихся и разработка новых гипотез, объясняющих механизмы влияния мутации DYT1 на активность базальных ганглиев.

### **Методика.**

Данные были получены во время стереотаксических операций по вживлению электродов для глубокой стимуляции мозга. Во время операций мы получали запись активности одиночных нейронов во внешнем и внутреннем сегменте бледного шара у 5 пациентов с DYT1 и 6 пациентов без DYT1. Всего была проанализирована активность 674 нейронов. С помощью метода иерархической кластеризации нейроны были разделены на 3 группы: паузные, тонические и пачечные. [1] Были определены частота разрядов, коэффициент вариации, индекс асимметрии и другие параметры нейронной активности.

### **Результаты.**

Мы показали, что в обоих сегментах бледного шара была обнаружена сниженная частота разрядов и увеличение межпачечного интервала в пачечных и паузных нейронах. В тонических нейронах значимых различий не было обнаружено. Также было показано, что в отличие от контрольной группы у пациентов с мутацией DYT1 нейронная активность внутреннего и внешнего бледного шара была представлена нейронами с одинаковыми характеристиками импульсной активности.

### **Заключение.**

Мы показали снижение активности нейронов в обоих сегментах бледного шара, что указывает на общий для этих структур патологический очаг, которым может быть стриатум. [2] Мы связываем уменьшение специфичности ядер с доминирующим ингибирующим влиянием стриатума, на фоне которого остальные входящие сигналы в бледный шар становятся менее значимыми.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 18—15—00009), а также при частичной поддержке РФФИ (грант 20—015—00438).*

### **Список литературы:**

1. V. Myrov, A. Sedov, A. Tomskiy, L. Myrova, and E. Belova, “A new approach for estimation of spiketrain patterns in basal ganglia,” *Prog. Brain Res.*, vol. 249, pp. 321—325, 2019.
2. M. Scarduzio, C.N. Zimmerman, K.L. Jaunarajs, Q. Wang, D.G. Standaert, and L.L. McMahon, “Strength of cholinergic tone dictates the polarity of dopamine D2 receptor modulation of stri-

atal cholinergic interneuron excitability in DYT1 dystonia,” *Exp. Neurol.*, vol. 295, pp. 162—175, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.expneurol.2017.06.005.

## CHANGES IN ACTIVITY IN GLOBUS PALLIDUS IN DYT1 PATIENTS

Dzhalagoniya I. Z.<sup>1</sup>, Usova S. V.<sup>1</sup>, Gamaleyeva A. A.<sup>2</sup>,  
Tomskiy A. A.<sup>2</sup>, Sedov A. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics Russian Academy of Science, Moscow, Russia

<sup>2</sup> N. N. Burdenko National Medical Research Center for Neurosurgery, Moscow, Russia

**Abstract:** Dystonia is a motor disorder characterized by involuntary muscle contractions leading to a pathological posture, and often accompanied by dystonic tremor. The pathophysiological mechanisms leading to such symptoms remain unknown. Some patients with dystonia have a mutation in the DYT1 gene. The DYT1 mutation leads to dysfunction of the torsinA protein, resulting in increased activation of striatum neurons that suppress the globus pallidus. The aim of this study was a comparative analysis of the neuronal activity of globus pallidus in patients with DYT1 dystonia and idiopathic dystonia.

**Keywords:** globus pallidus; dystonia; DBS; DYT; microelectrode registration

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АПТАМЕРОВ U2 И GR-GOL1 НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА INVITRO

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-72-75

Дзариева Ф. М.<sup>1</sup>, Павлова С.А.<sup>1</sup>, Самойленкова Н. С.<sup>2</sup>,  
Павлова Г. В.<sup>1,2,3</sup>

1 ФГБУН ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия

2 НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко, Москва, Россия

3 Первый МГМУ имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

*E-mail: dz.fatima@mail.ru*

**Аннотация:** Патологические состояния опухолевых клеток головного мозга, которые сопровождаются бесконтрольным делением, приводят к различным новообразованиям. Как правило, такие новообразования плохо поддаются современным методам лечения, особенно наиболее агрессивная форма — глиобластома. Данная работы была направлена на оценку антипролиферативного потенциала аптамеров, специфичных кEGFRinvitro, с использованием клеток глиобластомы человека.

**Ключевые слова:** аптамер; мультиформная глиобластома; пролиферация; EGFR

### **Введение.**

Злокачественные новообразования нервной системы в настоящее время являются одной из наиболее остро стоящих проблем в вопросах здравоохранения человека. Первичные опухоли (ПО) ЦНС представляют собой ряд патологических образований, имеющих определенное развитие, отражающее последовательное накопление генетических повреждений, которые приводят к нарушению регуляции различных сигнальных путей [1]. Более 70 % от всех ПО ЦНС составляют глиомы, а наиболее агрессивным и злокачественным типом глиомы является глиобластома [2]. В связи с несущественной эффективностью современных методов лечения глиобластомы, остро стоит вопрос о разработке новых подходов к терапии. Одним из наиболее перспективных подходов является использование ап-



тамеров как таргетных молекул, обладающих высокой специфичностью к определенным маркерам клеток глиобластомы.

EGF (эпидермальный фактор роста) участвует в процессах пролиферации, миграции, дифференцировки и выживания всех типов клеток центральной нервной системы. Сверхэкспрессия рецептора EGF (EGFR) была обнаружена во многих типах опухолей и она, как было показано, связана с устойчивостью опухолевых клеток к химио, радио- и/или гормональной терапии. Достаточно часто в опухолях наблюдается мутация данного рецептора, особенно во внеклеточных доменах и доменах тирозинкиназы [3], которая коррелирует с усилением или удлинением передачи сигналов EGFR. Такая аномальная передача сигналов приводит не только к усилению пролиферации и ингибирования апоптоза в опухолевых клетках, но также к усилению инвазии и ангиогенеза [4].

В случае глиобластомы амплификация EGFR в большинстве случаев сопровождается перестройкой генов. Такие изменения включают в себя делецию определенных экзонов или частей экзонов. Одним из наиболее часто (50—60 %) обнаруживаемых вариантов в клетках глиобластомы является EGFR vIII [5,6]. EGFR vIII — положительные опухоли связаны с плохим прогнозом и более короткой продолжительностью жизни.

Для данного исследования был отобран ДНК-аптамер U2, обладающий специфичностью к мутантной форме рецептора EGF — EGFRvIII [7], а также был произведен синтез модифицированного аптамера U2, который является укороченной версией предшественника, но с сохранением высокой специфичности, благодаря сохранению центра связывания, он получил название GR-Gol1.

### **Методика.**

В экспериментах использовалась клеточная культура глиобластомы человека, полученная из послеоперационного материала, относящаяся к Grade IV и типу IDH1- (положительная ассоциация с агрессивностью и более коротким периодом выживания после постановки диагноза) — G01. Данная культура характеризуется высокой экспрессией EGFR.

Было проведено иммуноцитохимическое и аптоцитохимическое окрашивание клеток культуры глиобластомы человека G01 антителами к EGFR и отобранными аптамерами (U2 и GR-Gol1).

Была проведена оценка антипролиферативных свойств отобранных аптамеров (U2 и GR-Gol1) при использовании MTS-теста

и клеточного анализатора в реальном времени. MTS-исследование проводилось через 72 часа после добавления аптамеров в трех разных концентрациях (5,10 и 20 мкМ). На клеточном анализаторе оценивалось изменение клеточного индекса в течение 140 часов после добавления аптамеров.

### **Результаты.**

В процессе иммуноцитохимического и аптоцитохимического окрашивания клеток культуры глиобластомы человека G01 с последующей визуализацией была продемонстрирована эффективность связывания отобранных аптамеров U2 и GR-Gol1 с целевыми молекулами-мишенями: с EGFR и его мутантной формой EGFR vIII.

По результатам MTS-теста на клетках культуры глиобластомы человека G01 был продемонстрирован антипролиферативный эффект аптамеров U2 и GR-Gol1 в трех разных концентрациях (5,10 и 20 мкМ), стоит отметить, что аптамер GR-Gol1 показывает более выраженный антипролиферативный эффект в меньших концентрациях.

Результаты клеточного анализатора аналогичны результатам MTS-теста. Показан антипролиферативный потенциал отобранных аптамеров, который более выражен у аптамера GR-Gol1.

### **Заключение.**

Был продемонстрирован антипролиферативный эффект ДНК аптамера U2 и его модифицированной формы-аптамера GR-Gol1. Аптамер GR-Gol1 снижает пролиферативную активность клеток глиобластомы человека в концентрации 5 мкМ с такой же эффективностью, которую демонстрирует аптамер U2 в концентрации 20 мкМ. Также аптамер GR-Gol1 продемонстрировал высокую конкурентоспособность связывания с мутантной формой EGFR — EGFRvIII. Полученные результаты показывают потенциальную эффективность аптамеров в дальнейшей терапии и визуализации опухолевых новообразований головного мозга.

### **Список литературы:**

1. Kristensen B. W. et al. Molecular pathology of tumors of the central nervous system//Ann. Oncol. 2019. Vol. 30, № 8. P. 1265—1278.
2. Thakkar J. P. et al. Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma//Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2014. Vol. 23, № 10. P. 1985—1996.

3. Purba E., Saita E., Maruyama I. Activation of the EGF Receptor by Ligand Binding and Oncogenic Mutations: The “Rotation Model”// *Cells*. 2017. Vol. 6, № 2. P. 13.
4. Sangar V. et al. Quantitative Proteomic Analysis Reveals Effects of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) on Invasion-promoting Proteins Secreted by Glioblastoma Cells//*Mol. Cell. Proteomics*. 2014. Vol. 13, № 10. P. 2618—2631.
5. Okamoto I. et al. Expression of constitutively activated EGFRvIII in non-small cell lung cancer//*Cancer Sci*. 2003. Vol. 94, № 1. P. 50—56.
6. Rude Voldborg B. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials// *Ann. Oncol*. 1997. Vol. 8, № 12. P. 1197—1206.
7. Wu X. et al. Cell-SELEX Aptamer for Highly Specific Radionuclide Molecular Imaging of Glioblastoma In Vivo//*PLoS One*/ed. Debinski W. 2014. Vol. 9, № 3. P. e90752.

## EVALUATION OF THE EFFECT OF U2 AND GR-GOL1 APTAMERS ON THE PROLIFERATIVE POTENTIAL OF HUMAN GLIOMA CELLS IN VITRO

Dzarieva F. <sup>1</sup>, Pavlova S. <sup>1</sup>, Samoylenkova N. <sup>2</sup>, Pavlova G. <sup>1,2,3</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

2 Institution «N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

3 Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Abstract:** Pathological conditions of nerve cells, accompanied by uncontrolled division, lead to various neoplasms of the central nervous system. As a rule, such neoplasms do not respond well to modern methods of treatment, especially the most aggressive of them, such as glioblastoma. This work was aimed at evaluating the antiproliferative potential of EGFR-specific aptamers in human glioblastoma cell cultures.

**Keywords:** aptamer; glioblastoma multiforme; proliferation; EGFR

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ ТАКТИЛЬНОЙ ДЕФЕНЗИВНОСТИ: ОСОБЕННОСТИ ПЛАНИРОВАНИЯ ЭЭГ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОТАЦИОННОЙ ТАКТИЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-76-80

**Дыденкова Е. А., Варламов А. А., Скороходов И. В.**

Лаборатория высшей нервной деятельности человека, ИВНД и НФ РАН,  
Москва, Россия

*e-mail: dydenkovaeva@gmail.com*

**Аннотация:** данная работа посвящена разработке и первичной апробации экспериментальной схемы для исследования ЭЭГ-коррелятов вызванного ответа мозга, на стимулы, предположительно являющиеся оптимальными для трех различных подсистем кожной механорецепции: распознающей подсистемы, объединяющей миелинизированные  $A\beta$ -афференты (параметры стимула:  $F = 0,8$  Н,  $V = 30$  см/с); эмоциональной, С-тактильной системы ( $F = 0,8$  Н,  $V = 5$  см/с) и системы  $Ad$ -афферентов, предположительно реагирующей на сверхлегкие прикосновения ( $F < 0,02$  Н,  $V = 5$  см/с). Представлены результаты апробации разработанной экспериментальной парадигмы: пилотные записи ЭЭГ, выполненные на 5 здоровых взрослых.

**Ключевые слова:** тактильная дефензивность, ЭЭГ исследование, СТ-афференты

Научные работы последних 30 лет в области тактильного восприятия доказали существование отдельной сенсорной системы, отвечающей за реагирование на исключительно нежные прикосновения и поглаживания (чаще всего, медленные и с умеренной силой). Данная С-тактильная система, называемая так в связи с иннервацией немиелинизированными волокнами типа С, пути которых заканчиваются в лимбических и паралимбических системах головного мозга, предположительно, функционирует для формирования привязанности, что происходит благодаря эмоциональному подкреплению положительными аффектами социальных тактильных контактов. По результатам недавнего исследования было по-

казано, что электрический ответ мозга на быстрые поглаживания связан с большей амплитудой ранних компонентов вызванных потенциалов ЭЭГ, а ответ на медленные поглаживания — с увеличением амплитуды поздних компонентов ВП. Кроме того, сверхпоздний положительный потенциал, наблюдавшийся во фронтоцентральных отведениях контралатеральной зоны стимуляции в интервале 3000—4000 мс с момента начала предъявления стимула, по мнению авторов, отражает реакцию именно С-тактильной системы [1].

Остаются мало изученными причины тактильной дефензивности, то есть негативного отношения к тактильным стимулам и социальным тактильным контактам. Мы полагаем, что тактильная дефензивность может быть связана с гиперчувствительностью к кнсмесису, одной из разновидностей щекотки, вызываемой очень легкими прикосновениями, и зачастую связанной с негативными эмоциями. Природа возникновения кнсмесиса на данный момент практически не изучена, однако выдвинуто предположение о его связи с активацией механорецепторов волосяных фолликулов, иннервируемых А $\delta$ -афферентами [3].

В соответствии с целями нашего исследования разработана экспериментальная схема, направленная на изучение причин тактильной дефензивности у взрослых и детей. Экспериментальная парадигма включает три типа тактильных стимула, соответствующих 1) распознающей подсистеме, объединяющей миелинизированные А $\beta$ -афференты (параметры стимула:  $F = 0,8$  Н,  $V = 30$  см/с); 2) эмоциональной, С-тактильной системе ( $F = 0,8$  Н,  $V = 5$  см/с) и системе А $\delta$ -афферентов, предположительно реагирующей на сверхлегкие прикосновения ( $F < 0,02$  Н,  $V = 5$  см/с). Тактильные стимулы (поглаживания) предъявляются кисточкой из искусственного волоса мангуста (для стимулов умеренной силы) и пера павлина (для сверхлегких стимулов) по дорсальной поверхности левого предплечья с использованием роботизированной ротационной тактильной системы (РТС), что обеспечивает стандартизацию всех типов предъявляемых тактильных стимулов и высокий уровень контроля скорости и силы их воздействия.

Экспериментальная парадигма включает в себя субъективную оценку тактильной стимуляции, которая проводится следующим образом: испытуемым предъявляются три коротких блока стимулов по три стимула, соответствующих трем экспериментальным условиям, в начале, середине и конце исследования. Так, испытуемый оценивает каждое поглаживание по двум аналоговым шкалам: шка-

ла знака эмоции (неприятно — приятно) и шкала щекотки (не щеотно — щеотно). Ответ на каждый вопрос дается при помощи блока ответа и вспомогательной шкалы, выводимой на экран испытуемого. Блок ответа представляет собой устройство, сочетающее ползунковый потенциометр и кнопку. Испытуемому демонстрируется положение метки на вспомогательной шкале, соответствующее положению ползунка. Установив метку в положение, соответствующее степени выраженности ощущения, испытуемый подтверждает свой выбор нажатием на кнопку. Испытуемые не ограничены во времени при оценке своих ощущений. Между этими короткими «оценочными» блоками предъявляется два длинных блока стимулов без вопросов (72 стимула в каждом для взрослых и 48 — для детей), при восприятии которых испытуемые должны были просто сидеть с открытыми и прислушиваться к собственным ощущениям. Всего предъявляется 153 тактильных стимула для взрослых и 105 — для детей в псевдослучайной последовательности с одинаковой частотой блоков для всех типов стимулов. Псевдослучайное межстимульное расстояние составляет от 5 до 11 секунд. Регистрация ЭЭГ проводится с использованием усилителя LiveAmp (BrainProductsGmbH) и 32-канальной шапочки с вставными Ag/AgCl электродами. При предъявлении каждого стимула посылается синхронизационная метка, соответствующая типу стимула, при этом роботизированная установка осуществляет регистрацию вертикального усилия на платформе, к которой крепится стимулирующая насадка, с частотой дискретизации 500 Гц. По этим данным определяется момент реального касания предплечья стимулирующей кистью для каждого предъявления.

Испытуемые располагаются на стуле с жесткой спинкой перед 21” монитором справа от установки РТС, левая рука располагается на подушке, обеспечивающей комфортное положение и минимизацию движений предплечья. Длительность проведения всего эксперимента составляет около 25 минут.

В пилотных записях ЭЭГ приняли участие 5 здоровых взрослых испытуемых (3 мужчин и 2 женщины), средний возраст которых составляет 39,8 лет. Испытуемые были предварительно ознакомлены с процедурой и дали письменное согласие на участие в исследовании. На проведение исследования было получено разрешение этического комитета Гос. ИРЯ им. А. С. Пушкина. Для предварительного анализа данных ЭЭГ использовалось программное обеспечение Brainvision Analyser 2.2 и Matlab. В качестве первого этапа обработ-

ки данных осуществлялась полосовая фильтрация (0.5 Гц — 50 Гц). Окулографический артефакт удалялся с использованием метода независимых компонент. Для трёх анализируемых экспериментальных условий выделялись эпохи ЭЭГ (5000 мс). После этого проводилось дополнительное исключение эпох с миографическими, двигательными и прочими артефактами.

Результаты пилотных записей (см. рис. 1) показали, что наиболее слабый электрический ответ мозга (синий цвет) наблюдается при реакции на медленную и сверхлегкую стимуляцию, вероятно, в связи с низкой интенсивностью стимула. Тип стимула, соответствующий распознающей системе и запускающий активацию Аβ-афферентов (быстрый и умеренной силы), даёт комплекс компонентов 0—1100 мс, связанных с началом стимуляции и отрывом кисти от предплечья (черный цвет). С-оптимальный тактильный стимул (медленный и умеренной силы) вызвал три комплекса компонентов: от 0 мс до 300 мс на касание, 2000—3500 мс на отрыв кисти и С-тактильный ответ в диапазоне 2500—3500 мс.

Апробация данной экспериментальной схемы планируется на пилотной выборке, состоящей из 20 здоровых взрослых и 20 детей в возрасте от 4 до 10 лет.

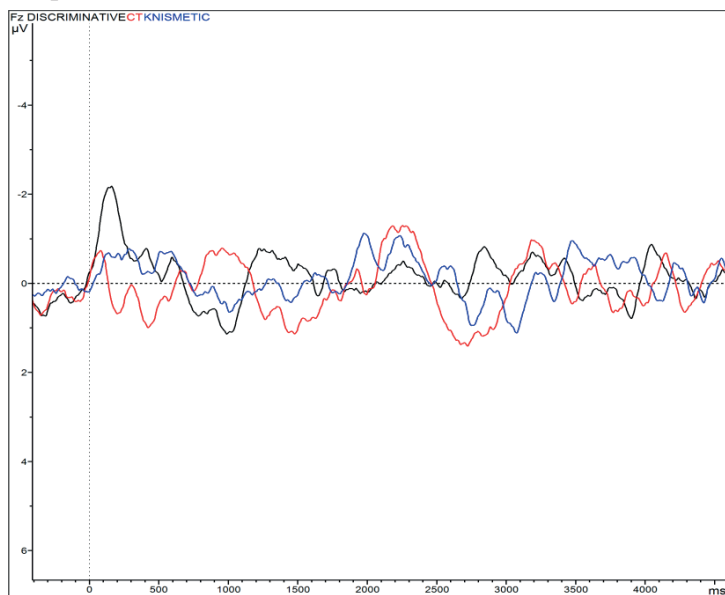


Рис. 1. Сглаженные кривые ВП для всех трех типов экспериментальных условий.

## Список литературы:

1. Варламов А. А., Иванова М. А., Скороходов И. В., Семиреченко А. Н., Портнова Г. В. Особенности вызванных потенциалов ЭЭГ при восприятии быстрых и медленных поглаживаний: ответ распознающей и эмоциональной систем механорецепции. Журнал высшей нервной деятельности. 2021. 71 (5): 637—648.
2. Варламов А. А., Портнова Г. В., Макглоун Ф. Ф. С-тактильная система и нейробиологические механизмы “эмоционального” тактильного восприятия: история открытия и современное состояние исследований. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 2019. 69 (3): 280—293.
3. Varlamov A. A., Skorokhodov I. V. Knismesis: the aversive facet of tickle. *CurrentOpinioninBehavioralSciences*. 2022. 43: 230—235.

## EXPERIMENTAL SCHEME FOR STUDYING TACTILE DEFENSIVENESS: PLANNING FEATURES OF EEG STUDY USING A ROTARY TACTILITY SYSTEM

Dydenkova E. A., Varlamov A. A., Skorokhodov I. V.

Laboratory of Human Higher Nervous Activity, IHNA&NPh RAS, Moscow, Russia  
*e-mail: dydenkovaeva@gmail.com*

**Abstract:** this work is devoted to the development and primary testing of an experimental scheme for studying the EEG correlates of the evoked brain response to stimuli that are supposedly optimal for three different subsystems of skin mechanoreception: a recognition subsystem that combines myelinated A $\beta$  afferents (stimulus parameters:  $F = 0.8$  N,  $V = 30$  cm/s); emotional, C-tactile system ( $F = 0.8$  N,  $V = 5$  cm/s) and the A $\delta$ -afferent system, presumably responsive to ultra-light touches ( $F < 0.02$  N,  $V = 5$  cm/s). The results of approbation of the developed experimental paradigm are presented: pilot EEG recordings made on 5 healthy adults.

**Keywords:** tactile defensiveness, EEG study, CT afferents



# БИОИНФОРМАТИЧЕСКОЕ ПРЕДСКАЗАНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА PAX В ГЕНОМЕ МОЛЛЮСКА *LISSACHATINA FULICA*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-81-86

Доминова И. Н., Головнева К. Ю.,  
Коршунова Н. Г., Жуков В. В.

Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО), ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград, Россия  
e-mail: [irinadominova@gmail.com](mailto:irinadominova@gmail.com)

**Аннотация:** Белки семейства PAX, обнаруженные у различных таксономических групп животных, играют важную роль в дифференциации клеток и органогенезе в процессе развития. Установлена связь некоторых представителей данного семейства белков с развитием сенсорных систем, в том числе, глаз у билатеральных животных, включая моллюсков. При этом для некоторых моллюсков характерна регенерация отдельных органов и тканей. Одним из таких моллюсков, способных к регенерации глаза, является *Lissachatina fulica*, геном которого до сих пор не аннотирован. Для определения участия в процессах регенерации представителей семейства PAX необходимо определить их аминокислотные последовательности. Поэтому целью данного исследования. Являлось биоинформатическое предсказание аминокислотных последовательностей белков семейства PAX в геноме *Lissachatina fulica*. В результате проведенной работы предсказано шесть потенциальных представителей семейства PAX — Afu019351, Afu013869, Afu008958, Afu015865, Afu016671 и Afu016672.

**Ключевые слова:** моллюски, *Lissachatina fulica*, семейство белков PAX, регенерация, НММ профиль

Белки семейства PAX (Pairedbox), являющиеся факторами транскрипции, содержат высококонсервативный ДНК-связывающий домен, называемый парным доменом (paired domain), и его можно рассматривать как основной регулятор экспрессии генов. Эволюционно консервативный парный домен идентифицирован у разных филогенетических групп от насекомых до млекопитающих [1]. При этом исследования на животных продемонстрировали

важную роль белков PAX в развитии различных органов и тканей, включая тимус (PAX-1 и PAX-7), позвонки (PAX-1), ухо (PAX-2) и PAX-8), почки (PAX-2), центральная нервная система (ЦНС) (PAX-2, PAX-5, PAX-8, PAX-6, PAX-3 и PAX-7), сосудистая сеть сердца, энтеральная нервная система, меланоциты, шванновские клетки (PAX-3 и PAX-7), поджелудочная железа (PAX-4 и PAX-6), В-лимфоциты (PAX-5), глаз (PAX-6), скелетные мышцы (PAX-3 и PAX-7), щитовидная железа (PAX-8) и зубы (PAX-7 и PAX-9) [2]. Аналогичные функции белки PAX выполняют и в организмах моллюсков. Так было показано, что PAX-2, —5 и —8 экспрессируются при развитии мультимодальных сенсорных систем брюхоногих моллюсков [3], полиплакофор и головоногих моллюсков [4], PAX-6 обычно участвует в развитии ЦНС билатеральных организмов и является ключевым игроком в сети регуляции экспрессии генов глаза большинства билатеральных, включая головоногих моллюсков [5].

Также известно, что некоторые моллюски способны к регенерации отдельных органов и тканей [6], в том числе, глаза [7]. И одним из таких моллюсков является *Lissachatina fulica* [8], геном которого был недавно расшифрован [9], но, при этом не аннотирован. Для определения роли представителей семейства PAX в данном процессе регенерации необходимо иметь информацию об их точных аминокислотных последовательностях. Поэтому целью данного исследования стало биоинформатическое предсказание аминокислотных последовательностей белков семейства PAX в геноме *Lissachatina fulica* как потенциальных участников механизмов развития и морфогенеза данного брюхоногого моллюска.

Для достижения поставленной цели нами были собраны известные последовательности белков PAX брюхоногих моллюсков — *Aplysia californica*, *Pomacea canaliculata*, *Biomphalaria glabrata* как ближайших родственных видов для *Lissachatina fulica* из базы данных NCBI Protein (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>, дата обращения 09.08.2022). В итоге нами было получено 23 аминокислотных последовательностей, относящихся к PAX-1, PAX-2, PAX-3 и PAX-6 подсемействам. Далее было проведено множественное выравнивание данных аминокислотных последовательностей с помощью алгоритма Clustal Omega [10] с последующим уточнением результатов с помощью алгоритма MUSCLE [11] в программном обеспечении Unipro UGENE (версия 39.0) [12]. Также в ПО Unipro UGENE были построены HMM3 профили, которые затем использовались для поиска последовательностей белков PAX в геноме *Lissachatina fulica*

помощью программного обеспечения HMMER (<http://hmmer.org/>, дата обращения: 11.08.2022). Для подтверждения принадлежности найденных последовательностей к белкам PAX, был проведен поиск по BLAST (алгоритм blastp) среди всех кристаллинов брюхоногих моллюсков, депонированных в базе данных белков NCBI GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, дата обращения: 15.08.2022).

В результате в геноме *Lissachatina fulica* нами было предсказано шесть аминокислотных последовательностей белков семейства PAX (таблица). При этом, однозначно отнести к конкретному члену семейства белков PAX можно Afu019351 — PAX-3, Afu013869 –PAX-6, Afu015865 –PAX-2 и к PAX-1 — Afu016671 и Afu016672.

Таблица.

### Предсказанные последовательности белков PAX в геноме *Lissachatina fulica* с помощью HMMER

Номер в базе данных GigaScience Database	E-value в HMMER	Белки брюхоногих моллюсков с наибольшим процентом идентичности и покрытием по BLAST	Процент идентичности по BLAST, %	E-value по BLAST
Afu019351	$3.9 \times 10^{-67}$	XP_012943435.1 Paired box protein Pax-3-B [ <i>Aplysia californica</i> ]	62.38	$7 \times 10^{-148}$
		XP_025082154.1 Paired box protein Pax-3-B-like isoform X3 [ <i>Pomacea canaliculata</i> ]	56.25	$3 \times 10^{-135}$
		XP_025082152.1 Paired box protein Pax-3-B-like isoform X1 [ <i>Pomacea canaliculata</i> ]	55.99	$9 \times 10^{-135}$
Afu013869	$5.4 \times 10^{-53}$	XP_041366423.1 Paired box protein Pax-6-like isoform X1 [ <i>Gigantopelta aegis</i> ]	70.75	$7 \times 10^{-96}$
		XP_041366425.1 Paired box protein Pax-6-like isoform X2 [ <i>Gigantopelta aegis</i> ]	70.75	$7 \times 10^{-96}$
		XP_025087240.1 Paired box protein Pax-6-like [ <i>Pomacea canaliculata</i> ]	76.32	$2 \times 10^{-95}$

Afu008958	$5.3 \times 10^{-46}$	XP_046542976.1 Paired box protein Pax-9-like isoform X1 [ <i>Haliotis rubra</i> ]	60.29	$1 \times 10^{-84}$
		XP_046358098.2 Paired box protein Pax-8-like [ <i>Haliotis rufescens</i> ]	59.93	$9 \times 10^{-83}$
		XP_046542980.1 Paired box protein Pax-2-A-like isoform X2 [ <i>Haliotis rubra</i> ]	59.21	$9 \times 10^{-82}$
Afu015865	$2.3 \times 10^{-53}$	XP_012942774.1 Paired box protein Pax-1 [ <i>Aplysia californica</i> ]	85.37	$4 \times 10^{-97}$
		XP_025083857.1 Paired box protein Pax-2a-like [ <i>Pomacea canaliculata</i> ]	80.82	$2 \times 10^{-82}$
		XP_046330169.1 Paired box protein Pax-2a-like isoform X13 [ <i>Haliotis rufescens</i> ]	75.62	$7 \times 10^{-82}$
Afu016671	$7.1 \times 10^{-44}$	XP_005101900.1 Paired box protein Pax-1 [ <i>Aplysia californica</i> ]	50.34	$2 \times 10^{-87}$
		XP_013084336.1 Paired box protein Pax-1-like [ <i>Biomphalaria glabrata</i> ]	50.35	$2 \times 10^{-81}$
		XP_046337110.1 Paired box protein Pax-1-like isoform X2 [ <i>Haliotis rufescens</i> ]	51.33	$3 \times 10^{-73}$
Afu016672	$7.4 \times 10^{-44}$	XP_005101900.1 Paired box protein Pax-1 [ <i>Aplysia californica</i> ]	50.34	$3 \times 10^{-87}$
		XP_013084336.1 Paired box protein Pax-1-like [ <i>Biomphalaria glabrata</i> ]	50.35	$3 \times 10^{-81}$
		XP_046337110.1 Paired box protein Pax-1-like isoform X2 [ <i>Haliotis rufescens</i> ]	51.33	$2 \times 10^{-73}$

Таким образом, нами была проведена первая попытка аннотации генома *Lissachatina fulica*, нацеленная на поиск белков семейства PAX, как одних из возможных участников морфо- и органогенеза,

в том числе, механизмов развития и регенерации глаза у данного брюхоногого моллюска.

### Список литературы:

1. Blake, J. A., & Ziman, M. R. (2014). Pax genes: regulators of lineage specification and progenitor cell maintenance. *Development*, 141 (4), 737—751. doi:10.1242/dev.091785
2. Chi, N., & Epstein, J. A. (2002). Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease. *TRENDS in Genetics*, 18 (1), 41—47. doi:10.1016/S0168—9525 (01)02594-X
3. O'Brien, E. K., & Degnan, B. M. (2003). Expression of Pax258 in the gastropod statocyst: insights into the antiquity of metazoan geosensory organs. *Evolution & Development*, 5 (6), 572—578. doi: 10.1046/j.1525—142X.2003.03062.x
4. Wollesen, T., Rodríguez Monje, S. V., Todt, C., Degnan, B. M., & Wanninger, A. (2015). Ancestral role of Pax2/5/8 in molluscan brain and multimodal sensory system development. *BMC evolutionary biology*, 15 (1), 1—19. doi:10.1186/s12862—015—0505-z
5. Scherholz, M., Redl, E., Wollesen, T., de Oliveira, A. L., Todt, C., & Wanninger, A. (2017). Ancestral and novel roles of Pax family genes in mollusks. *BMC Evolutionary Biology*, 17 (1), 1—20. doi:10.1186/s12862—017—0919-x
6. Imperadore, P., Shah, S. B., Makarenkova, H. P., & Fiorito, G. (2017). Nerve degeneration and regeneration in the cephalopod mollusc *Octopus vulgaris*: the case of the pallial nerve. *Scientific reports*, 7 (1), 1—15. doi:10.1038/srep46564
7. Rio-Tsonis, K. D., & Tsonis, P. A. (2003). Eye regeneration at the molecular age. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 226 (2), 211—224. doi:10.1002/dvdy.10224
8. Bobkova, M. V., Tartakovskaya, O. S., Borissenko, S. L., Zhukov, V. V., & Meyer-Rochow, V. B. (2004). Restoration of morphological and functional integrity in the regenerating eye of the giant African land snail *Achatina fulica*. *Acta Zoologica*, 85 (1), 1—14. doi:10.1111/j.0001—7272.2004.00152.x
9. Guo, Y., Zhang, Y., Liu, Q., Huang, Y., Mao, G., Yue, Z., ... & Xiao, N. (2019). A chromosomal-level genome assembly for the giant African snail *Achatina fulica*. *Gigascience*, 8 (10), giz124. doi:10.1093/gigascience/giz124
10. Sievers, F., & Higgins, D. G. (2018). Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Science*, 27 (1), 135—145. doi:10.1002/PRO.3290

11. Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32 (5), 1792—1797. doi:10.1093/NAR/GKH340.
12. Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & Ugene Team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28 (8), 1166—1167. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTS091

## BIOINFORMATIC PREDICTION OF PAX PROTEINS AMINO ACID SEQUENCES IN THE GENOME OF THE MOLLUSC LISSACHATINA FULICA

Dominova I. N., Golovneva K. Yu.,  
Korshunova N. G., Zhukov V. V.

Institute of Medicine and Life Sciences (MEDBIO), Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

**Abstract:** PAX family proteins found in various taxonomic groups of animals play an important role in cell differentiation and organogenesis during development. The association of some members of this protein family with the development of sensory systems, including eyes in bilateral animals, including mollusks, has been established. At the same time, regeneration of individual organs and tissues is characteristic of some mollusks. One such mollusk capable of eye regeneration is *Lissachatina fulica*, whose genome has not yet been annotated; accordingly, to determine the involvement of members of the PAX family in regeneration processes, it is necessary to determine their amino acid sequences. The aim of this study was the bioinformatic prediction of the amino acid sequences of PAX family proteins in the *Lissachatina fulica* genome. As a result, we predicted six potential members of the PAX family: Afu019351, Afu013869, Afu008958, Afu015865, Afu016671, and Afu016672.

**Keywords:** mollusks, *Lissachatina fulica*, PAX protein family, regeneration, HMM profile

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА ХИМИЧЕСКОГО ПЛЮРАЛИЗМА ЭФФЕРЕНТНОГО КОНТРОЛЯ СЕТЧАТКИ *LYMNAEA STAGNALIS*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-87-90

Доминова И. Н., Котова В.В, Мазур В. С., Жуков В. В.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,  
Калининград, Россия  
e-mail: irinadominova@gmail.com

**Аннотация:** Методом количественной ПЦР получены свидетельства экспрессии в сетчатке моллюска *Lymnaea stagnalis* генов рецепторов 5HT, каналов FaNaC, тетрапептида FMRF-амида и его предшественника, а также двух изоформ NOS и межгенного региона antiNOS. Полученные результаты свидетельствуют о существовании нескольких химических механизмов регуляции световой чувствительности сетчатки прудовика.

**Ключевые слова:** моллюски, *Lymnaea stagnalis*, серотонин, NO-синтаза, FMRF-амид

Проведенные ранее иммунохимические анализы показали присутствие в сетчатке *Lymnaea stagnalis* эфферентных 5 HT- [1] и FMRF-ергических волокон [2]. На препаратах изолированных глаз этого моллюска выявлено модулирующее влияние на фотоответы аппликаций указанных медиаторов [3,4], свидетельствующее о наличии в сетчатке соответствующих рецепторных молекул. Основной целью данной работы стало получение свидетельств их синтеза. Ранее рецепторы 5 HT были выделены из центральных нейронов *L.stagnalis* [5], а экспрессия генов каналов FaNaC, чувствительных к FMRF-амиду, зафиксирована в центральных ганглиях моллюска [6]. Другой целью работы было получение свидетельств возможного присутствия в сетчатке прудовика механизма синтеза NO. Такое предположение основано на возможной аналогии с зафиксированной ранее активностью НАДФН-диафоразы в базальном слое сетчатки глаза *Helix pomatia* [7], а также возможностью FMRF-амида служить субстратом для NO-синтазы (NOS) при образовании NO. Работа была построена на поиске транскриптов и оценки уров-

ня экспрессии NOS) и ее регулятора antiNOS, генов FMRF-амида и его предшественников, а также рецепторов серотонина в мозге и глазу прудовика. Для этого из образцов тканей была экстрагирована РНК и проведена количественная ПЦР. Праймеры для транскриптов NOS были взяты из работы Корнеева и соавторов [8], для рецептора серотонина 2 (U50080.1) из работы Benatti и соавторов [9], для транскриптов генов предшественников FMRF-амида – белка FMRF-амида (M37629.1), нейропептида FMRF-амида (U03137.1), гена FaNaC (AF335548.1) и рецептора серотонина 1 (L06803.1:502—2031). Праймеры были сконструированы с помощью Primer-BLAST ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK\\_LOC=BlastHome](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome), дата обращения: 17.11.2021). Расчет уровней транскрипции вышеобозначенных генов проводился с помощью метода  $2\Delta\Delta C_t$ . Для нормализации уровней транскрипции двух изоформ гена NOS, межгенного региона antiNOS и генов рецепторов серотонина в качестве референсного использовался *Gapdh*, тогда как для генов предшественников FMRF-амида — *beta-Tubulin*. Статистический анализ данных выполнялся с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9.3.1 с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни ( $p < 0.05$ ).

Транскрипция двух изоформ NOS и межгенного региона antiNOS была зафиксирована в тканях мозга и глаза моллюска. При этом в глазу было зафиксировано статистически значимое ( $p < 0.05$ ) повышение уровней транскрипции NOS1 и NOS2 по сравнению с мозгом, для antiNOS подобные различия не наблюдались.

Уровни относительной транскрипции генов FaNaC, предшественника нейропептида FMRF-амида не имели статистически значимых различий в образцах глаз и ЦНС моллюска, хотя наиболее высокий уровень транскрипции гена нейропептида FMRF-амида наблюдается в ганглиях моллюска, а гена предшественника FMRF-амида в сетчатке.

Для рецепторов серотонина пока получены только предварительные данные, свидетельствующие о присутствии транскриптов двух рецепторов серотонина (обозначенных в геноме как 5-HT<sub>1</sub> и 5-HT<sub>2</sub>) как в тканях мозга, так и в глазу моллюска.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании в сетчатке *L.stagnalis* системы специфической рецепции нескольких медиаторов, осуществляющих регуляцию световой чувствительности фоторецепторов. Механизм влияния NO на сетчатку моллюска требует дальнейших исследований.



## Список литературы:

1. Zhukov, V. V. On the problem of retinal transmitters of the freshwater mollusc *Lymnaea stagnalis*. J Evol Biochem Phys 43, 524—532 (2007). doi:10.1134/S0022093007050118
2. Tuchina O. P., Zhukov V. V., Victor B. Meyer-Rochow V. B. Distribution of serotonin and FMRF-amide in the brain of *Lymnaea stagnalis* with respect to the visual system//Zoological Research 2012. V. 33 (1—2):1—12. doi: 10.3724/SP.J.1141.2012.01—02e1
3. В. В. Жуков, Н. Л. Кононенко, И. Б. Панормов, С. Л. Борисенко Серотонин изменяет электрические реакции глаза *Lymnaea stagnalis* на световую стимуляцию//Сенсорные системы. 2006. Т. 20. № 4. С. 270—278.
4. Zhukov, V. V., Fedorenko, A. D. FMRF-amide reduces electrical response to light in the eye of *Lymnaea stagnalis*. J Evol Biochem Phys 52, 410—413 (2016). doi:10.1134/S0022093016050100
5. Tierney AJ. Invertebrate serotonin receptors: a molecular perspective on classification and pharmacology. J Exp Biol. 2018 Oct 4;221 (Pt 19): jeb184838. doi: 10.1242/jeb.184838.
6. Perry SJ, Straub VA, Schofield MG, Burke JF, Benjamin PR. Neuronal expression of an FMRFamide-gated Na<sup>+</sup> channel and its modulation by acid pH. J Neurosci. 2001. 21 (15):5559—67. doi:10.1523/JNEUROSCI.21—15—05559.2001
7. Huang S, Kerschbaum HH, Engel E, Hermann A. Biochemical characterization and histochemical localization of nitric oxide synthase in the nervous system of the snail, *Helix pomatia*. J Neurochem. 1997. (6):2516—28. doi:10.1046/j.1471—4159.1997.69062516.x
8. Korneev, S. A., Straub, V., Kemenes, I., Korneeva, E. I., Ott, S. R., Benjamin, P. R., & O'Shea, M. (2005). Timed and targeted differential regulation of nitric oxide synthase (NOS) and anti-NOS genes by reward conditioning leading to long-term memory formation. Journal of Neuroscience, 25 (5), 1188—1192. doi:10.1523/JNEUROSCI.4671—04.2005
9. Benatti, C., Colliva, C., Blom, J. M. C., Ottaviani, E., & Tascetta, F. (2017). Transcriptional effect of serotonin in the ganglia of *Lymnaea stagnalis*. Invertebrate Survival Journal, 14 (1), 251—258. doi:10.25431/1824—307X/isj.v14i1.251—258

# MOLECULAR EVIDENCE FOR CHEMICAL PLURALISM IN EFFERENT CONTROL OF THE RETINA OF *LYMNAEA STAGNALIS*

Dominova I. N., Kotova V. V., Mazur V. S., Zhukov V. V.

Institute of Medicine and Life Sciences (MEDBIO), Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

**Abstract:** qPCR was used to obtain evidence for the expression in the retina of *Lymnaea stagnalis* genes of 5HT receptors, FaNaC channels, the FMRF-amide tetrapeptide and its precursor, as well as two NOS isoforms and the antiNOS intergenic region. The obtained results indicate the existence of several chemical mechanisms of regulation of light sensitivity of the pond snail retina.

**Keywords:** molluscs, *Lymnaea stagnalis*, serotonin, NO synthase, FMRF-amide

# БИОИНФОРМАТИЧЕСКОЕ ПРЕДСКАЗАНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РОДОПСИНОВ В ГЕНОМЕ МОЛЛЮСКА *LISSACHATINA FULICA*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-91-94

Доминова И. Н., Сергеева И. А., Жуков В. В.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,  
Калининград, Россия

*e-mail: irinadominova@gmail.com*

**Аннотация:** Целью данного исследования было биоинформатическое предсказание аминокислотных последовательностей опсинов наземного брюхоногого моллюска *Lissachatina fulica* на основе недавно опубликованных результатов секвенирования его генома. При этом исходили из того, что известные зрительные опсины других животных относятся к группе G-белок-связанных рецепторов (GPCR). На основе известных последовательностей родопсинов других моллюсков были построены НММ-профили для последующего поиска этих белков в геноме *Lissachatina fulica* с помощью ПО НММЕР. Для подтверждения принадлежности найденных последовательностей к опсинам проводился с поиск консервативного домена 7tmA\_Opsin\_Gq\_invertebrates. В результате анализа нами было предсказано пять аминокислотных последовательностей родопсинов, сопряженных с G-белками — Afu011750, Afu004575, Afu005002, Afu003765 и Afu022267.

**Ключевые слова:** моллюски, *Lissachatina fulica*, родопсин, НММ профиль

Опсины образуют многофункциональную группу GPCR белков, часть из которых обеспечивает различные формы световой чувствительности животных. Аминокислотные последовательности опсинов определяют разнообразие зрительных пигментов. Современные знания о структуре этих белков получены, главным образом, в исследованиях на позвоночных и членистоногих животных, а также головоногих моллюсках [1]. При этом данные о структуре зрительных опсинов брюхоногих моллюсков очень скудны, а для наземных видов вообще отсутствуют. Недавняя публикация первого отсекуенного генома наземного брюхоногого моллюска *Lissachatina fulica* [2] дала возможность начать исследования в этом направле-

нии. Первым шагом на пути идентификации зрительных пигментов *Lissachatina fulica* может стать предсказание аминокислотных последовательностей родопсинов, что и стало целью данной работы.

Для достижения поставленной цели нами были собраны известные последовательности родопсинов брюхоногих (*Aplysia californica*, *Pomacea canaliculata*, *Biomphalaria glabrata*), головоногих (*Octopus bimaculoides*, *Octopus sinensi*) и двустворчатых моллюсков (*Pecten maximus*) из базы данных NCBI Protein (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>, дата обращения 15.08.2022). В итоге нами было получено 60 аминокислотных последовательностей, относящихся к родопсинам, родопсинам, сопряженными с G $\alpha$ - и G $\beta$ -белками, и родопсин-подобным белкам. Далее было проведено множественное выравнивание данных аминокислотных последовательностей с помощью алгоритма Clustal Omega [3] с последующим уточнением результатов с помощью алгоритма MUSCLE [4] в программном обеспечении Unipro UGENE (версия 39.0) [5]. Также в ПО Unipro UGENE были построены HMM3 профили, которые затем использовались для поиска последовательностей родопсинов в геноме *Lissachatina fulica* с помощью программного обеспечения HMMER (<http://hmmer.org/>, дата обращения: 17.08.2022). Для подтверждения принадлежности найденных последовательностей к опсинам, был проведен поиск консервативного домена 7tmA\_Opsin\_Gq\_invertebrates с помощью Conserved Domain Search Service (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>, дата обращения: 25.08.2022).

В результате в геноме *Lissachatina fulica* нами было предсказано пять аминокислотных последовательностей родопсинов, сопряженных с G-белком (таблица 1).

Таблица 1.

### Предсказанные последовательности родопсинов в геноме *Lissachatina fulica* с помощью HMMER

Номер в базе данных GigaScience Database	E-value	Количество трансмембранных доменов	Обнаруженные консервативные домены
Afu011750	2.5×10 <sup>-120</sup>	4	7tm_GPCRs super family
Afu004575	2.5×10 <sup>-130</sup>	7	7tm_GPCRs super family

Afu005002	2.6×10—106	7	7tmA_Opsin_Gq_invertebrates
Afu003765	4.4×10—144	8	7tm_GPCRs super family
Afu022267	7.1×10—133	2x6 и 4	7tm_GPCRssuperfamilyи 7tm_classA_rhodopsin-like

Выполненная работа представляет собой первую попытку аннотации генома *Lissachatina fulica*, которая была начата с поиска рецепторных опсинов как белков с хорошо понимаемой функцией. Полученные результаты могут стать дать дополнительные возможности исследования молекулярных механизмов фоторепторных процессов у брюхоногих моллюсков. При этом следует отметить, что опсины образуют разнообразную многофункциональную группу белков, из которых лишь некоторые входят в состав зрительных пигментов. Поэтому работа по идентификации зрительных опсинов у *Lissachatina fulica* требует продолжения.

### Список литературы:

1. Hunt, D. M., Hankins, M. W., Collin, S. P., & Marshall, N. J. (Eds.). (2014). Evolution of visual and non-visual pigments (Vol. 4). New York: Springer. doi:10.1007/978—1-4614—4355—1
2. Guo, Y., Zhang, Y., Liu, Q., Huang, Y., Mao, G., Yue, Z., ... & Xiao, N. (2019). A chromosomal-level genome assembly for the giant African snail *Achatina fulica*. *Gigascience*, 8 (10), giz124. doi:10.1093/gigascience/giz124
3. Sievers, F., & Higgins, D. G. (2018). Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Science*, 27 (1), 135—145. doi:10.1002/PRO.3290
4. Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32 (5), 1792—1797. doi:10.1093/NAR/GKH340.
5. Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & Ugene Team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28 (8), 1166—1167. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTS091

# BIOINFORMATIC PREDICTION OF RHODOPSIN AMINO ACID SEQUENCES IN THE GENOME OF THE MOLLUSC *LISSACHATINA FULICA*

Dominova I. N., Sergeeva I. A., Zhukov V. V.

Institute of Medicine and Life Sciences (MEDBIO), Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

**Abstract:** The aim of this study was to bioinformatically predict the opsins amino acid sequences of the terrestrial gastropod *Lissachatina fulica* based on recently published sequencing results of its genome. It was based on the fact that the known visual opsins of other animals belong to the group of G-protein-coupled receptors (GPCR). HMM profiles were constructed based on the known rhodopsins sequences of other molluscs for subsequent search for these proteins in the *Lissachatina fulica* genome using HMMER software. To confirm whether the sequences found belonged to opsins, we searched for the conserved domain 7tmA\_Opsin\_Gq\_invertebrates. As a result, we predicted five amino acid sequences of rhodopsin G-coupled proteins — Afu011750, Afu004575, Afu005002, Afu003765, and Afu022267.

**Keywords:** molluscs, *Lissachatina fulica*, rhodopsin, HMM profile

# СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ И СОХРАНЕНИЮ ПАМЯТИ У ЛИНИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* С ИЗМЕНЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *LIMK1* В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-95-98

Заломаева Е. С.<sup>1,2</sup>, Медведева А. В.<sup>2</sup>,  
Журавлев А. В.<sup>2</sup>, Никитина Е. А.<sup>1,2</sup>

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

2 ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия  
*e-mail: Zalomaeva.E@yandex.ru*

**Аннотация:** В работе исследована способность к формированию памяти у линий *Drosophila melanogaster* с нейроспецифическим подавлением и активацией экспрессии гена *limk1* в нервной системе. Ген *limk1* кодирует белок *Limk1* — ключевой фермент в реорганизации актинового цитоскелета. Способность к формированию памяти оценивали с помощью метода условно-рефлекторного подавления ухаживания.

**Ключевые слова:** *limk1*; *Drosophila melanogaster*; обучение; память.

На сегодняшний день одной из актуальных проблем современной науки является понимание этиологии и прогрессирования различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). Это группа в основном медленно прогрессирующих заболеваний нервной систем, к которым относят болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и др. Данные заболевания являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов, а также индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни [1]. Один из ключевых симптомов НДЗ — когнитивные нарушения. Основой обучения и памяти служит синаптическая пластичность нервной системы, в обеспечении которой важную роль играет реорганизация актинового цитоскелета. Ключевым ферментом данного процесса является *Limk1* [2]. Также известно, что изменения экспрессии гена *limk1* приводят к нейрокогнитивным патологиям. Анализ нуклеотидной последовательности гена

*limk1* D. melanogaster выявляет 71% гомологии с геном *limk1* H. sapiens, в связи с чем D. melanogaster является наиболее удобным модельным объектом для осуществления данного исследования [3]. В последние годы на первый план выходит вопрос о роли забывания в процессах обучения и сохранения памяти, чем обусловлена постановка цели исследования.

**Цель:** изучение влияния нейроспецифической активности гена *limk1* на активное забывание у самцов дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания.

### **Методика.**

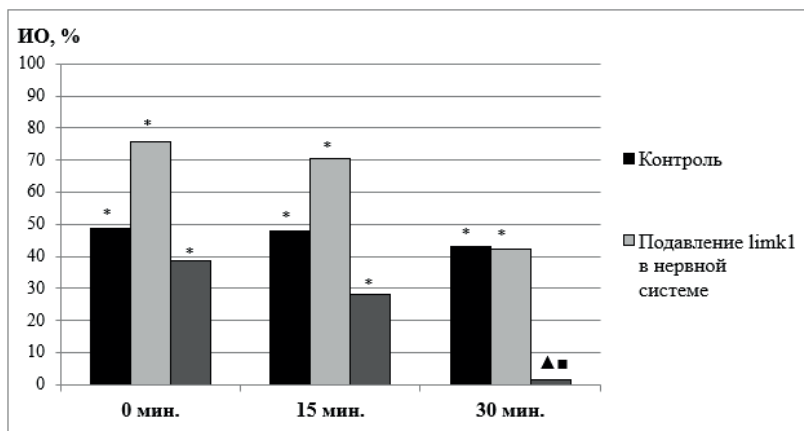
Для подавления экспрессии гена *limk1* у самцов D. melanogaster методом РНК-интерференции применяли систему скрещивания Gal4/UAS. Исследование проводили с использованием гибридов с нарушением и с активацией экспрессии гена *limk1* в нервной системе, а также гибридов без изменения таковой экспрессии. Способность к обучению и формированию памяти оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) самца за оплодотворенной самкой. Вылупившихся девственных насекомых исследуемых линий сортировали по полу без использования наркоза. Самцов, используемых в эксперименте, содержали индивидуально на изюмно-дрожжевой среде в стандартных условиях. Объектами ухаживания самцов всех исследуемых линий были оплодотворенные самки линии дикого типа Canton-S в возрасте пяти суток. Выбор данного объекта в качестве стандарта обусловлен отсутствием существенных нарушений исследуемого гена, отсутствием нарушений при формировании и сохранении кратко- и долгосрочной памяти, а также однородностью генетического фона. Обучение и тестирование проводили в специальных экспериментальных камерах из оргстекла диаметром 15 мм, высотой 5 мм. Для выработки УРПУ 5-суточного самца, не имеющего опыта полового поведения, помещали в специальную камеру с оплодотворенной самкой линии дикого типа Canton-S на 30 мин. Для оценки эффективности обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Память характеризуется как абсолютным уровнем ИО, так и его динамикой на протяжении тестируемого периода времени. Для оценки активности процессов забывания провели анализ снижения ИО на коротких временных интервалах: 0, 15 и 30 минут. Таким образом, интенсивность процессов забывания определяется не абсолютными величинами ИО в каждый момент времени, а динамикой (скоростью) его изменения.



В каждой группе тестировали не менее 20 пар мух. Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор программ — Н. Г. Камышев). Для статистической обработки данных использовали двусторонний тест рандомизации ( $p < 0,05$ ).

## Результаты.

Исследование показало, что в контрольной группе (без изменения экспрессии гена *limk1*) ИО достоверно отличались от нуля и имели практически одинаковые значения на всех исследуемых точках. ИО у гибридов с подавлением и активацией экспрессии гена *limk1* в нервной системе сразу после обучения также были достоверно выше нуля, и достоверно не отличались от таковых в контроле. Спустя 30 мин ИО у линии с подавлением *limk1* оставался на высоком уровне, в то время как ИО у линии с активацией *limk1* снизился практически до нулевого уровня. Мухи с активацией *limk1* оказались способными сохранять память лишь в течение 15 мин.



**Рис. 1.** Индексы обучения у гибридов с подавлением, активацией *limk1* в нервной системе и в контроле.

Примечание:

\* — ИО достоверно отличается от 0 (нулевая линия),  $p < 0,05$ ;

▲ — ИО достоверно отличается от контроля,  $p < 0,05$ ;

■ — ИО достоверно отличается от линии с подавлением *limk1*,  $p < 0,05$ .

## Заключение.

Таким образом, мухи всех исследуемых линий продемонстрировали способность к обучению и формированию памяти. Однако,

процессы забывания оказались выражены в большей степени у мух с активацией *limk1* в нервной системе. При этом у мух с подавлением *limk1* были самые высокие ИО. Полученные данные говорят о безусловной вовлеченности гена *limk1* в процессы активного врожденного забывания. Этот факт открывает широкие перспективы для дальнейшего изучения роли активного врожденного забывания в становлении и сохранении памяти при изменениях гена *limk1*.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№ 20—015—00300 А).*

### Список литературы:

1. Савватеева–Попова Е. В., Никитина Е. А., Медведева А. В. От нейрогенетики к нейроэпигенетике//Генетика. 2015. Т. 51. № 5. С. 613—624.
2. Ковалева Т. С., Максимова Н. С., Жуков И. Ю., Першин В. И., Мухина И. В., Гайнуллин М. Р. Кофилин: молекулярно-клеточные функции и роль в функционировании нервной системы//Нейрохимия. 2019. Т. 36. № 1. С. 14—23.
3. Reiter L. T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*//Genome Res. 2001. V. 11. № 6. P. 1114—1125.

## THE ABILITY TO FORM AND PRESERVE MEMORY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* WITH A CHANGE OF LIMK1 GENE EXPRESSION IN THE NERVOUS SYSTEM

Zalomaeva E. S.<sup>1,2</sup>, Medvedeva A. V.<sup>2</sup>,  
Zhuravlev A. V.<sup>2</sup>, Nikitina E. A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Herzen State Pedagogical University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**Abstract:** The ability to form memory in *Drosophila melanogaster* strains with neurospecific suppression and activation of *limk1* gene expression in the nervous system was investigated. The *limk1* gene encodes the *Limk1* protein — a key enzyme in the reorganization of the actin cytoskeleton. The ability to form memory was evaluated using the conditioned courtship suppression paradigm.

**Keywords:** *limk1*; *Drosophila melanogaster*; learning; memory.

# ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА В ОБЛАСТИ ЭФФЕКТИВНОЙ СТИМУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-99-102

Захаров Н. И. <sup>1</sup>, Белова Е. М. <sup>1</sup>, Гамалея А. А. <sup>2</sup>,  
Томский А. А. <sup>2</sup>, Седов А. С. <sup>1</sup>

1 ФГБУН “Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н. Н. Семенова” Российской академии наук, Москва, Россия

2 ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко” Минздрава России, Москва, Россия

*E-mail: nikitazakh@gmail.com*

**Аннотация:** Изучение активности одиночных нейронов позволяет с высокой точностью определять локализацию определенных структур мозга и предоставляет большой объем данных для нейрофизиологических исследований. Работа направлена на определение отличий в активности одиночных нейронов между выбранной и проигнорированными траекториями для установки DBS-электрода в субталамическом ядре у пациентов с болезнью Паркинсона. В работе проводилось сравнительное исследование 29 параметров активности нейронов.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона; активность одиночных нейронов; глубокая стимуляция мозга; микроэлектродная регистрация; субталамическое ядро

На сегодняшний день одним из наиболее перспективных и успешных методов лечения болезни Паркинсона является глубокая стимуляция мозга (Deep Brain Stimulation, DBS). Результат хирургической имплантации DBS-электродов субталамическом ядре (STN) напрямую зависит от правильной локализации зоны стимуляции. Интраоперационное использование микроэлектродной регистрации позволяет достоверно локализовать STN [1], а проведение тестовых стимуляций с помощью макроэлектрода повсеместно используется для повышения точности установки DBS-электрода. Данный подход позволяет из нескольких обследуемых траекторий введения выбрать

ту, по которой при тестовых стимуляциях наблюдается наилучший клинический эффект. Однако, на данный момент отсутствует комплексное достоверное описание характера одиночной активности нейронов, ассоциируемой с успешной установкой DBS-электрода.

Работа направлена на изучение активности одиночных нейронов субталамического ядра пациентов с болезнью Паркинсона для определения паттернов активности, ассоциируемых с достижением наилучшего клинического эффекта при тестовых стимуляциях.

### **Методика.**

Данные о фоновой одиночной активности нейронов были получены методом микроэлектродной регистрации во время операций по имплантации DBS-электрода 16 пациентам с болезнью Паркинсона (UPDRSIIIon/off = 13.27±3.75/48.63±11.28). Предобработка чистых данных включала в себя полосовую фильтрацию (300—5000 Гц) и сортировку (детекция спайков на основе превышения порогового значения с последующей сортировкой по среднему значению метода главных компонент). В последующем анализе принимали участие записи, содержащие достоверную информацию о 1—3 единичных нейронах и длиной более 10 секунд. Далее для каждого из 438 детектированных нейронов рассчитывался набор из 29 параметров активности, включая межспайковое расстояние, частоту импульсаций (firingrate), осцилляторную активность на нескольких диапазонах частот (от 3 до 90 Гц) и др. [2,3]. На основе данных из протоколов операций нейроны были разделены на 2 группы: лежащие на траекториях, где наблюдается положительный эффект тестовых стимуляций и прочие. Для оценки статистической значимости различий между траекториями использовался U-критерий Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ). Используя метод иерархической кластеризации, все нейроны также были разделены на 3 группы: тонические, пачечные, паузные. Эти данные использовались для количественной оценки различий между траекториями. Информация о глубине введения микроэлектрода, доступная из параметров чистых данных, была нормирована на 0 и 1 (максимальная и минимальная глубина нахождения нейрона на траектории соответственно). На ее основе была изучена зависимость рассчитанных значений параметров от глубины нахождения соответствующих нейронов, лежащих на различных траекториях.

### **Результаты.**

Сравнительный анализ активности одиночных нейронов выявил достоверные ( $p < 0,05$ ) различия между проигнорированными

и выбранными по результатам тестовых стимуляций траекториями для финальной установки DBS-электрода. Для траекторий введения микроэлектродов с наилучшими результатами тестовых стимуляций характерно увеличения осцилляторной активности нейронов в диапазонах 3—8 Гц и 20—30 Гц. Также для данной группы траекторий показано преобладание пачечного характера активности нейронов и снижение частоты импульсации. Изучение зависимости выбранных параметров от глубины введения микроэлектрода показало различие между траекториями в характере изменений с углублением в STN. Так с углублением вдоль траекторий, где наблюдается положительный клинический эффект, увеличивается межспайковое расстояние в пачках и уменьшается осцилляторная активность нейронов в диапазоне 8—12 Гц, в то время как для траекторий без клинического эффекта тестовых стимуляций данные характеристики не изменяются с глубиной. Показано, что положительный клинический эффект тестовых стимуляций достигается преимущественно на меньшей глубине в сравнении с траекториями без явного эффекта. Кластеризация нейронов на тонические, паузные и пачечные показала количественные отличия в паттернах активности между траекториями: для траекторий введения электрода с положительным клиническим эффектом наблюдается уменьшение числа тонических нейронов и увеличение числа паузных.

### **Заключение.**

Сравнительный анализ активности одиночных нейронов, лежащих на траекториях с различным эффектом тестовых стимуляций, позволил с высокой достоверностью определить набор параметров, ассоциируемых с успешным проведением имплантации DBS-электрода у пациентов с болезнью Паркинсона. Проиллюстрированы изменения в характере нейронной активности по мере углубления в STN. Полученные результаты могут служить основой для оптимизации процедуры проведения операции по установке DBS-электрода.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ  
(грант 22—15—00344).*

### **Список литературы:**

1. Koirala, N., Serrano, L., Paschen, S. et al. Mapping of subthalamic nucleus using microelectrode recordings during deep brain stimula-

- tion//Sci Rep — 2020 — Vol. 10 — № 1 — PP. 19241. doi: 10.1038/s41598—020—74196—5.
2. Myrov V., Sedov A., Salova E., Tomskiy A., Belova E. Single unit activity of subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease under local and generalized anaesthesia: Multifactor analysis//Neurosci Res — 2019 — Vol. 145 — PP. 54—61. doi: 10.1016/j.neures.2018.08.006.
  3. Myrov V., Sedov A., Tomskiy A., Myrova L., Belova E. Chapter 25 — A new approach for estimation of spiketrain patterns in basal ganglia//Prog Brain Res — 2019 — Vol. 249 — PP. 321—325. doi: 10.1016/bs.pbr.2019.04.039.

## **SUBTHALAMIC NUCLEUS SINGLE UNIT ACTIVITY FEATURES IN THE AREAS OF EFFECTIVE STIMULATION IN PARKINSON'S DISEASE PATIENTS**

**Zakharov N. I. <sup>1</sup>, Belova E. M. <sup>1</sup>, Gamaleyeva A. A. <sup>2</sup>,  
Tomskiy A. A. <sup>2</sup>, Sedov A. S. <sup>1</sup>**

<sup>1</sup> N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup> National Medical Research Center of Neurosurgery named after  
Academician N.N. Burdenko, Ministry of Health, Moscow, Russia

**Abstract:** The study of the single unit activity makes possible high accuracy localization of certain brain subcortical structures and provides a large amount of data for neurophysiological studies. The work is aimed at determining the single unit activity differences between the selected and ignored trajectories for placing a DBS-electrode in the subthalamic nucleus in patients with Parkinson's disease. The work carried out a comparative study of 29 parameters of neuron activity.

**Keywords:** Parkinson's disease; single unit activity; Deep brain stimulation; microelectrode registration; subthalamic nucleus

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭЭГ- АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ПРИ ПРОСЛУШИВАНИИ СЛУХОВЫХ СТИМУЛОВ РАЗНОЙ СЛОЖНОСТИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-103-109

Зигмантович А. С.<sup>1</sup>, Машеров Е. Л.<sup>2</sup>, Шарова Е. В.<sup>1</sup>

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии  
Российской академии наук

2 ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко Минздрава России

*e-mail: alexzig@ihna.ru*

**Аннотация:** Оценка церебральных реакций при прослушивании слуховых стимулов относится к числу перспективных методик, направленных на выявление «скрытого сознания» у пациентов с его длительным угнетением при патологии, включая тяжелую черепно-мозговую травму. Однако, в литературе нет единого представления об особенностях нейрофизиологических механизмов восприятия акустических стимулов разной сложности даже в норме. Цель работы состояла в выявлении особенностей нейросетевой организации мозга при прослушивании слуховых стимулов (простой звуковой тон, музыка, песни) по данным коннективности ЭЭГ (в сопоставлении с сетями покоя фМРТ) у здоровых испытуемых. Для состояния покоя выявлено значительное топографическое соответствие зон высокой концентрацией функциональных связей ЭЭГ с компонентами нескольких сетей фМРТ (области межсетевой коннективности). При слуховой нагрузке разной сложности локусы усиления коннективности ЭЭГ совпадают с топографии слуховой, речевой, управляющего контроля, лобно-теменных функциональных сетей фМРТ.

**Ключевые слова:** коннективность ЭЭГ, функциональные сети, фМРТ покоя

В настоящее время прослушивание слуховых стимулов относится к числу актуальных методик оценки функционального состояния здорового и больного мозга [1]. В условиях патологии данная методика используется еще и как способ изменения корковой активности [2]. Метод слуховых вызванных потенциалов получил большое распространение в клинической практике также для вы-

явления «скрытого сознания» у пациентов с длительным его угнетением разного генеза, включая тяжелую черепно-мозговую травму (ТЧМТ) [3, 4, 5].

Анализ литературы показал, что до сих пор нет единого представления об особенностях нейрофизиологических механизмов восприятия слуховых стимулов разной сложности (простой тон, музыка и песня). В ряде ЭЭГ и фМРТ исследований авторы не наблюдали существенной разницы в топографии реактивных зон мозга при их прослушивании у здоровых людей [6, 7]. В то время как другие исследователи показывали точное соответствие между активацией определенных зон мозга и типом слухового стимула. Так, прослушивание простого тона сопровождается активацией преимущественно первичной слуховой коры обоих полушарий (41 поля по Бродману); для восприятия музыкальных стимулов характерна дополнительная активация вторичных и третичных слуховых зон (42 и 43 поля по Бродману) наряду с дорсолатеральной префронтальной корой и задними теменными областями [8, 9]. Причем по данным [10], эта активация преобладает в правом полушарии. При прослушивании песенных отрывков отмечена двусторонняя активация верхней височной извилины, нижней теменной коры и нижней лобной извилины преимущественно в левой гемисфере [11].

Исследование нейрофизиологических механизмов восприятия слуховых стимулов в норме и при церебральной патологии по данным методов фМРТ, ЭЭГ, ВП во многих работах сопряжено с анализом функциональной коннективности. Это способствует уточнению организации функциональных систем мозга, участвующих в восприятии слуховых стимулов [12].

Цель настоящего исследования: выявление особенностей нейросетевой организации мозга при прослушивании слуховых стимулов разной сложности по данным коннективности ЭЭГ у здоровых испытуемых. Дополнительно было произведено сопоставление выявленных топографических особенностей ЭЭГ с пространственной организацией сетей покоя фМРТ нормы.

### **Методика.**

Оценивались данные исследований 54 здоровых испытуемых (36 м, 18 ж, возраст 20—50 лет, средний  $28 \pm 9$ ). У 39 человек исследовали функциональную коннективность ЭЭГ. Из них у 29 проводился анализ вызванной активности мозга длительностью 600 мс (от  $-100$ — $0$  мс предстимульный интервал, от  $0$ — $600$  мс послести-



мульный интервал); у 10 — анализ длинных записей ЭЭГ не менее 1 мин. ЭЭГ активность оценивали в состоянии спокойного бодрствования и при предъявлении слуховых стимулов разной сложности: звуковой тон, музыкальные и песенные отрывки. У 15 испытуемых проводился анализ функциональных сетей покоя фМРТ.

Данные ЭЭГ были получены в двух сериях исследований. В первой биопотенциалы записывали на оборудовании фирмы Нейроботикс (Россия) от 32 электродов по системе 10—10% в состоянии спокойного бодрствования и при прослушивании звуковой последовательности тонов (интенсивность 76 дБ над порогом слышимости, частотой 800 Гц и 600 Гц, длительностью 80 мс), которые подавались в псевдослучайном порядке. К дальнейшему анализу принимались реакции только на простой тон частоты 800 Гц. При прослушивании знакомых и незнакомых музыкальных и песенных отрывков (общее число стимулов 5 и 6 соответственно). Число повторений каждого — 11 раз, длительность предъявления — 4 с, межстимульный интервал варьировал от 5 до 7 с. Последующий анализ усредненных ответов проводили в программе Brainstorm [13] на базе MatLab, с оценкой коэффициента корреляции Пирсона, а также нелинейной причинности по Грейнджеру. Эпоха анализа — 600 мс от подачи стимула, шаг — 1 мс. Анализируемый частотный диапазон 1—15 Гц. Кроме того, привлекали метод локализации источников коннективности ЭЭГ в программе Brainstorm для дополнительного уточнения топографии функциональных сетей, участвующих в восприятии слуховых стимулов разной сложности. При этом использовали анатомический файл ICBM152 по умолчанию. Для моделирования источников ЭЭГ использовали алгоритм OpenMEEG, с применением метода динамического статистического параметрического картирования (dSPM) для получения максимально приближенных физиологически оценок источника ЭЭГ. Наряду с этим проводилась коррекция предстимульного интервала на участке  $-100-0$  мс.

Функциональные связи ЭЭГ рассчитывались и визуализировались для всех электродов. При визуализации количество их на схемах было сокращено до 16 (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, T3, T4, C3, C4, T5, T6, P3, P4, O1, O2).

Поскольку при использовании метода Грейнджера не выработаны общепринятые значения порогов визуализации, в настоящем исследовании выбран порог корреляционного анализа 0,5 для определения максимально выраженных отличий, а затем определяли направленность выявленных связей по Грейнджеру.

Вторая серия исследования включала 18-канальную монополярную (относительно ушных индифферентных электродов) регистрацию ЭЭГ по схеме 10—20 % с полосой пропускания 0,3—35 Гц и частотой дискретизации 100 Гц на базе программно-вычислительного комплекса «Нейрокартограф» (МБН, Россия). Биопотенциалы записывали в состоянии покоя с закрытыми глазами, а также при предъявлении слуховых стимулов разной сложности: простой звук (меняющиеся по частоте 250, 500, 1000 Гц сигналы интенсивностью 60 Дб), классическая музыка, песни В. Высоцкого и бардовские. Длительность регистрации каждого состояния 1,5—2 минут. Далее проводился когерентный анализ безартефактных отрезков ЭЭГ длительностью не менее одной минуты, с шагом 0.4 Гц. Когерентность (КогЭЭГ) рассчитывалась для всех возможных сочетаний пар отведений по диапазонам основных физиологических ритмов: дельта (0.4—3.9 Гц), тета1 (4.3—5.5 Гц), тета2 (5.6—7.3 Гц), альфа1 (7.8—8.6 Гц), альфа2 (9—10.2), альфа3 (10.5—12.5) и бета1 (12.9—20.7 Гц), а также в интегральном — 0,5—20 Гц. ЭЭГ-корреляты слухового восприятия выявляли путем сравнения медиан КогЭЭГ между фоном и каждой акустической пробой для группы наблюдений на основе непараметрического критерия Манна-Уитни, посредством пакета статистических программ [14].

Исследование фМРТ 3.0 Тл выполнялось на магнитно-резонансном томографе General Electric SignaHDxt (США) в состоянии покоя с закрытыми глазами в течение 10 мин 12 сек. Последующая обработка проводилась на базе пакета программ FSL по алгоритму, разработанному ранее в нашей лаборатории [15], для выявления сетей покоя.

### **Результаты и обсуждение.**

Показано, что у здоровых испытуемых в состоянии покоя для интегральной коннективности ЭЭГ диапазона 1—15 Гц имеются области, характеризующиеся высокой концентрацией функциональных связей (лобная, теменно-затылочная, лобно-теменная), которые соответствуют по топографии компонентам нескольких сетей фМРТ покоя. Указанные локусы были расценены нами как зоны межсетевой коннективности, наличие которой, согласно литературе, является значимым для восстановления сознания в клинических исследованиях [16, 17]. Хотя топография коннективности ЭЭГ покоя не экстраполируется напрямую на топологию отдельных сетей фМРТ, оценка ее особенностей в выделенных областях значима для характеристики общего уровня межсетевой активности.

Выявлено, что при прослушивании слуховых стимулов разной сложности изменения коннективности ЭЭГ сходны по топографии с активацией разных функциональных сетей, в зависимости от стимула. Для простого тона — это слуховая сеть, для музыки — лобно-теменная справа и слуховая сети, для песен — сеть управляющего контроля и речевая слева.

Дополнительная дифференцированная оценка коннективности ЭЭГ по диапазонам физиологических ритмов выявила признаки сопряженности изменений функциональной коннективности отдельных частотных диапазонов ЭЭГ с топографией определенных сетей покоя фМРТ. Локализация изменений КогЭЭГ также специфична по отношению к слуховым стимулам разной сложности.

Подтверждено, что оценка коннективности ЭЭГ при аудиторных нагрузках разной сложности способствует выявлению функциональных возможностей, скрытых в состоянии покоя. Прослушивание стимулов дает более полную и четкую оценку работы функциональных сетей головного мозга.

### **Заключение.**

У здоровых испытуемых оценка изменений коннективности ЭЭГ при прослушивании слуховых стимулов разной сложности позволяет выявить возможности функционирования нейронных сетей (в частности, слуховой, речевой, управляющего контроля, лобно-теменных), скрытые в состоянии покоя. Помимо самостоятельной значимости, полученные данные могут быть использованы в качестве базисных при исследовании пациентов с посттравматическим угнетением сознания — для диагностики и прогнозирования его динамики.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021—2023 годы.*

### **Список литературы:**

1. Rebecca W., Michael J.S. A music therapy feasibility study with adults on a hospital neuroscience unit: Investigating service user technique choices and immediate effects on mood and pain//The Arts in Psychotherapy. — 2020. — Т. 67. — С. 101585.
2. Di G. Q., Wu S. X. Emotion recognition from sound stimuli based on back-propagation neural networks and electroencephalograms//The Journal of the Acoustical Society of America. — 2015. — Т. 138. — №. 2. — С. 994—1002.

3. Окнина Л.Б., Шарова Е.В., Зайцев О.С. Вейвлет-синхронность вызванных ответов мозга при прослушивании реалистичных стимулов в прогнозе восстановления сознания. Сообщение 1. Вейвлет-синхронность при прослушивании инструментальной музыки//Физиология человека. — 2017. — Т. 43. — №. 6. — С. 15—23.
4. Edlow B.L. et al. Early detection of consciousness in patients with acute severe traumatic brain injury//Brain. — 2017. — Т. 140. — №. 9. — С. 2399—2414.
5. Zigmantovich A.S. et al. Task-related reorganization of functional connectivity in early detection of consciousness in patients with severe brain injury//Archives of Clinical and Biomedical Research. — 2019. — Т. 3. — №. 6. — С. 374—385.
6. Samson F. et al. Stimulus complexity and categorical effects in human auditory cortex: an activation likelihood estimation meta-analysis//Frontiers in Psychology. — 2011. — Т. 1. — С. 241.
7. Osnes B., Hugdahl K., Specht K. Effective connectivity analysis demonstrates involvement of premotor cortex during speech perception//Neuroimage. — 2011. — Т. 54. — №. 3. — С. 2437—2445.
8. Da Costa S. et al. Human primary auditory cortex follows the shape of Heschl's gyrus//Journal of Neuroscience. — 2011. — Т. 31. — №. 40. — С. 14067—14075.
9. Rajan A. et al. Wired for musical rhythm? A diffusion MRI-based study of individual differences in music perception//Brain Structure and Function. — 2019. — Т. 224. — №. 5. — С. 1711—1722.
10. Доброхотова Т.А., Брагина Н.Н. Функциональная асимметрия и психопатология очаговых поражений мозга. — Медицина, 1977. — С. 360.
11. Du Y. et al. Increased activity in frontal motor cortex compensates impaired speech perception in older adults//Nature communications. — 2016. — Т. 7. — №. 1. — С. 1—12.
12. Friston K. J. et al. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets//Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. — 1993. — Т. 13. — №. 1. — С. 5—14.
13. Tadel F. et al. Brainstorm: a user-friendly application for MEG/EEG analysis//Computational intelligence and neuroscience. — 2011. — Т. 2011.
14. Воронов В.Г., Щекутьев Г.А., Гриндель О.М. Пакет программ для статистического сравнения записей ЭЭГ//Материалы международной конференции «Клинические нейронауки: нейрофизиология неврология, нейрохирургия», Украина, Крым, Гурзуф. — 2003. — С. 22—24.
15. Гаврон А.А. и др. Групповой и индивидуальный фМРТ-анализ основных сетей покоя здоровых испытуемых//Журнал высшей

- нервной деятельности им. ИП Павлова. — 2019. — Т. 69. — №. 2. — С. 150—163.
16. Schorr B. et al. Coherence in resting-state EEG as a predictor for the recovery from unresponsive wakefulness syndrome//Journal of neurology. — 2016. — Т. 263. — №. 5. — С. 937—953.
  17. Oknina L. B. et al. Switching between Neural Networks Is Necessary for Consciousness Recovery after Severe Traumatic Brain Injury// Human Physiology. — 2022. — Т. 48. — №. 1. — С. 46—55.

## COMPARATIVE EEG-ANALYSIS OF THE BRAIN FUNCTIONAL ACTIVITY IN HEALTHY PEOPLE WHEN LISTENING TO ACOUSTIC STIMULES OF DIFFERENT COMPLEXITY

Zigmantovich A. S. <sup>1</sup>, Masherov E. L. <sup>2</sup>, Sharova E. V. <sup>1</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Science

2 Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery

**Abstract:** Acoustic stimulation is one of the promising techniques aimed at revealing “hidden consciousness” in patients with long-term conscious depression in pathology, including severe traumatic brain injury. However, the scientific literature does not provide a unified view about the neurophysiological perception mechanisms of acoustic stimuli of different complexity, even in the normal group. The aim of the study was to identify the features of the neural network organization of the brain when listening to acoustic stimuli (simple sound tone, music, songs) according to EEG connectivity (in comparison with fMRI resting networks) in healthy subjects. For the resting state, a significant topographic correspondence of zones with a high concentration of functional EEG connections with components of several fMRI networks (internetwork connectivity areas) was revealed. Under acoustic loading of varying complexity, the loci of enhancing EEG connectivity coincide with the topography of auditory, speech, executive control, and fronto-parietal fMRI functional networks.

**Keywords:** EEG connectivity, functional networks, resting fMRI

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА IL6 У ДЛИТЕЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС В ПЕРИОД ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-110-112

Игнатова П. Д.<sup>1</sup>, Ереско С. О.<sup>2,3</sup>, Айрапетов М. И.<sup>1,2</sup>

1 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗРФ, Санкт-Петербург, Россия

2 ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

3 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» МЗРФ, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: ignatova.polly@yandex.ru*

**Аннотация:** Изучение роли цитокинов при воспалительных процессах головного мозга относится к числу актуальных направлений нейрофизиологии. Работа направлена на определение изменений уровня экспрессии генов семейства IL6 у крыс, употреблявших алкоголь на протяжении 2 месяцев, в период отмены алкоголя. В работе проводилось исследование по определению уровня экспрессии методом Реал-тайм ПЦР для IL6 и IL11 в трех структурах головного мозга: гиппокампе, прилежащем ядре и амигдале.

**Ключевые слова:** нейровоспаление; цитокины; длительная алкоголизация; IL6; IL11

Анализ литературных источников показал способность цитокинов семейства IL6 вносить изменения в механизмы развития таких заболеваний, как рассеянный склероз, аутоиммунный энцефаломиелит и ишемия головного мозга [1—3]. Повышение экспрессии гена IL6 чаще всего служит признаком развития нейровоспалительного процесса, тогда как у другого цитокина из этого же семейства, IL11, на данный момент можно предположить наличие двойственного эффекта в развитии воспаления головного мозга — как провоспалительного, так и противовоспалительного.

Работа направлена на оценку влияния длительной алкоголизации на относительное содержание мРНКIL6 и IL11 в головном мозге у крыс в период отмены алкоголя.

## **Методика.**

Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар (n=24, в группе по 8 крыс). Моделирование алкоголизации осуществлялось посредством внутрижелудочного введения 20%-го р-ра этанола (2 г/кг) на протяжении 2 мес. По окончании эксперимента на 10-е сут. отмены алкоголя забирались образцы структур головного мозга: гиппокамп (HIP), прилежащее ядро (NAc), амигдала (AMY). Контрольная группа животных получала эквивалентный объем воды внутрижелудочно. Была получена суммарная РНК, выполнены ОТ и Реал-тайм ПЦР. Данные были статистически обработаны. В качестве статистического критерия достоверности использовали t-критерий Стьюдента.

## **Результаты.**

Результаты эксперимента показали, что длительная алкоголизация привела к снижению уровня мРНКIL11 в NAc (в 3,86 раза,  $p \leq 0.05$ ) и HIP (в 7,94 раза,  $p \leq 0.05$ ) мозга крыс в период отмены алкоголя, при этом уровень мРНКIL11 в AMY 3,56 раза ( $p \leq 0.05$ ). Длительная алкоголизация привела к снижению уровня мРНКIL6 в NAc (в 1,62 раза,  $p \leq 0.05$ ), в HIP и AMY мозга крыс статистически значимых изменений не было обнаружено в содержании мРНКIL6.

## **Заключение.**

Длительная алкоголизация (2 мес.) привела к снижению уровня мРНКIL6, IL11 в NAc и IL11 в HIP и к повышению мРНКIL11 в AMY мозга на 10-е сут. отмены алкоголя у крыс. Данные результаты выявляют прямо пропорциональную зависимость между данными цитокинами, но на данный момент нельзя достоверно определить роль IL11 в нейровоспалительных процессах головного мозга, для этого необходимо провести дальнейшие исследования.

## **Список литературы:**

1. Zhang X, Kiapour N, Kapoor S, Khan T, Thamilarasan M, Tao Y, Cohen S, Miller R, Sobel RA, Markovic-Plese S. IL-11 Induces Encephalitogenic Th17 Cells in Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. // *Journal Immunology*. — 2019. — № 203 (5). — С. 1142—1150.
2. Zhang B, Zhang HX, Shi ST, Bai YL, Zhe X, Zhang SJ, Li YJ. Interleukin-11 treatment protected against cerebral ischemia/reperfusion injury. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. — 2019. — № 115. — С. 1—11.

3. Airapetov M., Eresko S., Lebedev A., Bychkov E., Shabanov P. The role of Toll-like receptors in neurobiology of alcoholism//BioScience Trends. — 2021. — № 2. — C. 74—82.

## **CHANGES IN THE EXPRESSION LEVEL OF IL6 FAMILY GENES IN LONG-TERM ALCOHOLIZATION RATS DURING ALCOHOL WITHDRAWAL**

**Ignatova P. D.<sup>1</sup>, Yeresko S. O.<sup>2,3</sup>, Airapetov M. I.<sup>1,2</sup>**

1 St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

2 Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russia

3 St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

**Abstract:** The study of the role of cytokines in inflammatory processes of the brain is one of the relevant areas of neurophysiology. The work is aimed at determining changes in the expression level of IL6 family genes in rats who consumed alcohol for 2 months during the alcohol withdrawal period. A study was conducted to determine the expression level by Real-time PCR reaction for IL6 and IL11 in three brain structures: hippocampus, nucleus accumbens and amygdala.

**Keywords:** neuroinflammation; cytokines; prolonged alcoholism; IL6; IL11



## ХАРАКТЕРИСТИКА КАНАЛЬНОГО РОДОПСИНА ИЗ ВОДОРОСЛИ *PLATYMONAS SUBCORDIFORMIS*, ЭКСПРЕССИРОВАННОГО В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-113-118

Иджилова О. С., Смирнова Г. Р., Малышев А. Ю.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*E-mail: olgaidzh@gmail.com*

**Аннотация:** В данной работе на первичных культурах нейронов гиппокампа проведено электрофизиологическое исследование нового канального родопсина, выделенного из водоросли *Platymonas subcordiformis* (PSCHR2). Показано, что нейроны, экспрессирующие PSCHR2, способны стабильно генерировать светоиндуцированные потенциалы действия при частотах импульсной световой стимуляции вплоть до 40—50 Гц (в сравнении с 20—30 Гц у классического канального родопсина-2 (CHR2)). При стимуляции светом с длиной волны 530 нм, который применяется для возбуждения красных флуоресцентных меток и зондов, амплитуда фототока в нейронах с PSCHR2 оказалась в среднем в 3,7 раза ниже, чем у нейронов с CHR2, хотя потенциалы действия могли возникать в обоих случаях. При стимуляции светом с длиной волны 550 нм в нейронах, экспрессирующих как PSCHR2, так и CHR2, индуцировался низкоамплитудный подпороговый ответ, не содержащий потенциалов действия. Таким образом, PSCHR2 является перспективным оптогенетическим инструментом с несколько отличающейся от CHR2 формой спектра возбуждения, превосходящим классический CHR2 по частотным характеристикам.

**Ключевые слова:** оптогенетика, канальный родопсин, светоиндуцированный ток, пэтч-кламп, *Platymonas subcordiformis*.

В оптогенетике существует потребность в широком арсенале светочувствительных белков, специализированных под разные задачи. Часто полезные инженерные решения предлагает сама природа, как это было в случае ныне широко используемого канального родопсина-2 (CHR2) из одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* [1]. В данной работе мы исследовали функциональные

свойства недавно открытого катионного канального родопсина PSCHR2, найденного у другой зеленой водоросли, *Platymonas subcordiformis*. Согласно литературным данным, для PSCHR2, если сравнивать его с CHR2, характерно, во-первых, более быстрое восстановление максимальной амплитуды светоиндуцированного тока при последовательной стимуляции, а во-вторых, смещенный в синюю область спектр возбуждения [2]. Благодаря упомянутым свойствам, PSCHR2 обладает хорошим потенциалом для применения в оптогенетике. Как мы показали, у нейронов, экспрессирующих PSCHR2, диапазон стабильной генерации светоиндуцированных потенциалов действия (с верхней границей 40—50 Гц) более широк, чем у нейронов, экспрессирующих CHR2 (до 20—30 Гц). Нейроны, экспрессирующие как первый, так и второй опсин, были способны генерировать потенциалы действия при стимуляции достаточно ярким зеленым светом с длиной волны 530 нм, но не 550 нм. Это означает, что в оптогенетическом эксперименте длину волны 550 нм можно задействовать для возбуждения других светоактивируемых белков, без риска повлиять на активность нейронов, экспрессирующих изучаемые опсины.

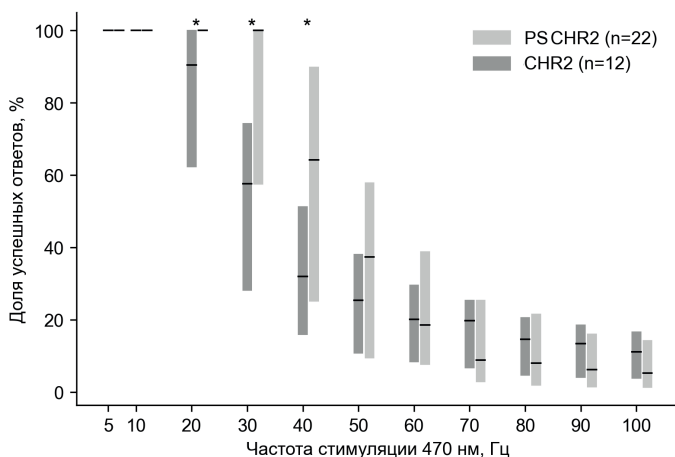
### **Методика.**

Первичные культуры нейронов были приготовлены по стандартной методике [3] из гиппокампа 0—1-дневных мышат линии ICR. На 5—6 день *in vitro* проводилась вирусная трансдукция культур одним из двух аденоассоциированных вирусов типа AAV2, содержащим либо CHR2, либо PSCHR2, под промотором CAG, с присоединенной последовательностью репортерного флуоресцентного белка Venus. На 14—20 сутки *in vitro* производилась электрофизиологическая регистрация активности нейронов методом пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка». Световая стимуляция осуществлялась через объектив эпифлуоресцентного микроскопа с помощью трех светодиодов с максимумами излучения 470 нм (для импульсной стимуляции и записи референсных ответов), 530 и 550 нм.

### **Результаты.**

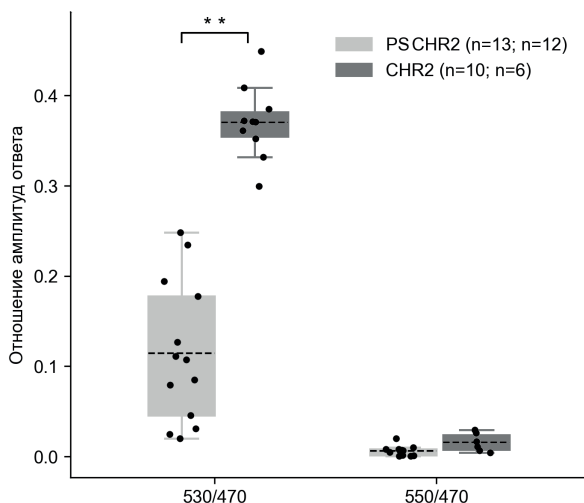
Мы охарактеризовали способность нейронов, экспрессирующих канальные родопсины, отвечать на импульсную световую стимуляцию в диапазоне частот 5—100 Гц. Потенциал действия, сгенерированный в ответ на короткий световой импульс, считался успешным ответом. При частотах стимуляции 20—40 Гц у нейронов

с PSCHR2 процент успешных ответов был статистически значимо выше, чем у нейронов с CHR2 (см. рис. 1).



**Рис. 1.** Частотные характеристики ответов нейронов на импульсную световую стимуляцию на длине волны 470 нм. Закрашенными прямоугольниками обозначен квартильный размах, горизонтальные черты — медианы. \* — статистически значимое различие (критерий Манна-Уитни,  $p < 0,05$ ).

Мы сравнили характеристики ответа нейронов, экспрессирующих PSCHR2 и CHR2, на продолжительную стимуляцию светом зеленой области спектра (530 нм и 550 нм), который применяется для визуализации красных флуоресцентных индикаторов активности нейронов. При длине волны стимула 530 нм амплитуда стационарной компоненты фотоиндуцированного трансмембранного тока у группы «PSCHR2» была статистически значимо ниже, чем у «CHR2» (рис. 2). Соотношение амплитуд 530/470 для PSCHR2 составляло  $0,10 \pm 0,08$ , для CHR2 —  $0,37 \pm 0,04$  ( $p < 0,01$ , t-критерий Уэлча). При повышении интенсивности стимула выше пороговой в нейронах обеих групп возникали светоиндуцированные потенциалы действия. При длине волны стимуляции 550 нм амплитуды тока в обеих группах были близки к нулю и значимо не различались и нейроны не генерировали потенциалы действия даже при максимально возможной интенсивности стимула.



**Рис. 2.** Относительная величина трансмембранного тока, который возникал в нейронах в ответ на световые стимулы с длиной волны 530 нм и 550 нм. Амплитуды тока отнормированы на амплитуду ответа на стимул 470 нм. Пунктирные линии — средние значения. \*\* — статистически значимое различие ( $p < 0,01$ ,  $t$ -критерий Уэлча).

При этом максимальная амплитуда стационарной компоненты фототока при освещении референсным стимулом (с длиной волны 470 нм) между группами значимо не различалась. Это говорит о достаточно высокой пропускной способности PSCHR2 в нейронах как экзогенного катионного канала.

### **Заключение.**

Изученный нами канальный родопсин PSCHR2 обладает двумя свойствами, которые обеспечивают ему преимущество над канальным родопсином-2 с точки зрения оптогенетики. А именно, как мы показали, PSCHR2 может быть крайне полезен при возникновении необходимости в высоких частотах светоиндуцированных потенциалов действия (например, для проведения экспериментов с индукцией синаптической пластичности), а также в случаях параллельного использования вместе с канальным родопсином красных флуоресцентных зондов (например, кальциевых индикаторов или подобного рН-флуорину рНTomato, используемого для оптической регистрации высвобождения нейромедиатора), для активации которых используется свет зеленой области спектра [4], [5].

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075—15—2020—795, внутренний номер 13.1902.21.0027).*

### **Список литературы:**

1. Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, Nagel G, Deisseroth K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci.* 2005; 8 (9):1263—1268. doi:10.1038/nn1525
2. Govorunova EG, Sineshchekov OA, Li H, Janz R, Spudich JL. Characterization of a highly efficient blue-shifted channelrhodopsin from the marine alga *Platymonas subcordiformis*. *J Biol Chem.* 2013;288 (41):29911—29922. doi:10.1074/jbc.M113.505495
3. Beaudoin G., Lee SH., Singh D. et al. Culturing pyramidal neurons from the early postnatal mouse hippocampus and cortex. *Nat Protoc* 2012; 7: 1741—1754. doi:10.1038/nprot.2012.099
4. Hochbaum DR, Zhao Y, Farhi SL, et al. All-optical electrophysiology in mammalian neurons using engineered microbial rhodopsins. *Nat Methods.* 2014;11 (8):825—833. doi:10.1038/nmeth.3000
5. Ohkura M, Sasaki T, Kobayashi C, Ikegaya Y, Nakai J. An improved genetically encoded red fluorescent Ca<sup>2+</sup> indicator for detecting optically evoked action potentials. *PLoS One.* 2012;7 (7): e39933. doi:10.1371/journal.pone.0039933

## **CHARACTERIZATION OF CHANNELRHODOSPIN FROM THE ALGA PLATYMONAS SUBCORDIFORMIS IN MURINE PRIMARY HIPPOCAMPAL CULTURES**

**Idzhilova O. S., Smirnova G. R., Malyshev A. Yu.**

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** Here, we present an electrophysiological study of the recently discovered channelrhodopsin from the alga *Platymonas subcordiformis* (PSCHR2) virally transduced into primary neuronal cultures. We showed that PSCHR2-expressing neurons are able to fire light-induced action potentials consistently when stimulated at frequencies up to 40—50 Hz (compared to 20—30 Hz for channelrhodopsin-2 (CHR2)). Amplitude of light-induced current was 3.7 times lower for PSCHR2 compared to CHR2 upon light stimulation with

530 nm light, which is generally utilized to activate red fluorescent markers and probes. When stimulated with 550 nm light, both PSCHR2 and CHR2-expressing neurons developed subthreshold responses that never contained any action potentials. Therefore, PSCHR2 proved to be a promising optogenetic tool — while its action spectrum in neurons is somewhat different from that of CHR2's, PSCHR2 outperforms CHR2 in frequency response characteristics when expressed in neurons.

**Keywords:** optogenetics, channelrhodopsin, light-induced current, patch clamp, *Platymonas subcordiformis*.

## МОРФОЛОГИЯ МИНДАЛИНЫ, ТАЛАМУСА И СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-119-123

Иерусалимский Н. В.<sup>1,2</sup>, Самотаева И. С.<sup>1,2</sup>,  
Каримова Е. Д.<sup>1,2</sup>

1 ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии»  
Российской академии наук, Москва, Россия

2 ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр имени  
З. П. Соловьева» Департамента здравоохранения города Москвы, Россия.

*E-mail ierusalimskii.nv14@physics.msu.ru*

**Аннотация:** В работе проводилась оценка морфологических особенностей миндалины, таламуса и ствола головного мозга при височной эпилепсии. Морфометрический анализ проводился по данным МРТ испытуемых, группу пациентов с височной эпилепсией (ВЭ) (80 человек) сравнивали с группой контроля (48 человек). Анализировали различия для ядер таламуса и миндалины и частей ствола мозга. Были найдены значимые различия в объемах ядер и частей структур, соответствующие различиям для полного объема каждой структуры.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография; височная эпилепсия; морфометрический анализ; таламус; миндалина;

Эпилепсия — наиболее распространённое хроническое неврологическое заболевание, которым страдают около 65 миллионов человек в мире. Ранее для пациентов с ВЭ нами было найдено значимое снижение объема таламуса билатерально и ствола мозга по сравнению с группой контроля. Также на уровне тенденции мы обнаружили увеличение объемов миндалины билатерально. Для уточнения того, какие изменения в ядрах таламуса, частях ствола мозга и ядрах миндалины привели к уменьшению и увеличению их объемов соответственно была проведена сегментация указанных структур.

**Гипотеза исследования:** Развитие височной эпилепсии влияет на морфологические особенности миндалины, таламуса и ствола головного мозга.

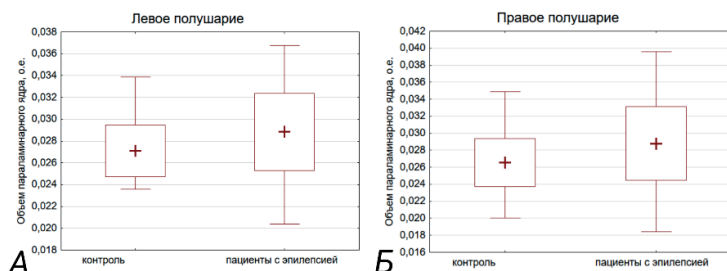
**Цель исследования:** Оценить влияние височной эпилепсии на морфологические особенности указанных выше структур головного мозга.

### Методика.

Обследовано 80 пациентов с ВЭ (17—60 лет) и 48 здоровых испытуемых сопоставимого возраста. МРТ-исследование головы проводилось по эпилептическому протоколу на томографе с напряженностью 1,5 Т. Для определения объемов ядер таламуса и миндалины и частей ствола головного мозга МРТ-данные были обработаны с помощью программного обеспечения FreeSurfer 7.2.0 и затем проанализированы в программе SPSS Statistics 17.0 IBM. Для пациентов с ВЭ и контрольной группы был проведен ковариационный анализ с факторами: 1) наличие эпилепсии и 2) пол и ковариатой: возраст. Для коррекции эффекта множественных сравнений была применена поправка Холма-Бонферрони. Коррекция проводилась отдельно для таламуса, миндалины и ствола головного мозга. На рисунках приведены объемы, нормированные на полный внутрочерепной объем.

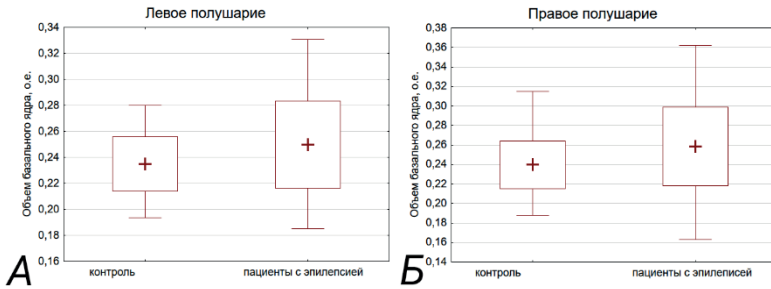
### Результаты.

Для пациентов с ВЭ по сравнению с группой контроля для ядер миндалины было обнаружено увеличение объема параляминарного ядра билатерально (Рис. 1. А, слева  $p=0.004$ , Рис. 1. Б, справа  $p=0.002$ ), увеличение базального ядра билатерально (Рис. 2. А, слева  $p=0.005$ , Рис. 2. Б, справа  $p=0.004$ ), увеличение кортикоамигдалоидной переходной области в левом полушарии (Рис. 3. А,  $p=0.000$ ), увеличение всей миндалины в левом полушарии (Рис. 3. Б,  $p=0.004$ ) и тенденция для увеличения всей миндалины в правом полушарии (Рис. 3. В,  $p=0.009$ ). Увеличение всей миндалины у пациентов соответствовало ранее полученным данным.

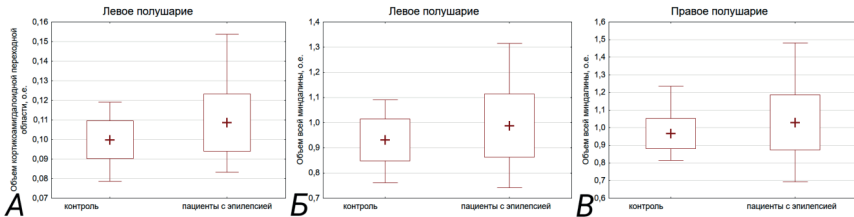


**Рис. 1.** Объем параляминарного ядра в левом полушарии (А) и в правом (Б). Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение.



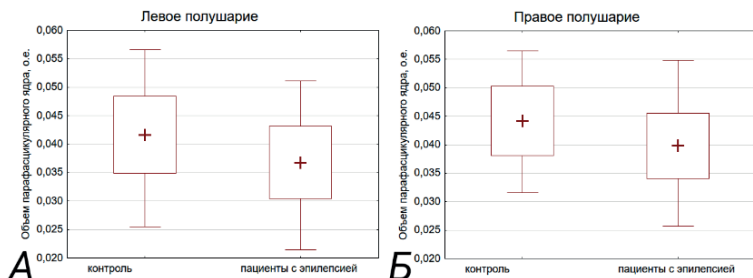


**Рис. 2.** Объем базального ядра в левом полушарии (А) и в правом (Б). Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение.

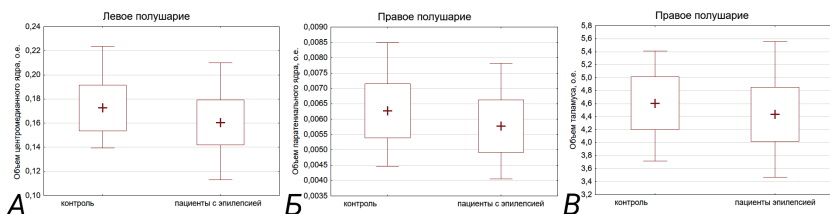


**Рис. 3.** Объемы кортикоамигдалоидной переходной области в левом полушарии (А), всей миндалины в левом полушарии (Б) и объем всей миндалины в правом полушарии. Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение.

Для таламуса для пациентов с ВЭ по сравнению с контролем было обнаружено уменьшение парафасцикулярного ядра билатерально (Рис. 4 А, слева  $p=0.000$ , Рис. 4. Б, справа  $p=0.000$ ), уменьшение центромедианного ядра в левом полушарии (Рис. 5. А,  $p=0.001$ ) и уменьшение паратениального ядра в правом полушарии (Рис. 5. Б,  $p=0.003$ ). При этом для правого таламуса наблюдалась тенденция к уменьшению для всего таламуса (Рис. 5. В). Уменьшение таламуса также соответствовало ранее полученным данным.

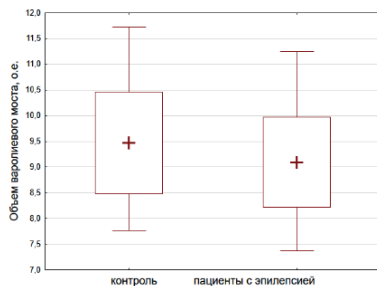


**Рис. 4.** Объем парафасцикулярного ядра в левом полушарии (А) и в правом полушарии (Б). Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение.



**Рис. 5.** Объем центромедианного ядра в левом полушарии (А), парамедианного ядра в правом полушарии (Б) и всего таламуса в правом полушарии (В). Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение

И наконец, для ствола мозга для пациентов с ВЭ по сравнению с группой контроля было обнаружено уменьшение объема варолиевого моста (Рис. 6,  $p=0.012$ ), также наблюдалась тенденция для всего ствола мозга до коррекции на множественные сравнения, что соответствовало ранее полученным данным.



**Рис. 6.** Объем варолиевого моста. Горизонтальные планки обозначают средние, минимум, максимум и стандартное отклонение.

### **Заключение.**

Для миндалины, таламуса и ствола мозга были найдены значимые различия в объемах ядер или частей структур, соответствовавшие значимому различию в объемах всей структуры для пациентов с ВЭ по сравнению с группой контроля. Таким образом, были обнаружены особенности морфологии таламуса, миндалины и ствола мозга у пациентов с височной эпилепсией.

## **THE MORPHOLOGY OF THE AMYGDALA, THALAMUS AND BRAIN STEM IN PATIENTS WITH TEMPORAL LOBE EPILEPSY**

**Ierusalimsky N. V.** <sup>1,2</sup>, **Samotaeva I. S.** <sup>1,2</sup>, **Karimova E. D.** <sup>1,2</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.

2 Moscow Research and Clinical Center for Neuropsychiatry, Healthcare Department of Moscow, Moscow, Russia.

**Abstract:** The morphological features of the thalamus, amygdala and brain stem in patients with temporal lobe epilepsy (TLE) was assessed in the study. Morphometric analysis was carried out according to the MRI data of the subjects, patients group with TLE (80) was compared with the control group (48). Differences between groups for the volumes of the amygdala and thalamic nuclei and brain stem parts were analyzed. Significant differences in the volumes of nuclei or parts of the structures were found, they correspond to the significant differences in the total structure volumes when comparing the group of patients with the control group.

**Keywords:** epilepsy; morphometry; MRI; amygdala; thalamus

# ИНТЕРФЕЙС МОЗГ–КОМПЬЮТЕР НА ОСНОВЕ СПЕКТРОМЕТРИИ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА В РЕАБИЛИТАЦИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-124-129

Исаев М. Р.<sup>1</sup>, Бобров П. Д.<sup>1</sup>, Люкманов Р. Х.<sup>2</sup>

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

2 Научный центр неврологии, Москва, Россия

*e-mail: isaev.mikhail@ihna.ru*

**Аннотация:** В работе описаны клинические эксперименты с интерфейсом мозг–компьютер, основанным на спектроскопии в ближней инфракрасной области. Интерфейс использовался для тренировки представления движений у пациентов с нарушениями мозгового кровообращения. Получены результаты по точности распознавания состояний в режиме реального времени при использовании набора методов по обработке и классификации сигнала. продемонстрирован отклик на представление движений, а также динамика его изменений в течение реабилитации.

**Ключевые слова:** интерфейс–мозг компьютер, спектрометрия ближнего инфракрасного диапазона, воображение движений, реабилитация

Интерфейс мозг–компьютер (ИМК), это система, позволяющая взаимодействовать человеку или животному с окружающей средой, используя только активность головного мозга [5]. Одной из сфер применения ИМК является реабилитация постинсультных и посттравматических больных [2, 3]”ISSN”:"23289503””PMID”:"29761128””abstract”:"Brain-computer interfaces (BCIs). Показано, что эффективность реабилитации увеличивается при использовании ИМК [1]. Относительно новым способом регистрации активности мозга в ИМК является спектроскопия в ближнем инфракрасном диапазоне (БИКС) [4]. В работе [6] проводились эксперименты по управлению ИМК на здоровых испытуемых. Были предложены методы предобработки данных, выбора признаков, фильтрации и дообучения, которые увеличивают точность распознавания и позволяют предъявлять обратную связь в режиме реального времени. В текущей работе были проведены эксперименты по управлению этим

ИМК пациентами, проходившими курс реабилитации в Научном центре неврологии (ФГБНУ НЦН). Оценивалась точность распознавания состояний и величина отклика на выполнение инструкций.

В экспериментах приняло участие 4 испытуемых мужского пола, правой рукой. Пациент 1 перенёс острое нарушение мозгового кровообращения с образованием инфаркта в бассейне правой средней мозговой артерии с развитием левостороннего гемипареза. Возраст 49 лет, давность заболевания меньше месяца. Пациент 2 перенёс острое нарушение мозгового кровообращения с образованием инфаркта в бассейне левой средней мозговой артерии с развитием правостороннего гемипареза и сенсорно-моторной афазии. Возраст 70 лет, давность заболевания 12 месяцев. Пациент 3 перенёс нарушение мозгового кровообращения с развитием инфаркта в бассейне левой средней мозговой артерии с развитием правостороннего гемипареза, сенсорно-моторной афазии. Возраст 58 лет, давность заболевания 12 месяцев. Пациент 4 перенёс нарушение мозгового кровообращения с развитием инфаркта в системе правой внутренней сонной артерии с развитием правостороннего гемипареза, зрительных нарушений. Возраст 58 лет, давность заболевания 8 месяцев. Всем пациентам в течение двух недель был проведён курс реабилитации:

- Индивидуальное занятие лечебной гимнастикой с инструктором-методистом № 10;
- Нервно-мышечная электростимуляция ноги № 10;
- Лечебный массаж руки и ноги № 10;
- Роботизированная механотерапия с биологической обратной связью для восстановления мелкой моторики в кисти № 10;
- Механотерапия — тренажёр-велозергометр Kariomedcycle № 10;
- ИМК НИРС с визуальной обратной связью № 10.

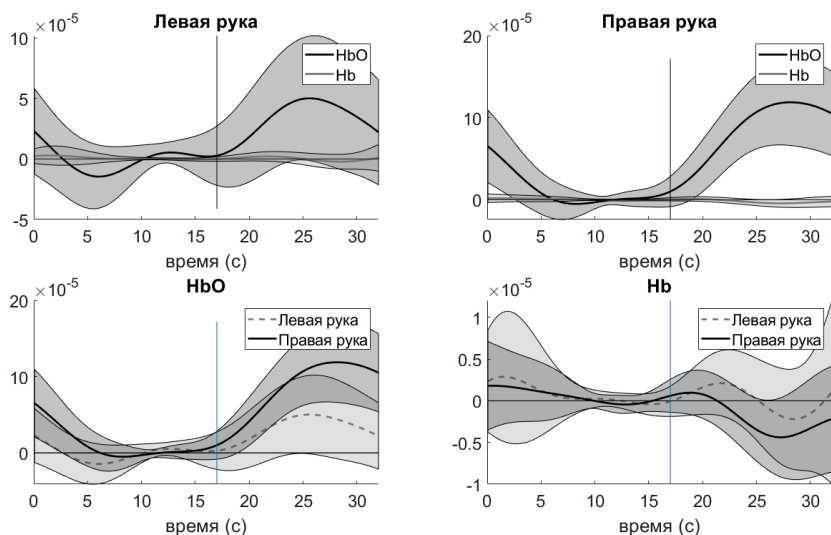
Испытуемый сидел в кресле перед монитором компьютера. Инструкции предъявлялись в виде стрелок, влево — представления движения левой рукой, вправо — правой рукой, вверх — спокойное бодрствование. Инструкции предъявлялись по блокам, всего 4 блока в одной сессии. Один блок состоял из двух левых и двух правых стрелок, предъявленных в случайном порядке. Все инструкции с активными состояниями чередовались с состояниями покоя. Длительность каждой инструкции составляла 15 секунд. Визуальная обратная связь была представлена в виде круга в центре экрана, размер которого увеличивался при правильном распознавании и уменьшался в противоположном случае.

Для регистрации БИКС–сигнала использовался прибор «NIRScout» компании «NIRx Medical Technologies» с 8 детекторами и 16 источниками излучения в ближней инфракрасной области. Источники и детекторы излучения располагались в гнездах электроэнцефалографической шапки. Частота регистрации сигнала составляла 15.625 Гц. Регистрируемые интенсивности излучения пересчитывались в относительные концентрации окси (HbO) и дезоксигемоглобина (Hb) с помощью модифицированного закона Бугера–Ламберта–Бера. Для классификации активных состояний сигнал фильтровался с помощью фильтр верхних частот Чебышева первого рода первого порядка с неравномерностью в полосе пропускания 1 дБ и частотой среза 0.005 Гц. Для классификации покой–активное состояние сигнал фильтровался с помощью полосового фильтра Чебышева первого рода второго порядка с неравномерностью в полосе пропускания 1 дБ. Частоты среза подбирались так, чтобы обеспечить нулевой сдвиг фаз на частоте предъявления инструкций. Для классификации использовался линейный дискриминантный анализ с дообучением на предыдущих блоках текущей сессии и предыдущих экспериментальных сессиях данного испытуемого. Классификация шла ступенчато: сначала классификация покой–активное состояние, в случае распознавания активного состояния — классификация левая рука–правая рука. Классифицировались секундные интервалы записи.

Точность распознавания трёх состояний в реальном времени всех блоков, включая первый у каждого испытуемого составляла соответственно (указаны медиана, 1 и 3 квартили): 45 [34; 50] %, 68 [57; 73] %, 43 [40; 47] %, 43 [37; 52] %. Для оценки динамики точности распознавания была проведена офлайн классификация без дообучения, т.к. точность распознавания с дообучением растёт при накоплении предыдущих сессий. У пациента 2 наблюдался достоверный рост точности распознавания покой–активное состояние, генеральный угловой коэффициент линии регрессии достоверно выше 0 ( $p < 0.05$ ), коэффициент детерминации 0.45. У остальных пациентов и при распознавании активных состояний достоверной положительной или отрицательной динамики классификации обнаружено не было.

В целом, точность классификации покой–активное состояние была высокой у всех пациентов и составляла в среднем 90 [75; 96] %. Это говорит о том, что у всех пациентов наблюдался отклик на выполнение инструкций, связанных с представлением движения.

Стоит добавить, что он наблюдается в обоих полушариях, а также отклик на представление паретичной руки может превышать аналогичный для здоровой, причём в каналах из поражённого полушария. На Рис. 1 отмечен усреднённый отклик пациента 2 в одной экспериментальной сессии в канале из левого полушария. Видно, что отклик присутствует, как при воображении левой руки, так и при воображении правой руки. Причём, при воображении правой руки с парезом этот отклик больше, чем при воображении здоровой левой.

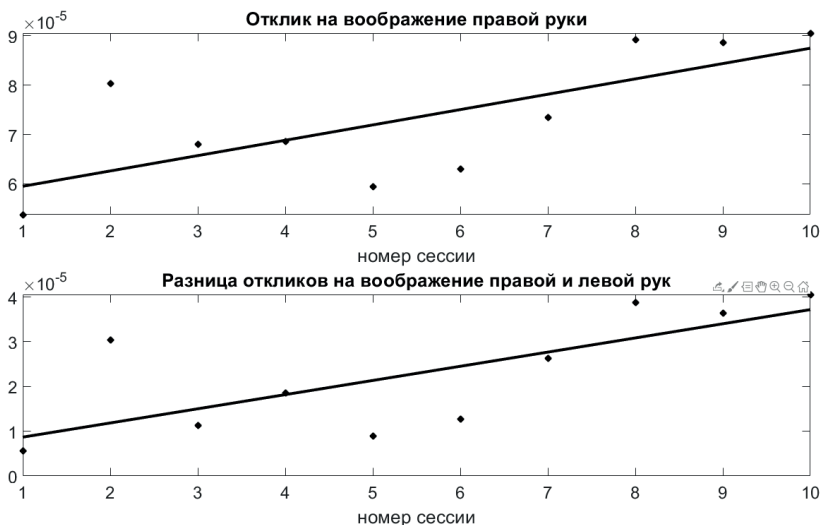


**Рис. 1.** Усреднённый отклик на выполнение активных инструкций у пациента 2 в одной экспериментальной сессии на канале из левого полушария. Вертикальной чертой отмечено начало активного состояния. Областями закрашены стандартные отклонения. По вертикальной оси отложены относительные концентрации.

Было рассмотрено, как величина отклика изменяется в течение реабилитации. В качестве величины отклика бралась разница между максимальной амплитудой сигнала в активном состоянии и средней величиной сигнала за последние 10 секунд предыдущего состояния покоя. На Рис. 2 изображён усреднённый по всем каналам из левого полушария отклик на воображение правой руки и разница откликов на воображение правой и левой рук у пациента 2 в различные дни реабилитации. Также изображена линия регрес-

сии. В обоих случаях генеральный угловой коэффициент линии регрессии достоверно выше 0 ( $p < 0.05$ ), коэффициент детерминации составляет 0.51 и 0.53 соответственно.

Таким образом, пациентам с нарушениями мозгового кровообращения удаётся управлять ИМК на основе БИКС с помощью представлений движений рук при использовании разработанных ранее методов обработки сигнала. В некоторых случаях наблюдается положительная динамика точности распознавания покой-активное состояние. У пациентов наблюдается отклик на выполнение инструкций, в том числе и в полушариях с нарушением кровообращения, причём отклик на представление паретичной руки может превышать аналогичный для здоровой. К тому же, эта разница может увеличиваться по мере прохождения курса реабилитации. У пациента 2 увеличивался отклик на воображение правой руки в каналах из левого полушария, а также разница между откликом на воображение правой и левой рук в течение реабилитации.



**Рис. 2** Усреднённый по всем каналам из левого полушария отклик на воображение правой (паретичной) руки и разница откликов на воображение правой и левой рук у пациента 2 в различные дни реабилитации. По вертикальной оси отложены относительные концентрации.



## Список литературы:

1. Ang K. K., Guan C. Brain-computer interface in stroke rehabilitation//Journal of Computing Science and Engineering. 2013. № 2 (7). С. 139—146.
2. Bai Z. [идр.]. Immediate and long-term effects of BCI-based rehabilitation of the upper extremity after stroke: A systematic review and meta-analysis//Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation. 2020. № 1 (17). С. 1—20.
3. Cervera M. A. [идр.]. Brain-computer interfaces for post-stroke motor rehabilitation: a meta-analysis//Annals of Clinical and Translational Neurology. 2018. № 5 (5). С. 651—663.
4. Naseer N., Hong K. S. fNIRS-based brain-computer interfaces: A review//Frontiers in Human Neuroscience. 2015. № JAN (9). С. 1—15.
5. Nicolas-Alonso L. F., Gomez-Gil J. Brain computer interfaces, a review//Sensors. 2012. № 2 (12). С. 1211—1279.
6. Исаев М. Р., Бобров П. Д. Влияние выбора стратегии формирования обучающего множества и способа фильтрации на эффективность имк, основанного на спектрометрии в ближнем инфракрасном диапазоне//Журн. высш. нерв. деят. 2022. № 5 (72). С. 728—738.

## BRAIN-COMPUTER INTERFACE BASED ON NEAR INFRARED SPECTROSCOPY IN REHABILITATION

Isaev M. R. <sup>1</sup>, Bobrov P. D. <sup>1</sup>, Lukmanov R. H. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation;

<sup>2</sup> Research Center of Neurology, Russian Federation

**Abstract:** The paper describes clinical experiments with a brain-computer interface based on near-infrared spectroscopy. The interface was used to train patients with cerebrovascular disease movement imagination. Accuracy of online states recognition using a set of methods for signal processing and classification was represented. The response to the movement imaging was demonstrated, as well as the dynamics of its changes during rehabilitation.

**Keywords:** brain-computer interface, near-infrared spectroscopy, movement imaging, rehabilitation

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ RANAX JAPONICUS НА СИСТЕМУ TLR-РЕЦЕПТОРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОТМЕНЫ ДЛИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-130-133

Искалиева А. Р.,<sup>1,2,3</sup> Ереско С. О.,<sup>1,4</sup> Айрапетов М. И.

1 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

2 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

3 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

4 ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: iskalieva.adelia@mail.ru*

**Аннотация:** В работе представлены результаты анализа экспрессии ключевых генов, ответственных за развитие нейровоспаления в головном мозге длительно алкоголизованных крыс. После отмены этанола выполнен 7-дневный курс инъекций суммы гинзенозидов. Оценивали содержание мРНК основных подтипов TLR-рецепторов, адаптерных белков, транскрипционных факторов и цитокинов в прилежащем ядре, гиппокампе, стриатуме. Полученные данные ПЦР в реальном времени свидетельствуют о наличии у гинзенозидов модулирующего влияния на механизмы нейровоспаления в условиях длительной алкоголизации.

**Ключевые слова:** гинзенозиды, TLR, этанол, нейровоспаление.

Интересным представляется оценить влияние гинзенозидов на состояние системы Toll-подобных рецепторов, которая задействована в активации путей развития нейровоспаления в головном мозге крыс в условиях длительной алкоголизации.

## Методика.

Полупринудительная алкоголизация крыс (n=16) 20%-ным р-ром этанола в течение 2 мес. После отмены этанола в течение 7-ми сут. были выполнены инъекции суммы гинзенозидов (МГУ им. М.В. Ло-

монососа) внутривбрюшинно (50 мг/кг, n=8) или физ. р-ра (n=8). Ин-тактная группа крыс (n=10) получала воду. Крыс декапитировали, извлекали необходимые структуры мозга (гиппокамп, прилежащее ядро, стриатум) на хладагенте. РНК выделяли с помощью TRIzol (Евроген, Россия). ОТ проводили с использованием М—MuLV обратной транскриптазы (Евроген, Россия). Реал-тайм ПЦР (Mx3005P, Stratagene, США) проводили в смеси, содержащей SYBR GreenMix (Евроген, Россия), смесь праймеров (Beagle, Россия). Полученные данные нормированы по содержанию мРНК гена Gapdh.

### **Результаты.**

В группе длительной алкоголизации не было обнаружено изменений в содержании мРНК Tlr3 на 7-е сут. отмены алкоголя в стриатуме (STR), тогда как в гиппокампе (HIP) наблюдалось повышение в 1,6 раза, а в прилежащем ядре (NAc) — понижение в 4,7 раза. Содержание мРНК Tlr7 не изменялось в NAc, но было повышено в 1,4 раза в STR и в 3,2 раза в HIP. Уровень содержания мРНК Tlr4 превысил контрольные значения в 1,8 в NAc и в 11,5 раз в HIP. Экспрессия гена адаптерного белка Myd88 повысилась в NAc и HIP, но не изменилась в STR. Содержание мРНК транскрипционных факторов NfκB и IRF3 не изменились в NAc, повысились в гиппокампе в 1,9 и 2,9 раза, соответственно. В STR не обнаружено изменений в содержании NfκB, но выявлено повышение IRF3 в 4,7 раза. Обнаружены изменения в содержании мРНК цитокинов (IL1β, IL6, IL10, IL11, CCL2, IFNγ). Инъекции суммы гинзенозидов достоверно повышают уровень мРНК Tlr3 и снижают уровень мРНК IRF3, что было отмечено во всех исследуемых отделах головного мозга. Снижение уровня мРНК Tlr4 было отмечено только в NAc; и также снижение уровня Tlr7 в HIP и STR. В различных структурах мозга были получены разнонаправленные изменения в содержании экспрессии генов адаптерных белков, транскрипционных факторов и цитокинов в группе животных, получавших инъекции гинзенозидов (50 мг/кг).

### **Заключение.**

Полученные данные указывают на способность суммы гинзенозидов оказывать модулирующее действие на систему Toll-подобных рецепторов в головном мозге длительно алкоголизированных крыс в период отмены алкоголя, хоть эти изменения и носят разнонаправленный характер в различных структурах головного мозга. Это может быть обусловлено тем, что отдельные подвиды гинзено-

зидов отличаются по способности проникать в различные отделы головного мозга. Кроме того, не исключается, что гинзенозиды оказывают опосредованное влияние на систему Toll-подобных рецепторов в головном мозге посредством внесения тех или иных биохимических изменений за пределами тканей головного мозга.

### Список литературы:

1. Wang, D, Zhao, S, Pan, J, Wang, Z, Li, Y, Xu, X, Yang, J, Zhang, X, Wang, Y, Liu M. Ginsenoside Rb1 attenuates microglia activation to improve spinal cord injury via microRNA-130b-5p/TLR4/NF- $\kappa$ B axis. *J Cell Physiol.* 2021 Mar;236 (3):2144—2155.
2. Zhang, Y. Q., Wang, X. B., Xue, R. R., Gao, X. X., Li, W. (2019). Ginsenoside Rg1 attenuates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like effect via regulating NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway in rats. *NeuroReport*, 30 (13), 893—900.
3. Yang, X, Chu, SF, Wang, ZZ, Li, FF, Yuan, YH, Chen, NH. Ginsenoside Rg1 exerts neuroprotective effects in 3-nitropropionic acid-induced mouse model of Huntington's disease via suppressing MAPKs and NF- $\kappa$ B pathways in the striatum. *ActaPharmacol Sin.* 2021 Sep;42 (9):1409—1421.
4. Айрапетов, М. И., Ереско, С. О., Лебедев, А. А., Бычков, Е. Р., Шабанов, П. Д. (2020). Роль TOLL-подобных рецепторов в нейроиммунологии алкоголизма. *Биомедицинская химия*, 66 (3), 208—215.
5. Айрапетов М. И., Ереско С. О., Бычков Е. Р., Лебедев А. А., Шабанов П. Д. Уровень экспрессии Toll-подобных рецепторов изменяется в эмоциогенных структурах мозга крыс в условиях длительной алкоголизации и при отмене этанола. *Медицинская иммунология.* 2020;22 (1):77—86.

## INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PANAX JAPONICUS TRITERPENE GLYCOSIDES ON THE TLR-SYSTEM IN THE RAT BRAIN UNDER CONDITIONS OF WITHDRAWAL OF PROLONGED ALCOHOLISM

## Iskalieva A. R. <sup>1</sup>, Erescko S. O. <sup>1,2,3</sup>, Airapetov M. I. <sup>1,4</sup>

1 Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

2 Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

3 Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia

4 Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

**Abstract:** We present the results of analysis of the expression of key genes responsible for the development of neuroinflammation in the brain of long-term alcoholized rats. After the abolition of ethanol, a 7-day course of injections of the amount of ginsenosides was performed. The mRNA content of the main subtypes of toll-like receptors, adapter proteins, transcription factors, and cytokines in the nucleus accumbens, hippocampus, and striatum was assessed. The obtained real-time PCR data indicate that ginsenosides have a modulating effect on the mechanisms of neuroinflammation under conditions of prolonged alcoholization.

**Keywords:** ginsenosides, TLR, ethanol, neuroinflammation.

## ВЛИЯНИЕ ЛИЗИНСОДЕРЖАЩЕГО ТЕТРАПЕПТИДА НА МЕДЛЕННЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ НОЦИЦЕПТИВНЫХ НЕЙРОНОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-134-137

**Калинина А. Д.**

ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия  
*E-mail: kalininaad@infran.ru*

**Аннотация:** Работа направлена на изучение механизма лиганд-рецепторного связывания лизинсодержащего тетрапептида Ac-Lys-Glu-Lys-Lys-NH<sub>2</sub> (Ac-КЕКК-NH<sub>2</sub>) с медленными натриевыми каналами NaV1.8 методом локальной фиксации потенциала. Показано, что действие короткого пептида на мембрану ноцицептивного нейрона снижает потенциалочувствительность каналов NaV1.8, что может приводить к анальгетическому эффекту.

**Ключевые слова:** ноцицептивный нейрон, каналы NaV1.8, метод локальной фиксации потенциала, короткие пептиды

Известно, что медленные натриевые каналы NaV1.8 мембраны ноцицептивных нейронов отвечают за кодирование и передачу ноцицептивной информации при потенциально повреждающих стимулах. В связи с этим изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе функционирования каналов NaV1.8, представляет интерес при разработке новых безопасных анальгетических лекарственных препаратов [1].

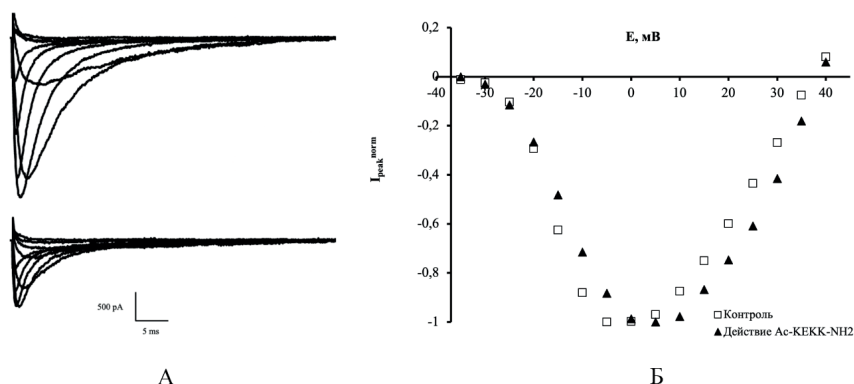
Ранее в рамках изучения коротких аргинин содержащих пептидных молекул, полученных на основе нативной аминокислотной последовательности дефенсина, было показано, что те пептиды, расстояние между гуанидиновыми группами которых в боковых цепях составляет приблизительно 9 ангстрем, эффективно модулируют активационное воротное устройство каналов NaV1.8 [2]. Это приводит к снижению их функциональной активности и к специфическому выключению болевого сигнала. Также было высказано предположение, что лиганд-рецепторное взаимодействие может происходить не только за счет положительно заряженных гуанидиновых фрагментов боковой цепи аргинина, но и за счет аминокислот боковой цепи лизина.

Целью данной работы явилось исследование механизма лиганд-рецепторного связывания вновь синтезированного короткого лизинсодержащего тетрапептида Ас-КЕКК-NH<sub>2</sub> с натриевыми каналами NaV1.8.

### Материалы и методы.

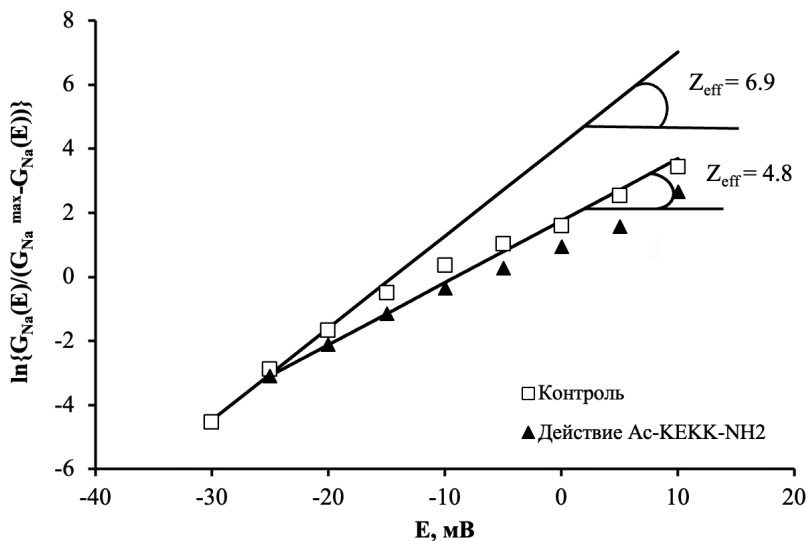
Экспериментальная часть работы проводилась на изолированных сенсорных нейронах, выделенных из дорзальных ганглиев L5-S1 новорожденных крысят линии Wistar методом краткосрочного культивирования. Изменение потенциалочувствительности медленных натриевых каналов NaV1.8 в контроле и после воздействия изучаемого тетрапептида регистрировали методом локальной фиксации потенциала «patch-clamp» в конфигурации «whole-cell recording».

Результаты. Методом локальной фиксации потенциала было показано влияние тетрапептида Ас-КЕКК-NH<sub>2</sub> на возбудимость мембраны ноцицептивных нейронов. По результатам серии экспериментов при действии короткого пептида потенциалочувствительность медленных натриевых каналов NaV1.8, ответственных за кодирование болевых сигналов, снижалась. Медленные натриевые токи каналов NaV1.8 регистрировали до и после действия вновь синтезированного тетрапептида с наружной стороны мембраны сенсорного нейрона (Рис. 1 А). Далее были построены пиковые вольт-амперные характеристики (Рис. 1 Б).



**Рис. 1.** Влияние тетрапептида Ас-КЕКК-NH<sub>2</sub> на потенциалочувствительность медленных натриевых каналов NaV1.8. А. Записи семейств медленных натриевых токов, зарегистрированных в контроле (вверху) и после (внизу) действия трипептида. Б. Графики нормированных пиковых вольт-амперных характеристик.

Процесс лиганд-рецепторного связывания действующей молекулы с натриевыми каналами отражается изменением величины эффективного заряда ( $Z_{eff}$ ) активационного воротного устройства каналов NaV1.8. Для определения численного значения величины  $Z_{eff}$ нами использовался модифицированный метод Алмерса [1, 2]. В результате проведенной серии экспериментов было получено, что величина  $Z_{eff}$  в контроле составила  $6.5 \pm 0.4$  ( $n = 20$ ), после действия тетрапептида Ас-КЕКК-NH2 в концентрации 100 нмоль/л величина  $Z_{eff}$ значительно снижалась до  $Z_{eff} = 4.8 \pm 0.3$  ( $n = 27$ ) (Рис. 2).



**Рис. 2.** Снижение величины  $Z_{eff}$  активационного воротного устройства медленных натриевых каналов NaV1.8. Экспоненциальная функция, представленная в логарифмическом масштабе (ось ординат), позволяет определить величину  $Z_{eff}$  по тангенсу угла наклона асимптот, проведенных к начальным участкам этих функций в контроле и после действия короткого пептида.

**Заключение.** Согласно нашей гипотезе, лиганд-рецепторное связывание лизинсодержащего короткого пептида с медленными натриевыми каналами NaV1.8 может осуществляться за счет образования ион-ионных связей между молекулой натриевого канала и аминокислотной боковой цепи лизина. В данной работе было показано, что тетрапептид Ас-КЕКК-NH2 способен эффективно



модулировать потенциалочувствительность каналов NaV1.8. Дальнейший конформационный анализ позволит подтвердить ранее высказанную нами гипотезу и определить наиболее энергетически выгодные конформации молекул для обеспечения лиганд-рецепторного связывания.

*Работа выполнена при поддержке Госпрограммы ГП-47 «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019—2030), тема 0134—2019—0001*

### Список литературы:

1. Krylov B. V. New Non-opioid Analgesics: Understanding Molecular Mechanisms on the Basis of Patch-clamp and chemical Studies/B. V. Krylov, I. V. Rogachevskii, T. N. Shelykh, V. B. Plakhova — UAE: Bentham Science Publishers Ltd., 2017.
2. Plakhova V. B., Samosvat D. M., Zegrya G. G, Penniyaynen V. A, Kalinina A. D, Ke M., Podzorova S. A., Krylov B. V., Rogachevskii I. V. Role of the Guanidinium Groups in Ligand-Receptor Binding of Arginine-Containing Short Peptides to the Slow Sodium Channel: Quantitative Approach to Drug Design of Peptide Analgesics. International Journal of Molecular Sciences. — 2022 — Vol.23— № 18— P. 10640.

## EFFECT OF LYSINE-CONTAINING TRIPEPTIDE ON SLOW SODIUM CHANNELS OF NOCICEPTIVE NEURONS

Kalinina A. D.

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

**Abstract:** The work is aimed at studying the mechanism of ligand-receptor binding of lysine-containing tetrapeptide Ac-KEKK-NH<sub>2</sub> with slow sodium channels NaV1.8 by patch-clamp technique. It has been shown that the action of a small peptide on the membrane of a nociceptive neuron reduces the potential sensitivity of NaV1.8 channels, this process can lead to an antinociceptive effect.

**Keywords:** nociceptive neuron, NaV1.8 channels, patch-clamp technique, small peptides

# СРЕДНИЙ МОЗГ ОСУЩЕСТВЛЯЕТ ВЫСОКОУРОВНЕВУЮ ОБРАБОТКУ СЛУХОВОЙ ИНФОРМАЦИИ ТОЛЬКО ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ ЗВУЧАНИЯ СТИМУЛА, ТОГДА КАК КОРА СПОСОБНА ОСУЩЕСТВЛЯТЬ ВЫСОКОУРОВНЕВУЮ ОБРАБОТКУ ЗВУКА УЖЕ ВО ВРЕМЯ ЗВУЧАНИЯ СТИМУЛА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-138-143

Канцерова А. О.<sup>1</sup>, Окнина Л. Б.<sup>1</sup>,  
Пицхелаури Д. И.<sup>2</sup>, Подлепич В. В.<sup>2</sup>

1 ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, 117485, ул. Бутлерова, 5 а.

2 ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко Минздрава России, Москва, 125047, Москва, ул. 4-ая Тверская-Ямская, д. 16

*e-mail: [anna.kantserova@gmail.com](mailto:anna.kantserova@gmail.com)*

**Аннотация:** В настоящей работе представлено сопоставление вызванных потенциалов (ВП), зарегистрированных в ответ на простые тоны от среднего мозга у 7 пациентов и со скальпа у 17 здоровых добровольцев. Реакция среднего мозга: вслед за началом звучания простого тона появлялась группа коротколатентных пиков, а вслед за окончанием звучания — высокоамплитудный негативный пик Е. Реакция коры: вслед за началом и окончанием звучания простого тона появлялся комплекс высокоамплитудных длиннолатентных пиков P1-N1-P2 (или P50-N100-P200). На основе полученных данных сделано предположение о том, что то средний мозг осуществляет высокоуровневую (когнитивную) обработку слуховой информации только после окончания звучания стимула (оффлайн), тогда как кора способна осуществлять высокоуровневую (когнитивную) обработку звука и во время его звучания (онлайн). Во время звучания стимула средний мозг осуществляет низкоуровневую (первичную) обработку слухового сигнала, т.е. разделяет слуховые сигналы по длительности, частоте, интенсивности и фазе звуковых колебаний. Главная задача среднего мозга во время звучания стимула состоит в том, чтобы как можно быстрее передать слуховую информацию в кору.

**Ключевые слова:** средний мозг, кора, слуховые вызванные потенциалы, простые тоны, изменение акустической среды.

Человека окружает огромное количество звуков, которые в совокупности представляют собой акустическую среду. Каждое изменение акустической среды воспринимается слуховой системой человека, в которую входят структуры ствола мозга, таламуса и коры [1]. Слуховая система является самой быстрой и точной сенсорной системой человека. Волосковые клетки внутреннего уха работают в тысячу раз быстрее рецепторных клеток сетчатки, а смещения текториальной мембраны, улавливаемые волосковыми клетками внутреннего уха, сравнимы с диаметром атома [2].

Одним из методов исследования физиологии слуховой системы у человека является регистрация вызванных потенциалов (ВП). На слуховых ВП, зарегистрированных со скальпа, в пределах от 50 до 200 мс от изменения акустической среды регистрируется комплекс пиков P1-N1-P2 (или P50-N100-P200) [3], [4]. В том числе, комплекс пиков P1-N1-P2 выделяется в ответ на начало и окончание звучания простого тона [4].

В наших предыдущих исследованиях, выполненных при помощи регистрации биопотенциалов с глубинных электродов от структур среднего мозга в ходе интраоперационного мониторинга (ИОМ), на слуховых ВП была выявлены пики, связанные с началом (S-комплекс, S — от английского “start” — “начало”) и окончанием (E-комплекс, E — от английского “end” — “конец”) звучания простых тонов [5]. В ответ на начало звучания тона появлялась группа коротколатентных пиков, которая с наибольшей вероятностью отражала проведение нервного импульса по слуховым волокнам среднего мозга. В ответ на окончание звучания тона возникал высокоамплитудный негативный пик E с широким основанием, который предположительно являлся отражением анализа звуковой информации структурами среднего мозга.

**Целью данной работы** было выявление компонентов слуховых ВП, появляющихся в ответ на изменения окружающей среды. За изменение акустической среды принимались начало и окончание звучания простого тона.

#### **Задачи данной работы:**

1. Зарегистрировать у здоровых добровольцев слуховые ВП со скальпа.
2. Сопоставить слуховые ВП, зарегистрированные у здоровых добровольцев со скальпа, со слуховыми ВП, зарегистрированными ранее у пациентов на глубинных электродах.

## Методика.

Исследуемая группа состояла из 17 здоровых добровольцев (5 мужчин и 12 женщин; средний возраст  $31 \pm 10$  лет), из которых в финальный анализ было включено 11 человек (5 мужчин и 6 женщин; средний возраст  $32 \pm 12$  лет), у которых был выявлен комплекс пиков P1-N1-P2 в ответ на начало стимула.

Группа сравнения включала пациентов, проходивших хирургическое лечение опухоли четвертого желудочка или задней части третьего желудочка в ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко Минздрава России (Москва). Участие в исследовании было добровольным. Регистрация ВП у пациентов проводилась в рамках интраоперационного мониторинга.

При регистрации ВП от среднего мозга использовали глубокий электрод с тремя металлическими кольцевыми контактами, закреплёнными на пластиковой трубке. Два контакта были записывающими, а один — референтным. Заземляющий электрод располагался в проекции левого плечевого сустава. Регистрация скальповой ЭЭГ проводилась от 12 электродов, расположенных по схеме 10—20 %, и исключала электроды, расположенные в области хирургического доступа. Более подробно строение глубокого электрода и процедура регистрации ВП у пациентов описаны в нашей предыдущей работе [Канцерова и др., 2022].

ЭЭГ/ВП здоровых добровольцев регистрировались от 32 скальповых электродов, расположенных по системе 10—10 % (Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, FCz, FC1, FC2, FC3, FC4, FC5, FC6, Cz, C1, C2, C3, C4, C5, C6, T3, T4, CPz, CP1, CP2, CP3, CP4, CP5, CP6, P3, P4). В качестве референтного использовали мастоидальные электроды с цифровым объединением. Заземляющий электрод располагался в проекции Fpz.

Звуковые последовательности для регистрации слуховых ВП, зарегистрированные в ответ на следующие стимулы:

1. у здоровых добровольцев — 1600 простых тонов частотой 800 Гц и длительностями 300, 400, 500, 600 мс (тонов каждой длительности 400 штук).

2. у всех пациентов — 100 простых тонов частотой 600, 800, 1000 и 2000 Гц и длительностями 100 мс (тонов каждой длительности 25 штук; анализировались ВП в ответ только на тоны 800 Гц для сопоставления с ответами здоровых добровольцев);

3. у одного пациента — 100 простых тонов частотой 800 Гц и длительностями 80, 100, 200, 500 мс (тонов каждой длительности 25 штук);

Звуки в последовательности появлялись псевдослучайно с одинаковой вероятностью появления. Анализ данных включал визуальный и математический анализ. Анализ проводили в программе Brainstorm toolbox (MATLAB). После визуальной оценки качества сигнала ЭЭГ подвергалась фильтрации 2—500 Гц.

В качестве контроля глВП и скВП были рассчитаны псевдо-ВП. Для этого на записи случайным образом были размещены 25 и 1600 маркеров, относительно которых проводилось усреднение.

У здоровых добровольцев скальповые ВП усреднялись относительно начала стимула (скВПС) и относительно окончания стимула (скВПЕ). В обоих типах скВП предстимульный интервал составлял 100 мс.

У пациентов выделялись глубинные ВП (глВП). Все глВП пациентов усреднялись относительно начала стимула. Выделять отдельно глВПСи глВПЕне было необходимости, так как все тоны, предъявляемые пациентам, имели одинаковую длительность.

### **Результаты.**

Анализ скВПСу здоровых добровольцев выявил комплекс пиков P1S-N1S-P2S, который появлялся после начала звучания простого тона. Анализ скВПЕу здоровых добровольцев выявил комплекс пиков P1E-N1E-P2E, который появлялся после окончания звучания простого тона. Латентности пиков P1S, N1S и P2S, рассчитанные от начала звучания стимула, не имели статистически достоверных отличий от латентностей пиков P1E, N1E и P2E, рассчитанных от окончания звучания стимула, соответственно. Полученные данные говорят в пользу того, что оба комплекса пиков имеют сходный механизм генерации и ассоциированы с анализом изменений акустической среды. Это позволяет сделать предположение о том, что кора способна осуществлять высокоуровневую (когнитивную) обработку стимула и во время его звучания, и после окончания его звучания.

Анализ глВП у пациентов выявил группу коротколатентных пиков, появляющуюся после начала звучания стимула, и высокоамплитудный негативный пик E, появившийся после окончания звучания стимула. Латентности пика E имели статистически достоверные отличия от латентностей любого из пиков P1S, N1S, P2S, P1E, N1E или P2E, выявленных у здоровых добровольцев. Форма пика E также была отлична от формы любого из пиков P1S, N1S, P2S, P1E, N1E или P2E. Длиннолатентных пиков, следующих за началом звучания тона, на глВП выявлено не было, что позволяет предпо-

ложить, что средний мозг осуществляет высокоуровневую (когнитивную) обработку слуховой информации только после окончания звучания стимула.

### **Заключение.**

Реакция среднего мозга: вслед за началом звучания простого тона появлялась группа коротколатентных пиков, а вслед за окончанием звучания — высокоамплитудный негативный пик Е. Реакция коры: вслед за началом и окончанием звучания простого тона появлялся комплекс высокоамплитудных длиннолатентных пиков P1-N1-P2 (или P50-N100-P200). Таким образом, можно предположить, что средний мозг осуществляет высокоуровневую (когнитивную) обработку слуховой информации только после окончания звучания стимула (оффлайн), тогда как кора способна осуществлять высокоуровневую (когнитивную) обработку звука и во время его звучания (онлайн). Во время звучания стимула средний мозг осуществляет низкоуровневую (первичную) обработку слухового сигнала, т. е. разделяет слуховые сигналы по длительности, частоте, интенсивности и фазе звуковых колебаний. Главная задача среднего мозга во время звучания стимула состоит в том, чтобы как можно быстрее передать слуховую информацию в кору.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации.*

### **Список литературы:**

1. Kim J. R. Acoustic Change Complex: Clinical Implications//Journal of audiology & otology. 2015. № 3 (19). С. 120—124. DOI:10.7874/JAO.2015.19.3.120.
2. Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessell T. M., Siegelbaum S. A., Hudspeth A. J. Principles of Neural Science. 5th ed. New York: McGraw-Hill Education/Medical, 2012. 682—711 с. ISBN:978—0071390118.
3. Nakagawa K., Otsuru N., Inui K., Kakigi R. Change-related auditory P50: a MEG study//NeuroImage. 2014. (86). С. 131—137. DOI:10.1016/J. NEUROIMAGE.2013.07.082.
4. Hillyard S. A., Picton T. W. ON and OFF components in the auditory evoked potential//Perception & Psychophysics. 1978. № 5 (24). С. 391—398. DOI:10.3758/BF03199736.
5. Канцерова А. О., Окнина Л. Б., Пицхелаури Д. И., Подлепич В. В., Машеров Е. Л., Вологодина Я. О., Зибер И. А. Вызванные потенци-

## THE MIDBRAIN PERFORMS HIGH-LEVEL PROCESSING OF AUDITORY INFORMATION ONLY AFTER THE END OF THE SOUND OF THE STIMULUS, WHEREAS THE CORTEX IS ABLE TO PERFORM HIGH-LEVEL PROCESSING OF AUDITORY INFORMATION ALREADY DURING THE SOUND OF THE STIMULUS

A. O. Kantserova<sup>1</sup>, L. B. Oknina<sup>1</sup>, D. I. Pitshelauri<sup>2</sup>,  
V. V. Podlepich<sup>2</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Science, Moscow, Butlerova str., 5a.

2 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Science, Moscow, 4-Tverskaja-Jamskaja str., 16.

**Abstract:** This paper presents a comparison of evoked potentials (EP) registered in response to simple tones from the midbrain in 7 patients and from the scalp in 17 healthy volunteers. The reaction of the midbrain: after the beginning of the sound of a simple tone, a group of short-latency peaks appeared, and after the end of the sound, a high-amplitude negative peak E appeared. Cortex reaction: after the beginning and end of the sound of a simple tone, a complex of high-amplitude long-latency peaks P1-N1-P2 (or P50-N100-P200) appeared. It has been suggested that midbrain performs high-level (cognitive) processing of auditory information only after the end of the sound of the stimulus (offline), whereas cortex is able to perform high-level (cognitive) sound processing during the sound of the stimulus (online). During the sound of the stimulus, midbrain performs low-level (primary) processing of the auditory signal, i. e. it separates auditory signals by duration, frequency, intensity and phase of sound vibrations. The main task of the midbrain during the sound of the stimulus is to transmit auditory information to the cortex as quickly as possible.

**Keywords:** midbrain, cortex, auditory evoked potentials, simple tones, acoustic change

## ТРАНСКРИПЦИЯ ГЕНОВ Г-КРИСТАЛЛИНОВ В ХРУСТАЛИКЕ *CYPRINUS CARPIO*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-144-148

Капитунова А. И., Доминова И. Н.

Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград, Россия,  
e-mail: AIKapitunova@mail.ru

**Аннотация:** Основной целью работы была оценка уровня транскрипции генов  $\gamma$ М-кристаллинов в хрусталике глаза *Cyprinus carpio*. Для этого методом количественной ПЦР-РВ зафиксирована транскрипция и измерен ее относительный уровень у 5 генов  $\gamma$ М-кристаллинов и кристаллин-подобных белков карпов в возрасте 4, 10 и 14 мес. Для всех возрастных групп установлена специфичность транскрипции в хрусталиках генов *Gcm1*, *Gcm11*, *Gcm21*, *Crygt6*. Транскрипция гена *Gcm212* обнаружена также в мышцах, печени и мозге. Анализ значимости аминокислотной последовательности выявленных  $\gamma$ М-кристаллинов для формирования преломляющих свойств хрусталика выполнен на основе рассчитанных для них величин инкремента показателя преломления. Предполагается, что высокие значения показателя преломления хрусталика определяются не столько относительным содержанием аминокислот в  $\gamma$ М-кристаллинах, сколько их последовательностями, обеспечивающими плотность укладки третичной пространственной структуры этих белков, а также концентрацией этих белков.

**Ключевые слова:** *Cyprinus carpio*, хрусталик,  $\gamma$ М-кристаллины, тканеспецифичность.

Характерной особенностью белкового состава хрусталиков рыб является существенная доля  $\gamma$ М-кристаллинов, которые отвечают за его специфические свойства, характерные для оптического аппарата гидробионтов [1]. Формирование этих свойств в онтогенезе, очевидно, сопровождается изменением паттернов экспрессии отдельных белков этой группы [2]. Основной целью работы была оценка уровня транскрипции генов  $\gamma$ М-кристаллинов в хрусталике глаза *Cyprinus carpio* в раннем онтогенезе. Для этого методом количественной ПЦР-РВ зафиксирована транскрипция и измерен ее относительный уровень у 5 генов  $\gamma$ М-кристаллинов и кристаллин-подобных белков карпов Парской породы, выращиваемых в прудах учебно-опытного рыбоводного хозяйства ФГБОУ ВО «КГТУ».

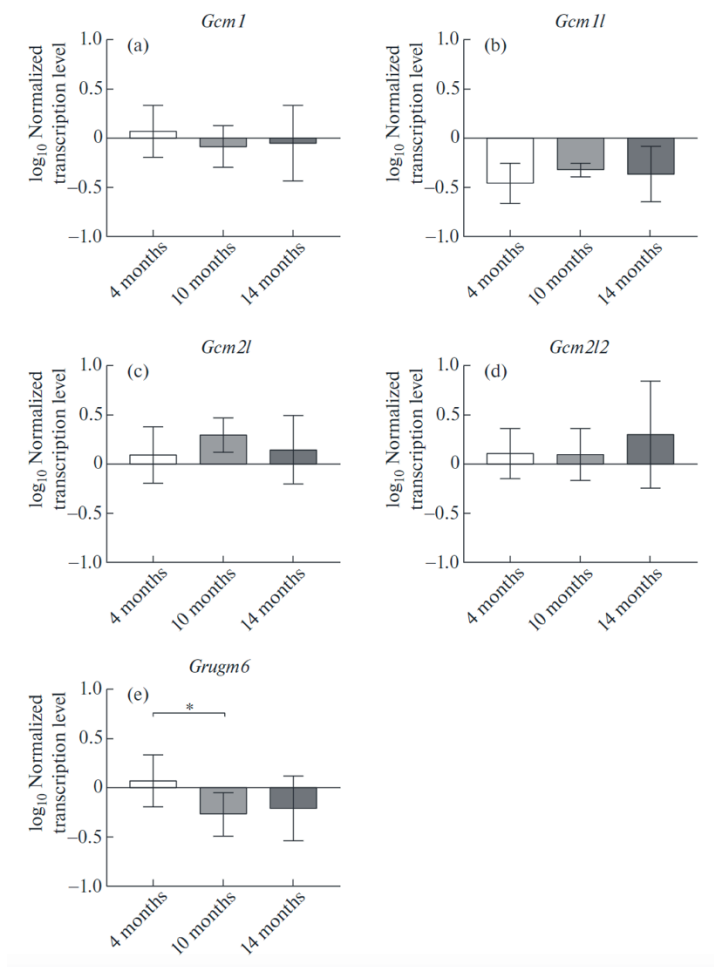


Материал для анализа был взят у 4-х, 10-ти, 14-ти месячных рыб ( $n=10$ ). Из гомогенизированных образцов выделяли рНК, а затем проводили ОТ-ПЦР, по результатам которой оценивали уровни транскрипции генов. Дизайн специфических праймеров осуществляли с помощью ПО Primer-BLAST на основании данных о геноме *S. carpio* в базе NCBI [3]. Полученные праймеры анализировали и оценивали с помощью ПО IDT Oligo Analyzer Tool и Nucleotide BLAST. В качестве референсного был взят ген 18S рРНК [4]. Уровни транскрипции выбранных генов определяли скорректированным методом  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [5]. Оценку достоверности различий между нормализованными уровнями транскрипции генов кристаллинов проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим *posthoc* анализом на основе критерия Тьюки. Величину инкремента показателя преломления ( $dn/dc$ ) кристаллинов рассчитывали, как средневзвешенное значение, определенное на основе аминокислотного состава белка [6].

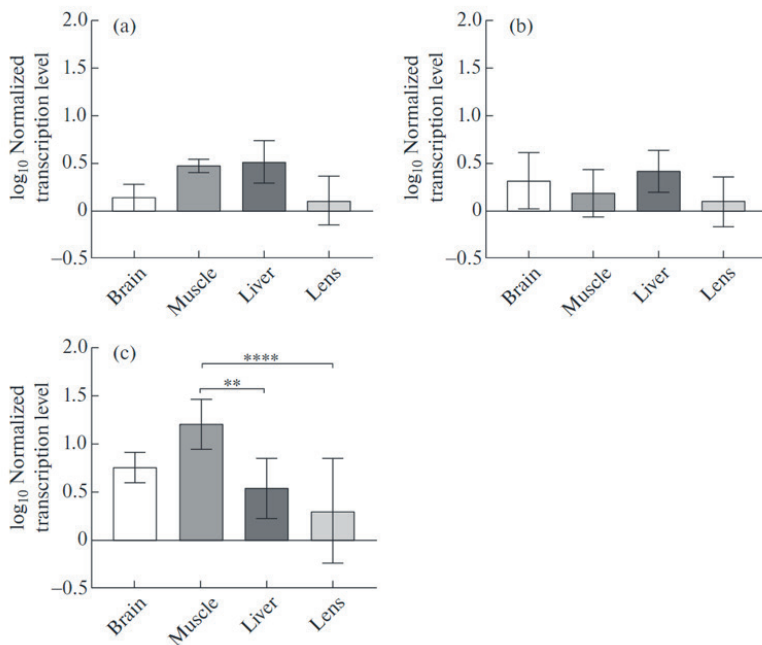
В хрусталиках рыб всех возрастных групп была обнаружена экспрессия генов пяти белков:  $\gamma$ -кристаллина М1 (*Gcm1*),  $\gamma$ -кристаллин подобного М1 (*Gcm1l*), 2 изоформ  $\gamma$ -кристаллина подобного М2 (*Gcm2l*, *Gcm2l2*) и  $\gamma$ -кристаллина М6 (*Crygm6*) (рис. 1). Уровни транскрипции этих генов с возрастом изменялись без определенной тенденции. Экспрессия гена *Gcm2l2* была выявлена также в мозге, мышцах и печени (рис. 2). Поэтому был сделан вывод, что кристаллины *Gcm1*, *Gcm1l*, *Gcm2l*, *Crygm6*, являются специфическими белками хрусталика глаза *S. carpio*, по крайней мере, на возрастном периоде 4—14 месяцев.

Предполагается, что высокое значение показателя преломления вещества хрусталика обусловлено свойствами  $\gamma$ -кристаллинов, в составе которых относительно велика доля метионина [6]. Исходя из того факта, что  $\gamma$ М-кристаллины являются характерной чертой рыб, можно было бы предполагать, что именно они ответственны за высокое значение показателя преломления вещества их хрусталиков. При этом сам метионин имеет не самое большое значение ни величины мольной рефракции, ни значения концентрационного инкремента показателя преломления,  $dn/dc$  [7]. Для них были получены следующие значения: *Gcm1*—0,1989; *Gcm1l*— 0,1983; *Gcm2l*— 0,2011; *Crygm6*—0,1954. По этому показателю выделяется белок *Gcm2l*, ген которого имеет по сравнению с другими наибольшее значение уровня транскрипции в хрусталиках карпов всех возрастных групп. Все же небольшие различия в величинах этих белков, а так-

же отсутствие в онтогенезе строгой закономерности экспрессии их генов показывают, что формирование радиального градиента показателя преломления хрусталика не определяется лишь динамикой синтеза конкретных кристаллинов, а является более сложным процессом, включающим специфический фолдинг молекул.



**Рис. 1.** Возрастная гетерогенность в уровнях транскрипции генов  $\gamma$ -кристаллинов в хрусталике *Suipinus caprio*, нормализованных на референсный ген и представленные в логарифмической шкале. Все результаты представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение. \* —  $p < 0.05$ .



**Рис. 2.** Уровни транскрипции гена  $\gamma$ -кристаллина подобного M2 (*Gcm2l2*) в хрусталике (*Lens*), мозге (*Brain*), мышцах (*Muscle*) и печени (*Liver*) 4- (a), 10- (b) и 14- (c) месячных *Cyprinus carpio*, нормализованные на референсный ген и представленные в логарифмической шкале. Все результаты представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение. \*\* —  $p < 0.01$ ; \*\*\*\* —  $p < 0.0001$ .

### Список литературы:

1. Lin Y-R, Mok H-K, Wu Y-H, Liang S-S, Hsiao C—C, Huang C-H, Chiou S-H (2013) Comparative proteomics analysis of degenerative eye lenses of nocturnal rice eel and catfish as compared to diurnal zebrafish. *Mol Vis*. 19:623—637.
2. Pierscionek BK, Regini JW (2012) The gradient index lens of the eye: an opto-biological synchrony. *Prog Retin Eye Res* 31 (4):332—349.
3. NCBI//URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein> (Date of address: 29.09.2022)
4. Liu W., Yuan X., Yuan S., Dai L., Dong S., Liu J., Peng L, Wang M., Tang Y., Xiao Y. (2020) Optimal reference genes for gene expression analysis in polyploid of *Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*. *BMC Genet* 21:107.

5. Yuan J. S., Reed A., Chen F., Stewart C. N. (2006) Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics* 7:85.
6. Pierscionek BK (2009) Gradient index of refraction (GRIN) profiling of the eye lens. In Ed. Michael Bass. *The Optical Society of America Handbook of Optics. Volume III: Vision and Vision Optics*. New York. McGraw-Hill. 19.1—19.18.
7. Zhao H, Chen Y, Rezabkova L, Wu Z, Wistow G, Schuck P (2014) Solution properties of  $\gamma$ -crystallins: hydration of fish and mammal  $\gamma$ -crystallins. *Protein Sci* 23 (1): 88—99. <https://doi.org/10.1002/pro.2394>

## TRANSCRIPTION OF GAMMA-CRYSTALLIN GENES IN THE LENS OF CYPRINUS CARPIO

A. I. Kapitunova, I. N. Dominova

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

**Annotation:** The study was focused on determining transcription levels of  $\gamma$ M-crystallin genes in the eye lens of a common carp *Cyprinus carpio*. The transcription was detected by quantitative RT-PCR, and its relative level was quantified in 5 genes of  $\gamma$ M-crystallins and crystallin-like proteins in *C. carpio* aged 4, 10 and 14 months. In all age groups, the specificity of *Gcm1*, *Gcm11*, *Gcm21*, *Crygm6* gene expression in the lenses was found. *Gcm212* gene expression was also detected in the muscles, liver and brain. Analysis of the role of the amino acid sequence of the identified  $\gamma$ M-crystallins in the formation of the refractive properties of the lens was performed based on the assessment of calculated refractive index increments. It is assumed that high values of the refractive index of the lens in *C. carpio* are due not so much to a relative content of amino acids in  $\gamma$ M-crystallins as to their sequences, which ensure the tertiary packing density of these proteins, as well as by  $\gamma$ M-crystallin concentrations.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*, lens,  $\gamma$ M-crystallins, tissue specificity

## ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ ЛИНИИ ДИКОГО ТИПА CANTON-S *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-149-152

Каровецкая Д. М.<sup>1,2</sup>, Медведева А. В.<sup>2</sup>, Никитина Е. А.<sup>1,2</sup>

1 Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

2 Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

*e-mail: dariaraddvs@gmail.com*

**Аннотация:** В работе исследовано влияние гипоксического воздействия на обучение и среднесрочную память у *Drosophila melanogaster* (линия дикого типа Canton-S). Способность к обучению и формированию среднесрочной памяти оценивали в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Условия физиологического уровня гипобарической гипоксии моделировали при помощи барокамеры проточного типа. Гипоксическое воздействие перед тренировкой приводило к неспособности к обучению. Не обнаружено влияния гипоксии на формирование среднесрочной памяти у самцов дрозофилы.

**Ключевые слова:** дрозофила, гипоксия, обучение, память

На сегодняшний день одной из наиболее важных и актуальных проблем биологии и медицины является изучение этиологии и патогенеза различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). По данным ВОЗ в мире насчитывается более 50 миллионов пациентов с клинически подтвержденной деменцией и ежегодно регистрируется почти 10 миллионов новых случаев заболевания. Наиболее уязвимой группой для данной патологии являются пожилые люди: от 3 до 20 % пациентов в возрасте старше 65 лет страдают от НДЗ [1]. К нейродегенеративным патологиям относят болезнь Альцгеймера (наиболее распространенное заболевание, встречается у 60—70 % пациентов с деменцией), болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и многие другие. Нейродегенеративные заболевания зачастую носят спорадический характер, и в качестве фактора запуска патологии могут выступать различные стрессор-

ные факторы среды. К наиболее распространённым повреждающим воздействиям, приводящим к физиологическим и патологическим изменениям нервной ткани, относится гипоксия. Гипоксия может возникать из-за недостатка кислорода во внешней среде, а также вследствие различных внутренних изменений организма, влекущих за собой общее или локально-тканевое кислородное голодание [2]. В зависимости от тяжести и продолжительности гипоксии выделяют физиологическую и патологическую формы. Физиологическая гипоксия характеризуется временными обратимыми изменениями организма. Патологическая гипоксия, напротив зачастую приводит к тяжелым необратимым последствиям, в частности, ослаблению нейропластичности и различным когнитивным патологиям. Кроме того, имеются данные о положительном влиянии краткосрочной физиологической гипоксии на формирование условных связей [3], что обуславливает интерес к данной проблеме в настоящем исследовании.

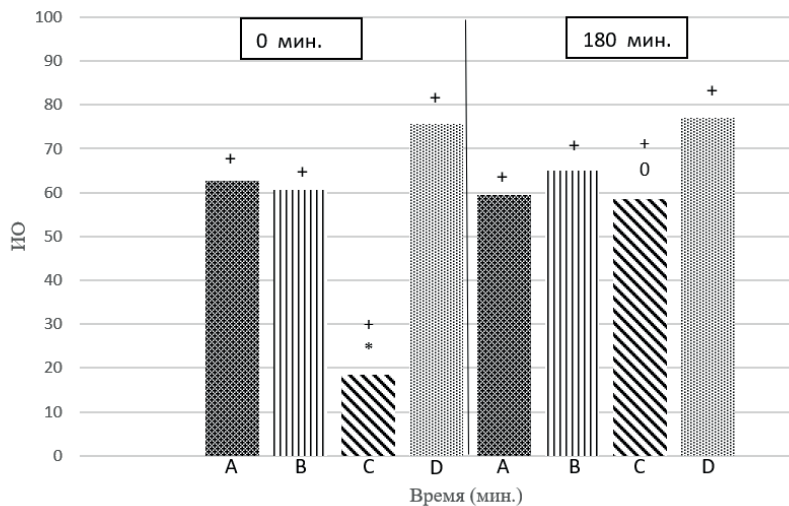
Для моделирования физиологического уровня гипоксии использовали барокамеру проточного типа. Проводили тридцатиминутное воздействие по следующему протоколу [3]:

- 5 минут при давлении 360 мм.рт.ст.
- 5 минут при давлении 180 мм.рт.ст.
- 10 минут при давлении 140 мм.рт.ст.
- 10 минут при давлении 120 мм.рт.ст.

В качестве модельного объекта использовали пятисуточных самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа Canton-S. Способность к обучению и формированию среднесрочной памяти оценивали в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Самцов, не имеющих опыта полового поведения, помещали к оплодотворенным самкам в экспериментальную камеру на 30 минут (тренировка). Далее проводили регистрацию этограммы сразу после тренировки (0 минут) и спустя 3 часа (180 минут). В ходе анализа данных вычисляли время полового (ориентация, попытка копуляции и вибрация) и неполового поведения самца. Кроме того, мухи были разделены на 4 группы в зависимости от схемы «гипоксическое воздействие/тренировка»:

1. Интактный контроль без гипоксического воздействия;
2. Тренировка до гипоксического воздействия;
3. Тренировка после гипоксического воздействия (время с момента гипоксического воздействия до тренировки — 60 минут);
4. Тренировка во время гипоксического воздействия.

Для оценки способности к обучению и формированию памяти вычисляли индекс обучения (ИО). Для статистической обработки данных использовали двусторонний тест рандомизации ( $p < 0,05$ ). Полученные данные представлены на рисунке 1.



**Рис. 1.** Индексы обучения самцов дрозофилы при различных схемах «гипоксическое воздействие/тренировка». \* — ИО после воздействия достоверно отличается от интактного контроля ( $p < 0,05$ ); + — ИО достоверно отличается от 0 ( $p < 0,05$ ); 0 — ИО достоверно отличается от 0 мин ( $p < 0,05$ ); А — интактный контроль; В — тренировка до гипоксического воздействия; С — тренировка после гипоксического воздействия; D — тренировка во время гипоксического воздействия.

Как видно на графике, мухи всех экспериментальных групп продемонстрировали способность к обучению. При воздействии гипоксии во время тренировки и до нее достоверных отличий ИО от интактного контроля не выявлено. Наибольший интерес представляет группа, проходившая тренировку после гипоксического воздействия. Для нее характерно значительное падение индекса обучения сразу после тренировки (ИО достоверно ниже контроля). Однако спустя 3 часа после тренировки ИО достоверно повышается и становится не отличим от контроля. Вероятно, это обусловлено различными механизмами формирования разных типов памяти.

Исследование влияния гипоксического воздействия на когнитивные процессы является перспективным и актуальным направле-

нием, поскольку мозг является наиболее зависимым от кислорода органом, и именно когнитивные процессы представляют наиболее чувствительную мишень гипоксии.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№ 20—015—00300 А).*

### Список литературы:

1. Ставровская А. В., Ямщикова Н. Г., Ольшанский А. С., Гущина А. С. Выявление дефицита когнитивных функций у крыс с моделью болезни Альцгеймера//Асимметрия, 2018, т. 12, № 4. С. 639—645.
2. Чеснокова Н. П., Бриль Г. Е., Полутова Н. В., Бизенкова М. Н. Гипоксии: виды, этиология, патогенез//Научное обозрение. Медицинские науки. 2017, № 2, С. 53—55.
3. Медведева А. В., Токмачева Е. В., Никитина Е. А., Васильева С. А., Заломаева Е. С., Савватеева-Попова Е. В. Роль гипоксии в целостности генетического аппарата и формировании памяти у дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания//Медицинский академический журнал. 2020, т. 20, № 4, С. 45—54.

## EFFECT OF HYPOXIA ON WILD-TYPE CANTON-S DROSOPHILA MELANOGASTER LEARNING AND MEMORY

Karovetskaya D. M.<sup>1,2</sup>, Medvedeva A. V.<sup>2</sup>, Nikitina E. A.<sup>1,2</sup>

1 Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

2 Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

**Abstract.** The study investigated the effect of hypoxic effects on learning and medium-term memory in *Drosophila melanogaster* (wild-type strain *Canton-S*). The ability to learn and form medium-term memory was evaluated in the conditioned courtship suppression paradigm. Physiological hypobaric hypoxia was modeled with a flow-type pressure chamber. Hypoxic exposure before training resulted in learning disability. No effect of hypoxia on medium-term memory formation in male *Drosophila* was found.

**Keywords:** *Drosophila*, hypoxia, learning, memory



## ОСОБЕННОСТИ ДВИЖЕНИЙ ГЛАЗ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ АСПОНТАННОСТИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-153-158

Карчевская А. Е.<sup>1,2,3</sup>, Кроткова О. А.<sup>2</sup>, Каверина М. Ю.<sup>2</sup>

1 ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, 117485, ул. Бутлерова, 5 а,

2 ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко Минздрава России, Москва, 125047, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Москва, 119991, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2

*e-mail: anna.karchevsky@ihna.ru*

**Аннотация:** Одним из уровней анализа психических процессов является оценка пространственного распределения внимания при восприятии динамических сцен. В настоящем исследовании анализировались движения глаз 18 пациентов с поражением головного мозга различной этиологии и проводилось сравнение данных группы патологии с нормативными, полученными у 20 здоровых испытуемых. В ходе эксперимента демонстрировался 60-секундный видеоролик и происходила одновременная регистрация движения глаз, после чего пациента просили пересказать содержание видео. При обработке данных было выявлено общее снижение количества саккад и их длительности, а также количества фиксаций, в ходе просмотра видеосоужета. В группе пациентов отмечалось снижение эффективности воспроизведения.

**Ключевые слова:** айтрекинг, синдром аспонтанности, черепно-мозговая травма, зрительное восприятие

### **Введение.**

В качестве одного из способов анализа протекания психических процессов является методика айтрекинга, которая позволяет оценить пространственное распределение внимания, например, при восприятии динамических сцен, и его связь с успешностью запоминания. Динамические сцены — видео — являются более экологически валидным стимулом, так как человек функционирует в неоднородной среде, а движения глаз позволяют ему адаптироваться к изменяющимся условиям [1] [2]. Демонстрируя экологи-

чески валидный стимул группе патологии — видеосюжет, и регистрируя движения глаз, исследователи по характеристикам данных айтрекинга могут судить о закономерностях организации психических процессов и степени нарушения, например при ЧМТ или синдроме locked in [2]. В данной работе оценивалась глазодвигательная стратегия при помощи методики АВП — «Айтрекинг–внимание–память» [4—8].

### **Испытуемые**

В исследовании принимали участие пациенты, направленные на лечение или реабилитацию в НМИЦ им. акад. Н. Н. Бурденко. Всего в выборку пациентов вошло 18 участников (тЧМТ, состояние после удаления опухолей головного мозга), два пациента записывались два раза с разными интервалами (2 недели и 4 месяца). Таким образом были обработаны данные 18 пациентов, и 20 записей данных айтрекинга. Средний возраст пациентов составил  $39 \pm 17$  лет (12 мужчин и 6 женщин). Все пациенты проходили нейропсихологическое обследование. Нормативные данные были предоставлены сотрудницей НМИЦ им. акад. Н. Н. Бурденко М. Ю. Кавериной [4] [5].

### **Методика.**

Участники исследования сидели перед монитором компьютера на расстоянии 700 мм (разрешение 1980/1020 px; видимая область экрана — 300 мм x 530 мм), голова фиксировалась с помощью подбородочной опоры для исключения артефактов движения.

На экране монитора с помощью программы Mangold Vision участнику предъявлялся стимул — видеосюжет со следующей инструкцией: «Сейчас Вам будет показано видео, постарайтесь запомнить все, что на нем будет». На видео была записана реалистичная постановка длительностью 60 секунд: в комнате находятся три персонажа — № 1 девушка слева, № 2 девушка в центре, № 3 девушка справа. Персонажи последовательно друг за другом или все одновременно выполняют простые бытовые действия («читает книгу», «пишет», «разговаривает по телефону» и т. п.). Всего в видеосюжете было 30 событий. На каждого персонажа приходилось по 10 событий. Перед видео и после него демонстрировался серый нейтральный фон длительностью 30 секунд.

Во время демонстрации видео происходила одновременная регистрация движений глаз с помощью айтрекера Mangold EyeTech VT3 mini (частота дискретизации — 200 Гц, точность —  $0,5^\circ$ ). Сразу после просмотра испытуемого просили рассказать все, что он

запомнил на видео, в свободной форме осуществляя пересказ. Данные пересказа записывались на диктофон и переводились в электронный вид для дальнейшего анализа процента запомненных событий, ошибок, верно воспроизведенных предметов по протоколу.

Анализ данных айтрекинга проводился с помощью пакета обработки данных Matlab2019b и алгоритма MNH, который предоставил профессор О. Комогортсев [9]. Также использовался разработанный О. Комогортсев оригинальный порог для фильтрации данных от шума — RIONEPS (Rapid Irregularly Oscillating Noise of the Eye Position Signal — быстрый иррегулярный шум от сигнала положений глаз, с выставленным значением 400 согласно).

### **Результаты.**

Результаты запоминания содержащихся в методике «Видео АВП» 30 событий показали, что в норме испытуемые запоминают в среднем 52 % от их общего числа (минимум — 37 %, максимум — 80 %). Ошибочные воспоминания (неправильный порядок событий, приписывание события другому персонажу, неправильное вспоминание предметов, которыми манипулировали персонажи) наблюдались в среднем в 7 % случаев от общего числа ответов.

В группе патологии в среднем испытуемые запоминали 15,55 % (минимум — 0 %, максимум — 60 %). Ошибочные воспоминания наблюдались в 50 % случаев (минимум 0 %, максимум — 100 %).

Результаты обработки данных айтрекинга, полученные на основе классификатора MNH, показали, что в среднем длительность фиксации у группы нормы занимала около 108 мс, количество фиксаций в среднем по группе составляло 91,5. Саккад совершалось около 97,7, средняя длительность которых составляла 7,0137 мс., а постсаккадических движений — 50,7, их длительность составляла 7,67 мс.

При анализе данных айтрекинга пациентов с поражениями головного мозга сразу отмечалось общее снижение количества движений глаз по сравнению с нормой. Так, количество фиксаций в среднем составляло  $75 \pm 30$ , саккад —  $78 \pm 36$ , постсаккадических колебаний  $42 \pm 23$ . Среднее время, затраченное на фиксации  $115 \pm 26$ , на саккады  $6 \pm 1,2$ , на постсаккадические колебания  $7,4 \pm 1,56$ .

Статистический анализ с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни по показателям движений глаз выявил значимые различия между нормой и группой патологии по количеству фиксаций ( $p=0.0275$ ), по количеству и общей длительности саккад ( $p=0.0284$  и  $p=0.0058$ ), что являлось количественным подтвержде-

нием гипотезы, что пациенты делают меньше движений глаз. По показателю постсаккадических колебаний каких-либо значимых различий не было выявлено.

При сравнении количества фиксаций и саккад с процентом верно воспроизведенных событий на уровне тенденции обнаружилась прямая зависимость ( $r=0.3666$ ,  $p=0.0933$ ;  $r=0.3723$ ,  $p=0.0879$ ). В группе пациентов статистически значимые результаты были получены при сравнении длительности саккад и процента верно воспроизведенных событий:  $r=-0.4899$ ,  $p=0.0283$ . На основе полученных данных, был сделан вывод, что чем короче саккады, тем лучше происходило запоминание.

При качественном анализе раскадровки эпизодов было показано, что пациенты медленнее переключаются на движущийся объект, особенно это было ярко показано при анализе кадров в боковых зонах экрана, где были получены статистически значимые результаты (время реакции на движущийся объект группа нормы  $N=17.74$ , группа пациентов  $P=18.51$ ,  $p<0.05$ ). При анализе центрального поля зрения также отмечалась замедленная реакция на движущийся объект, однако результаты не были статистически значимы.

### **Обсуждение результатов.**

Самые грубые нарушения в глазодвигательной стратегии наблюдались у пациентов с гидроцефалией и с тяжелой ЧМТ, что объясняется обширностью поражения головного мозга. Грубые нарушения глазодвигательной стратегии также могут объясняться нарушением регуляторного фактора, что приводит к нарушению целеполагания, переключения внимания и функций программирования и контроля [10]. При локализации патологического очага в других областях, не затрагивающих регуляторный фактор, нарушения, возможно, будут носить более сглаженный характер и будут более

Учеными выделяются два типа движений глаз: амбьентный, для которого характерны короткие фиксации и длинные саккады, что позволяет быстро сканировать окружающее пространство и фокальный, для которого характерны длинные фиксации и короткие саккады, и который позволяет детально рассмотреть объекты. Та динамика, которая наблюдалась во всех группах пациентов могла свидетельствовать о преобладании фокального режима восприятия сцены, что может объяснять полученные в ходе данного исследования результаты [11].

## Список литературы:

1. Андрианова Н. Е., Зотов М. В. Дисфункции кодирования эмоционально негативной информации при депрессивных расстройствах//Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Психология. — 2013. — Т. 6. — №. 4.
2. Белопольский В. И. Взор человека. Механизмы, модели, функции. — Когито-Центр, Институт психологии РАН, 2013.
3. Ciuffreda K. J. et al. Traumatic brain injury: visual consequences, diagnosis, and treatment//Advances in ophthalmology and optometry. — 2016. — Т. 1. — №. 1. — С. 307—333.
4. Каверина, М. Ю., Кроткова, О. А., and Данилов, Г. В. Особенности динамики линии взора и запоминание событий. Вопросы психологии 66, 1 (2020), 143—153
5. Каверина, М. Ю., Вигасина, К. Д., Данилов, Г. В., and Кроткова, О. А. Индивидуальные особенности взора и память на события. Актуальная психология. Научный вестник 2, 5 (2019), 140—146.
6. Кроткова О. А. и др. Распределение внимания при экологически валидном движении стимулов//Центральные механизмы речи. — 2019. — С. 54—54.
7. Кроткова О. А., Каверина М. Ю., Данилов Г. В. Движения глаз и межполушарное взаимодействие при распределении внимания в пространстве//Физиология человека. 2018. Т. 44. No 2. С. 66—74. doi: 10.7868/S0131164618020108
8. Карчевская А. Е., Каверина М. Ю., Ениколопова Е. В., Кроткова О. А. Перевод взора к начинающемуся движению — один из показателей восстановления смыслового восприятия при тяжелых поражениях мозга//Когнитивная наука в Москве: новые исследования. Материалы конференции 23–24 июня 2021. Под ред. Е. В. Печенковой, М. В. Фаликман, А. Я. Койфман. — Москва: Москва, 2021. — С. 189—194.
9. Komogortsev O. V. et al. Standardization of automated analyses of oculomotor fixation and saccadic behaviors//IEEE Transactions on Biomedical Engineering. — 2010. — Т. 57. — №. 11. — С. 2635—2645.
10. Лурия А. Р. Высшие корковые функции человека. — Издательский дом «Питер», 2018.
11. Шурупова М. А. и др. Влияние когнитивного задания на параметры движений глаз при просмотре статических и динамических сцен//Айтрекинг в психологической науке и практике. — 2016.

# EYE MOVEMENTS CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH SYNDROME OF ASPONTANEITY

A. E. Karchevskaya<sup>1,2,3</sup>, O. A. Krotkova<sup>2</sup>, M. Ju. Kaverina<sup>2</sup>.

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2 N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Russian Ministry of Health, Moscow Russia

3 I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

**Abstract:** One of the possible approaches of mental processes' analysis is the assessment of the spatial distribution of attention in the perception of dynamic scenes and its link with effectiveness of memorization. In this study, the eye movements of 18 patients with brain lesions of different etiology were analyzed and the data obtained were compared with the normative data from 20 healthy subjects. During the experiment, a 60-second video clip was shown and eye movements were simultaneously recorded. After watching the patient was asked to retell the contents of the video. During data processing a general decrease in the number of saccades and their duration, as well as the number of fixations, was revealed. When retelling, there was a decrease in the efficiency of reproduction in patient group.

**Keywords:** eye tracking, aspontaneity, traumatic brain injury, visual perception

## ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА НА ТРЕВОЖНОСТЬ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-159-163

Козырева А. В., Виноградова Е. П.

Кафедра высшей нервной деятельности и психофизиологии  
Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия  
*e-mail: st096320@student.spbu.ru*

**Аннотация:** Группа самцов мышей линии C57BL/6 была подвергнута социальному стрессу (группа опыт). После стресса животные групп опыт и контроль были подвергнуты поведенческому тесту — приподнятый крестообразный лабиринт — для оценки уровня их тревожности. Подвергнутые социальному стрессу животные показали значительное достоверное увеличение тревожности.

**Ключевые слова:** социальный стресс, приподнятый крестообразный лабиринт, C57BL/6.

Стресс — это естественная реакция живого организма на изменения во внешней или внутренней среде, которые нарушают гомеостаз или воспринимаются как угроза. Механизм стрессорной реакции, будучи эволюционно древним, является общим для всех позвоночных [8]. Это позволяет использовать лабораторных животных — прежде всего, крыс и мышей — в качестве моделей для изучения стресса и связанных со стрессом заболеваний — таких, как тревожные расстройства и депрессия [7].

Стрессорная реакция представляет собой адаптивный механизм, обеспечивающий выживание организма в условиях, требующих более высокого уровня активации многих физиологических систем. Задачей стрессорной реакции является восстановление баланса, нарушенного внутренними или внешними стимулами (стрессорами) — таким образом, стресс выполняет, безусловно, защитную функцию, обеспечивая адаптацию организма [5].

Негативные последствия стресса могут вызываться двумя группами факторов: внешними и внутренними. Внешними факторами служат слишком сильные или продолжительные (хронические)

стрессоры, превышающие способности организма к адаптации. К группе внутренних факторов относится генетически обусловленная предрасположенность к развитию стресс-индуцированных патологий, в основе которой может лежать повышенная чувствительность к стрессорным воздействиям или нарушение механизма отрицательной обратной связи, прекращающего стрессорную реакцию. Именно индивидуальные особенности обуславливают неодинаковую устойчивость организмов к стрессу [3,4]. Одним из наиболее распространённых видов психогенной стрессорной реакции является социальный стресс. В отличие от многих манипуляций, используемых в качестве стрессоров в лабораторных условиях, социальный стресс является естественным феноменом и неотъемлемой частью жизни практических всех видов высших животных [6].

Социальный стресс является настолько сильным негативным воздействием, что вызванные им серьёзные физиологические нарушения в организме зачастую могут приводить, в том числе, и к летальному исходу. Так, например, интродеры в колониях диких крыс, живущих в естественных условиях, часто погибают в течение семи дней [1]. Социальный стресс также рассматривается в качестве фактора, который может приводить к злоупотреблению алкоголем или наркотиками. Так, на модели социального стресса «Система открытой норы» (Visible burrow system, VBS), было показано, что субординанты потребляли больше алкоголя, по сравнению с доминантами и животными контрольной группы [2].

Таким образом, лабораторные модели, реализуемые на животных, являются весьма эффективным способом изучения социального стресса. На этих моделях можно наблюдать различные негативные последствия стрессорного воздействия, проявляющиеся как в поведении, так и на уровне физиологических, нейроэндокринных и нейромедиаторных систем. Целью нашей работы было изучение влияния социального стресса на уровень тревожности мышей линии C57BL/6.

### **Материалы и методы.**

Работа была проведена на самцах мышей линии C57BL/6 ( $n = 20$ ) в возрасте 3 месяцев на момент начала эксперимента. Все животные содержались в стандартных условиях при поддержании 12-часового цикла свет-темнота по 4 особи в клетке. Все животные были разделены на 2 группы: опыт ( $n = 10$ ) и контроль ( $n = 10$ ). Животные группы опыт были подвергнуты контролируемому социальному стресс-



су на модели социальной нестабильности — смену состава клеток (на 1 час). Суть метода состоит в том, что первоначально из животных формируют группы, в которых устанавливается определённая иерархия, после чего группы разбивают и смешивают между собой. И потом возвращают обратно в исходные клетки.

На следующей этапе эксперимента, через 24 часа после стрессорного воздействия был проведен поведенческому тесту — приподнятый крестообразный лабиринт. Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) представляет собой установку, состоящую из двух открытых рукавов, длиной 50 см и шириной 14 см, двух закрытых рукавов такой же длины и ширины и центрального квадрата 14 x 14 см; закрытые рукава имеют стенки высотой 30 см, и сам лабиринт располагается на подставке на высоте 75 см от пола. При проведении теста животное помещалось в центральную часть лабиринта носом к открытому рукаву. Тест продолжался 5 минут, после чего крысу возвращали в домашнюю клетку, а лабиринт протирали раствором перекиси водорода, для уничтожения запаховых меток, оставленных животным.

Приподнятый крестообразный лабиринт — общепризнанный классический тест на тревожность, обладающий высокой валидностью. Тестирование в приподнятом крестообразном лабиринте основано на конфликте между естественным страхом грызунов перед открытыми освещенными площадками и витальной потребностью исследовать новое пространство. Как правило, нормальное животное имеет тенденцию к предпочтению более безопасных закрытых рукавов, однако при этом часть времени животное проводит также в открытых рукавах, проявляя исследовательскую активность. Время, проведенное в открытых рукавах, служит показателем уровня тревожности животного: чем больше время пребывания в открытых рукавах, тем ниже тревожность и наоборот.

Двигательная активность животных оценивается по количеству пройденных квадратов в открытых и закрытых рукавах ПКЛ. Кроме того, данный тест позволяет оценить исследовательскую активность животного, показателем которой служит количество стоек и свешиваний в лабиринте. Еще одним параметром, фиксируемым в тесте ПКЛ, является смещенная активность, представляющая собой одну из наиболее распространенных форм поведения в ситуации неопределенности или стресса. Проявлением смещенной активности у животных является груминг. Статистическая оценка данных оценивалась с помощью критерий Вилкоксона — непара-

метрического метода для оценки независимых выборок. Уровень значимости  $p < 0,05$ .

### **Результаты.**

Показано, что время нахождения в открытых рукавах у мышей группы опыт после стресса ( $72 \pm 22$  с) достоверно меньше ( $p \leq 0,05$ ), чем у контрольной группы ( $221 \pm 21,2$  с). Количество свешиваний у мышей в открытых рукавах у группы опыт ( $4,7 \pm 1,3$  раз) достоверно меньше ( $p \leq 0,05$ ), чем у группы контроль ( $10,75 \pm 2,6$  раз). Количество пройденных квадратов в открытых рукавах у мышей группы опыт ( $7,1 \pm 2,7$  квадратов) статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) меньше, чем у мышей группы контроль ( $23,4 \pm 2,6$  квадратов). Что также является показателем более высокого уровня тревожности. Другие оцениваемые показатели не выявили достоверного уровня отличий (количество стоек, общая пройденная дистанция, грумминг).

### **Обсуждения.**

Результаты настоящего исследования продемонстрировали значительное увеличение тревожности у мышей линии C57BL/6 через 24 часа после социального стресса. Было показано, что социальный стресс влиял только на показатели тревожности (времени нахождения в открытых рукавах), и не затрагивая исследовательское поведение (стойки). В то же время по литературным данным, физический стресс оказывает влияние не только на уровень тревожности, но затрагивает также двигательное и исследовательское поведение.

Таким образом, социальный стресс через сутки после воздействия оказывает только анксиогенное действие и не оказывает седативного эффекта, что является адаптивным изменением. Тогда как снижение двигательной и исследовательской активности через продолжительный период времени (сутки) может снижать приспособленность к окружающей среде. Поэтому краткосрочный социальный стресс не приводит к дезадаптации. В дальнейшем планируется оценить влияние социального стресса не только на поведенческий компонент, но и на эндокринные показатели.

### **Список литературы:**

1. Barnett SA, 1963. The Rat: A Study in Behavior. Chicago, IL: Aldine.
2. Blanchard RJ, Flores TM, Magee L, Weiss SM, Blanchard DC, 1992. Pregrouping aggression and defense scores influences alcohol consumption for dominant and subordinate rats in visible burrow systems. Aggressive Behavior, Vol 18 (6), 459—467.

3. Charney DS, 2004. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress. *Am J Psychiatry*, 161 (2):195—216.
4. Franklin TB, Saab BJ, Mansuy IM, 2012. Neural mechanisms of stress resilience and vulnerability. *Neuron*, 75 (5):747—61.
5. McEwen, BS, 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Research*, 886 (1—2), 172—189.
6. McKittrick CR, Blanchard DC, Hardy MP, Blanchard RJ, 2009. Social Stress Effects on Hormones, Brain, and Behavior. Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE, Rubin RT (Eds.). *Hormones, Brain, and Behavior*, Academic Press; 2 edition, pp. 333—365.
7. Sutanto W, de Kloet ER, 1994. The use of various animal models in the study of stress and stress-related phenomena. *Lab Anim*, 28 (4): 293—306.
8. Watts AG, 2007. Comparative anatomy and physiology. Fink G. *Encyclopedia of Stress*, 2nd Edition, V1, pp. 549—552.

## EFFECT OF SOCIAL STRESS ON ANXIETY C57BL/6 MICE

Kozyreva A. V., Vinogradova E. P.

St. Petersburg State University, Faculty of Biology, St. Petersburg, Russia

**Abstract:** A group of male C57 mice were subjected to social stress (experimental group). After the stress, the experimental group and the control group were subjected to a behavioral test — an elevated plus maze — to assess their anxiety. Socially stressed animals showed a significant increase in anxiety.

**Keywords:** social stress, elevated plus maze, C57.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИЙ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО АПТАМЕРА И ИНДУКТОРОВ НЕЙРАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-164-167

Колесникова В. А.<sup>1</sup>, Павлова Г. В.<sup>1,2,3</sup>

1 ФГБУН ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия

2 НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко, Москва, Россия

3 Первый МГМУ имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

*E-mail: v.kolesnikova@ihna.ru*

**Аннотация:** Одним из значимых направлений исследований в области нейроонкологии является изучение возможности влияния на пролиферативный потенциал опухолевых клеток. В данной работе предложен антипролиферативный подход, сочетающий в себе ингибиторный эффект на клеточное деление олигонуклеотидной последовательности и нейроиндукторных малых молекул. Проводилось воздействие на клеточные культуры глиом IVGrade и клеточную линию глиомы U251 комбинациями bi-(AID-1-T) + BDNF и bi-(AID-1-T) + LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF. На 10й день эксперимента проводился МТТ с целью оценки эффективности воздействия указанных комбинаций.

**Ключевые слова:** мультиформная глиобластома; аптамеры; нейроиндукторные малые молекулы; антипролиферативный эффект

Мультиформная глиобластома — злокачественная опухоль головного мозга человека с низким процентом выживаемости: 5 % в течение 5-ти лет и всего 26—33 % — в течение 2-х лет [1,2]. Вероятной причиной резистентности опухоли к существующим видам терапии может быть существование в популяции опухолевых стволовых клеток глиобластомы [3]. Кроме того, известно, что опухолевые клетки глиобластомы человека характеризуются гетерогенностью, то есть неоднородностью [4]. Поэтому важным было проанализировать не только наличие ингибирующих свойств ис-

следуемых комбинаций, но и различие в ответе на предложенную схему воздействия нескольких клеточных культур глиомы человека IVGrade, а также сравнить эффект с таковым при воздействии на стандартную клеточную линию глиомы U251. Работа направлена на выяснение различий в реакции на добавление комбинаций факторов к культурам клеток глиобластомы человека IVgrade и к глиомной клеточной линии U251.

### **Методика.**

Из опухолевых тканей глиобластомы IVGrade пациентов были получены культуры G01, Sus, Rozh, 40 глиобластомы человека (резекция была проведена в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко).

На этих культурах были испытаны комбинации антипролиферативных аптамера bi- (AID-1-T) с индукторами нейтральной дифференцировки LDN-193189, SB431542, Purmorphamine и нейротрофином BDNF, управляющими каскадами нейтрального созревания прогениторных клеток. На 10й день после начала эксперимента с помощью МТТ-теста была оценена эффективность воздействия на исследуемые клеточные культуры глиобластомы человека двух комбинаций bi- (AID-1-T) + BDNF и bi- (AID-1-T) + LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF.

### **Результаты.**

По результатам МТТ-теста были выявлены различия в эффективности воздействия комбинаций bi- (AID-1-T) + BDNF и bi- (AID-1-T) + LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF. Культура Rozh оказалась более устойчивой к воздействию по сравнению с другими исследуемыми культурами. Показано, что использование только bi- (AID-1-T) + BDNF более чем на 50 % снижает пролиферативную активность культур G01, Sus, 40 и U251. Комбинация bi- (AID-1-T) + LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF почти полностью ингибирует деление клеток.

### **Заключение.**

Полученные результаты говорят о том, что клеточные культуры глиобластомы человека IVGrade по-разному реагируют на воздействие исследуемых комбинаций факторов. Наиболее устойчивой к воздействию оказалась культура Rozh, тем не менее, полная комбинация факторов снизила пролиферативную активность клеток более чем на 50 %. Кроме того, эффект наблюдался и при использовании стандартной клеточной линии глиомы U251. Таким образом, выявлено, что полная комбинация факторов bi- (AID-1-T)

+ LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF эффективно ингибируют пролиферацию клеточных культур глиомы человека, несмотря на гетерогенность этих клеток, что открывает перспективы для использования данной комбинации в терапии.

*Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки  
№ 075—15—2020—809 (13.1902.21.0030).*

### **Список литературы:**

1. Batash R. Glioblastoma Multiforme, Diagnosis and Treatment; Recent Literature Review/Batash R., Asna N., Schaffer P., Francis N., Schaffer M.//Current Medicinal Chemistry — 2017.— Т. 24 — № 27 — С. 3002—3009.
2. Delgado-López P.D. Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities/Delgado-López P.D., Corrales-García E.M.//Clinical and Translational Oncology — 2016.— Т. 18 — № 11 — С. 1062—1071.
3. Singh S.K. Identification of human brain tumour initiating cells/Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D., Squire J.A., Bayani J., Hide T., Henkelman R.M., Cusimano M.D., Dirks P.B.//Nature — 2004.— Т. 432 — № 7015 — С. 396—401.
4. Patel A.P. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma/Patel A.P., Tirosh I., Trombetta J.J., Shalek A.K., Gillespie S.M., Wakimoto H., Cahill D.P., Nahed B.V., Curry W.T., Martuza R.L., Louis D.N., Rozenblatt-Rosen O., Suvà M.L., Regev A., Bernstein B.E.//Science — 2014.— Т. 344 — № 6190 — С. 1396—401.

## **STUDY OF THE EFFECT OF COMBINATIONS OF AN ANTIPROLIFERATIVE APTAMER AND INDUCTORS OF NEURAL DIFFERENTIATION ON THE PROLIFERATIVE POTENTIAL OF HUMAN GLIOMA CELL CULTURES**

**Kolesnikova V.<sup>1</sup>, Pavlova G.<sup>1,2,3</sup>**

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

2 Institution «N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia  
3 Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Abstract:** One of the significant areas of research in the field of neurooncology is the study of the possibility of influencing the proliferative potential of tumor cells. In this work, we propose an antiproliferative approach that combines an inhibitory effect on cell division of an oligonucleotide sequence and neuroinductive small molecules. Cell cultures of IV grade gliomas and the U251 glioma cell line were treated with combinations of bi- (AID-1-T) + BDNF and bi- (AID-1-T) + LDN-193189, SB431542, Purmorphamine + BDNF. On the 10th day of the experiment, MTT was carried out to assess the effectiveness of the impact of these combinations.

**Keywords:** glioblastoma multiforme; aptamers; neuroinductive small molecules; antiproliferative effect

# ТАКТИЛЬНАЯ БОЛЕВАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ — РАЗРАБОТКА НОВОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАРАДИГМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОСПРИЯТИЯ АВЕРЗИВНОГО МЕХАНИЧЕСКОГО СТИМУЛА У КРЫС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-168-172

Колесова К.А.<sup>1</sup>, Смирнов К. С.<sup>1,2</sup>,  
Махортых А. Э.<sup>1,3</sup>, Ситникова Е. Ю.<sup>1</sup>

1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

2 Сколковский институт науки и технологий, Москва

3 ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

*e-mail: ksenya260804@gmail.com*

**Аннотация:** Исследование различных моделей повышенной тактильной чувствительности является перспективных для выявления механизмов, лежащих в основе болевых синдромов, как развивающихся на фоне хронических заболеваний ЦНС, так и в результате повреждений периферических нервов. В данной работе описывается методика оценки тактильной чувствительности с помощью волокон фон Фрея с одновременной регистрацией ультразвуковых вокализаций на двух моделях, в которых было показано повышенная чувствительность к механическому раздражению. Первой моделью являются крысы линии WAG/Rij, генетически предрасположенные к абсанс-эпилепсии. Вторая модель — формирование нейропатической боли в результате повреждения седалищного нерва на крысах Wistar.

**Ключевые слова:** тактильная чувствительность, волокна фон Фрея, абсанс-эпилепсия, нейропатическая боль

## Введение.

Вопрос взаимосвязи болевой чувствительности и нарушений таламо-кортикальной системы не до конца изучен. Болевой синдром может развиваться как после повреждения периферических нервов (нейропатическая боль), так и в результате заболеваний центральной нервной системы. Так, хроническая боль является



частым коморбидным состоянием у больных эпилепсией [1]. Как эпилепсия, так и хроническая боль, сопровождаются повышением возбудимости нейронов, при этом нормализация работы ионных каналов и использование антиэпилептических препаратов приводят к облегчению боли. Изменения в функционировании таламо-кортикальной сети характерны как для определённых видов эпилепсии, так и для нейропатической боли. В нашей работе мы использовали крыс линии WAG/Rij, которые имеют генетическую предрасположенность к абсанс-эпилепсии [2]. Порог механической чувствительности по фон Фрею у крыс WAG/Rij оказывался стабильно ниже, чем у крыс Wistar, и он не изменялся с возрастом (1, 3 и 6 месяцев), несмотря на проявление абсанс-эпилепсии в возрасте 6 месяцев [3]. Также мы использовали крыс Wistar, подвергнутых операции пережимания седалищного нерва, что согласно литературным данным является моделью нейропатической боли [4]. Таким образом, мы предполагаем сравнить изменения тактильной чувствительности в разных животных моделях — вызванной механическими повреждением и спонтанной генетической. Для оценки чувствительности нами использован тест тактильной чувствительности по фон Фрею, который даст представление о пороге восприятия боли, как аверзивного стимула, в отличие от очевидной физической боли (например, в ответ на повреждение тканей). Этот тест дополнен записью ультразвуковой вокализации с целью определения степени аверзивности предъявляемого механического стимула [5].

### **Методика.**

Тестирование тактильной и болевой чувствительности у крыс с использованием оригинального протокола и набора 20 мононитей Aesthesio® (волокна фон Фрея — калиброванные волокна с определенной силой изгиба). Это — популярный неинвазивный метод, основанный на провокации рефлекса отдергивания лапы при неожиданном резком прикосновении к ней филаментов разной степени жёсткости (волокна фон Фрея). Важно учитывать, что порог механической чувствительности по фон Фрею является мерой того, когда животное осознает механическое воздействие, вызывающее раздражение, в отличие от очевидной боли, вызываемой, например, аппаратом Ранделла-Селлито [Drew et al., 2007]. Этот метод используется для оценки уровня механической аллодинии и кожной чувствительности лабораторных мышей и крыс.

Был разработан следующий экспериментальный протокол, который нацелен на определение минимальной жёсткости волокна фон Фрея, прикосновение которого вызывало рефлекс отдергивания.

За день до тестирования крысы в группе, которой они жили в домашней клетке, помещались на 1,5 часа в большую камеру, имевшую металлический сетчатый пол, идентичный находящемуся в камере для тестирования. Данная процедура проводилась для адаптации чувствительности лап в сетчатому полу.

1. Адаптация к экспериментальной установке — 15 мин. Крыса помещалась в камеру из прозрачного плексигласа размером 30 см × 20 см с металлическим сетчатым полом (размер ячеек сетки 0.5 см) (изображения камеры представлено на Рис. 1 А). Для удобства работы экспериментатора, клетка помещалась на высоте 20 см над поверхностью стола.

2. Тест. Последовательное предъявление волокон Фон Фрея к задним лапам крысы по возрастанию, начиная с 4 гр: 4, 6, 8, 10, 15, 26, 60, 100, 180, 300. Оказывалось мягкое давление на волокно, до тех пор, пока волокно не сгибалось под прямым углом. Интервал между предъявлениями составлял от 5 до 10 сек. Правую и левую лапы тестировали попеременно.

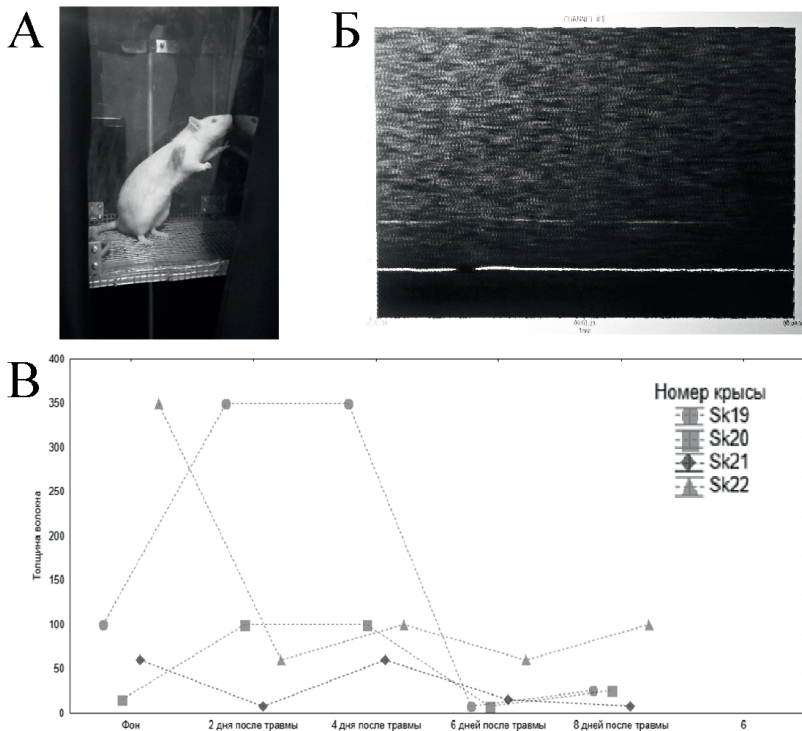
3. Определяли жёсткость волокна, предъявление которого вызывало реакцию отдергивания лапы. Фиксировали реакцию на стимул, если крыса реагировала на 3 из 5 предъявлений.

4. После детектирования этой реакции, использовали волокно меньшей жесткости, постепенно снижая жесткость волокна до тех пор, пока крыса не переставала реагировать на уколы. Затем жесткость так же постепенно повышали до появления реакции отдергивания, после чего снова снижали. После появления первой реакции отдергивания, тестировались ещё 4 нисходящие и восходящие серии стимуляций.

5. Порог чувствительности определялся по первому значению волокна, вызывавшего одергивание лапы (динамика значений данного критерия у крыс, подвергнутых пережиманию нерва, представлена на Рис. 1 В).

6. Также рассчитывался 50% порог одергивания на основании всех ответов животного в одной экспериментальной сессии.

Регистрация ультразвуковых вокализаций осуществлялась на протяжении всего тестирования (пример аверзивной вокализации представлен на Рис. 1 Б).



**Рис. 1.** А. Изображение камеры для тестирования тактильной чувствительности. Б. Пример аверзивных ультразвуковых вокализаций во время тестирования чувствительности. В. Динамика чувствительности до и после пережатия седалищного нерва.

### Заключение.

Разработанный нами протокол исследования тактильной чувствительности даст важную информацию для понимания связи механизмов восприятия сенсорной информации и нарушения таламо-кортикальной системы при абсанс-эпилепсии и нейропатической боли.

### Список литературы:

- Ottman, R., Lipton, R. B., Ettinger, A. B., Cramer, J. A., Reed, M. L., Morrison, A., et al. (2011). Comorbidities of epilepsy: results from the epilepsy comorbidities and Health (EPIC) survey. *Epilepsia* 52, 308—315. doi:10.1111/j.1528—1167.2010.02927.x

2. Coenen AML, van Luijtelaar ELJM. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of Rats. *Behav. Genet.* 2003, 33: 635—655
3. De Caro, C., Di Cesare Mannelli, L., Branca, J., Micheli, L., Citraro, R., Russo, E., De Sarro, G., Ghelardini, C., Calignano, A., & Russo, R. (2020). Pain Modulation in WAG/Rij Epileptic Rats (A Genetic Model of Absence Epilepsy): Effects of Biological and Pharmacological Histone Deacetylase Inhibitors. *Frontiers in pharmacology*, 11, 549191. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.549191>
4. Siwei Q, Ma N, Wang W, Chen S, Wu Q, Li Y, Yang Z. Construction and effect evaluation of different sciatic nerve injury models in rats. *Transl Neurosci.* 2022 Mar 7;13 (1):38—51. doi: 10.1515/tnsci-2022—0214. Erratum in: *Transl Neurosci.* 2022 Sep 06;13 (1):291. PMID: 35350657; PMCID: PMC8919826.
6. Portfors, C. V. (2007) Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 46 (1): 28—34

## TACTILE PAIN SENSITIVITY — DEVELOPMENT OF A NEW EXPERIMENTAL PARADIGM FOR STUDYING THE PERCEPTION OF AVERSIVE MECHANICAL STIMUL IN RATS

Kolesova K. A. <sup>1</sup>, Smirnov K. S. <sup>1,2</sup>,  
Makhortykh A. E. <sup>1,3</sup>, Sitnikova E. U. <sup>1</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

2 Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

3 Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

**Abstract:** The study of various models of increased tactile sensitivity is promising identifying the mechanisms underlying pain syndromes, developing either as a comorbidity of chronic CNS diseases or as a result of peripheral nerve injury. Here we describe a method for assessing tactile sensitivity using von Frey fibers with simultaneous registration of ultrasonic vocalizations on two models in which increased sensitivity to mechanical stimulation was shown. The first model is WAG/Rij rats, genetically predisposed to absence epilepsy. The second model is the development of neuropathic pain after sciatic nerve injury in Wistar rats.

**Keywords:** tactile sensitivity, von Frey fibers, absence epilepsy, neuropathic pain

## ПОСЛЕДСТВИЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНА СНАТ В НЕЙРОНАХ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТАЛЬНОГО ЯДРА У МЫШЕЙ C57BL/6

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-173-178

Корягина А. А.<sup>1</sup>, Недогреева О. А.<sup>1</sup>, Спивак Ю. С.<sup>1</sup>,  
Белецкий А. П.<sup>1</sup>, Большаков А. П.<sup>1</sup>, Дашинимаев Э. Б.<sup>2</sup>,  
Гуляева Н. В.<sup>1</sup>, Степаничев М. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биологии развития им. Н. Н. Кольцова РАН, Москва, Россия  
*E-mail: koraljona3@gmail.com*

**Аннотация:** Холинергические нейроны ядер переднего мозга обладают способностью синтезировать два классических медиатора: ацетилхолин и гамма-аминомасляную кислоту. Для исследования роли холинергических нейронов, в основном, используются различные токсины, действие которых приводит к повреждению и гибели нервных клеток. Такой подход не позволяет выделить функциональную роль каждого из медиаторов в исследуемых процессах. Поэтому для понимания вклада каждого из этих медиаторов в функции мозга необходимо наличие моделей, которые позволяют инактивировать одну нейромедиаторную систему при относительной сохранности второй. Целью настоящей работы было применение метода геномного редактирования на основе CRISPR-Cas для локального ингибирования синтеза ацетилхолина в нейронах медиального септума, при сохранении структуры и функциональных свойств самих клеток.

**Ключевые слова:** Холинергические нейроны, холинацетилтрансфераза, CRISPR/Cas9, геномное редактирование

### **Введение.**

Холинергические нейроны ядер переднего мозга представляют собой уникальные клетки, обладающие способностью синтезировать два классических медиатора: ацетилхолин и гамма-аминомасляную кислоту [1]. Одним из таких ядер является медиальное септальное ядро, нейроны которого отправляют свои проекции в гиппокамп. Показано, что эти клетки вовлечены в процессы, ас-

социированные с регуляцией ритмической активности нейронов неокортекса и гиппокампа [2]. Кроме того, активность этих клеток важна для обучения и формирования памяти.

Для исследования роли, которую играют холинергические нейроны в том или ином процессе, происходящем в мозге, в основном используются различные токсины, действие которых приводит к повреждению и гибели нервных клеток [3,4]. Поскольку холинергические нейроны могут быть источником двух медиаторов, гибель клеток не позволяет выделить функциональную роль каждого из медиаторов в исследуемых процессах.

Методика редактирования генома, основанная на способности белка Cas9 специфически узнавать и воздействовать на молекулу ДНК, является одним из перспективных методов, который позволяет направленно редактировать геном, в том числе *in vivo* в клетках мозга мыши [5]. Использование этого метода может позволить инактивировать только одну нейромедиаторную систему в нейронах, обладающих двойной эргичностью, при сохранении целостности самих клеток и их связей. Такой подход может помочь пролить свет на вклад каждого из этих медиаторов в функции, которые выполняют холинергические нейроны в септо-гиппокампальной системе мозга.

Целью настоящей работы было применение генно-инженерной методики на базе CRISPR-Cas для подавления холинергической трансмиссии в нейронах медиального септума.

### **Материалы и методы.**

Использовали культуру клеток нейробластомы мыши Neuro2A, полученных из Российской коллекции клеточных культур (ИЦ РАН, С.-Петербург, РФ), культивирование которой проводили в среде DMEM, содержащей 10 % сыворотки FBS.

Для доставки системы CRISPR/Cas9 в клетки использовались плазмиды pAAV-EFS-мус-SpCas9, pAAV-U6-gRNA-CMV-GFP, отвечающие за экспрессию белка SpCas9 и гидовых РНК, соответственно. Для оценки работоспособности этой системы проводили котрансфекцию клеток Neuro2A вышеуказанными плазмидами с использованием Lipofectamine 2000 (Invitrogen, USA) согласно протоколу производителя. Клеточная популяция, экспрессирующая GFP, была отобрана методом сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS). Далее методом ПЦР проводили амплификацию фрагмента гена Chat, включающего делецию, клонирование этого фрагмента, отбор клонов и секвенирование по Сэнгеру.

Наработку и очистку AAV-векторов проводили согласно протоколу Grieger et. al [6], с минимальными модификациями. Коротко, клетки HEK293TN растили в среде DMEM с добавлением 10 % FBS до конфлюентности 60—80 %, далее клетки котрансфицировали плазмидами pHelper, pAAV2/9n-Rep/Cap и целевыми плазмидами pAAV с ITR. В качестве трансфицирующего агента использовали разветвленный PEI (Sigma-Aldrich, USA). Через 72 ч клетки механически собирали и лизировали методом заморозки/разморозки. Гомогенаты очищали от дебриса центрифугированием. Далее вирусные векторы очищали с использованием ультрацентрифугирования в градиенте йодиксанола.

В экспериментах *in vivo* использовали мышей линии C57BL/6, полученных из Филиала “Столбовая” ФГБУН “Научного центра биомедицинских технологий ФМБА” (Московская обл., РФ). Животных анестезировали 4 % изофлураном (30—50 мл/мин) и помещали в стереотаксическую установку. Небольшое отверстие в черепе делали с помощью стоматологического бора. Инъекцию вирусных векторов (титр 10<sup>10</sup> vg/ul) осуществляли с использованием 10-мкл микрошприца (Hamilton, USA) в медиальную септальную область мозга (координаты от брегмы: AP +0.8, L -1, H -4,4, угол 14°). Объем инъекции составлял 2 мкл, скорость введения 0.25 мкл/мин, в течение введения микрошприц равномерно поднимали на 1 мм. Через 4 недели после введения вирусных векторов мышей декапитировали и собирали образцы тканей мозга, которые хранили при -80 °C до проведения последующих анализов.

Для измерения активности ферментов пробы гиппокампов мыши гомогенизировали и центрифугировали при 2500 g в течение 10 мин. Далее измеряли концентрацию общего белка в полученных супернатантах по методу Брэдфорда, после чего с помощью спектрофотометрии проводили измерение активности ХАТ (набор Choline Acetyltransferase (ChAT) Activity Assay Kit (Cloud Clone Corp., PRC)), и активности ацетилхолинэстеразы (Ellmans Assay).

Для детекции делеций в гене *Chat* геномную ДНК из медиального септума выделяли с помощью набора ExtractDNA Blood & Cells (Евроген), а для детекции изменений в мРНК проводили выделение тотальной РНК с помощью реагента ExtractRNA (Евроген), после чего сначала проводили ДНКазную обработку проб с использованием ДНКазы I (ThermoScientific), а потом синтезировали кДНК первой цепи с использованием набора MMLV RT kit (Евроген). Далее подготавливалась библиотека для таргетного NGS секвенирова-

ния на основе ПЦР-продукта, полученного с помощью праймеров, фланкирующих предполагаемое место делеции.

### **Результаты и обсуждение.**

С помощью биоинформатического анализа были подобраны последовательности спейсеров гРНК (2 пары) для получения делеции в 7 экзоне гена *Chat*. Их последовательность была заклонирована в плазмидные векторы с репортерным белком GFP. Работоспособность созданной системы CRISPR-Cas была подтверждена наличием делеций в целевой области генома, после котрансфекции клеточной линии нейробластомы Neuro2A тремя плазмидными векторами для экспрессии 2-х гРНК и белка Cas9.

Далее были собраны вирусные векторы на основе аденоассоциированных вирусов 9 серотипа для доставки системы CRISPR-Cas и гРНК, специфичных для гена холинацетилтрансферазы, в медиальную септальную область мозга мыши. Стереотаксическое введение созданных конструкций в область медиального ядра септума мыши сопровождалось коэкспрессией маркера заражения вектором с гРНК (белков GFP) и маркера заражения вектором с белком Cas9 (*myc-tag*) в нейронах целевой области.

Наличие делеций в целевой области генома мыши было подтверждено с помощью таргетного NGS секвенирования: 0,42% ридов имеют делецию в целевой области различной длины от 200 пн до 1—2 пн. Также с помощью метода NGS секвенирования была проведена оценка изменений мРНК транскриптов гена *Chat*, выделенных из области медиального септума, а так же из гиппокампа, области проекций холинергические нейронов медиального септума. Процент ридов с делециями в целевой области составил 0,29% и 0,93% соответственно.

Мы не смогли детектировать значимого изменения в активности ферментов холинацетилтрансферазы и ацетилхолинэстеразы в гиппокампе мышей, которым вводили конструкции для подавления экспрессии ХАТ, по сравнению с контрольной группой мышей, которым вводили вирусные векторы для экспрессии белка Cas9 и гРНК со спейсером, последовательность которого не имеет комплементарной в геноме мыши. Также не было обнаружено различий в поведении мышей из целевой и контрольной групп в тестах открытого поля, Y- и T-образного лабиринта, тесте сужающейся дорожки и тесте пассивного избегания.

Несмотря на то, что использованные векторы для доставки системы CRISPR-Cas, направленной на ген холинацетилтрансфе-



разы, эффективно заражают область интереса, процент делеций в выбранной области генома низкий, что, в свою очередь, не приводит к изменениям в системе холинергической трансмиссии. Это может говорить о нескольких возможных причинах: во-первых, в наших условиях работа системы может быть недостаточно эффективна ввиду того, что спейсеры гРНК подобраны таким образом, что изменения в выбранной области генома не приводят к нарушениям, влияющим на функциональность фермента. Во-вторых, возможно, что репаративные процессы с большой эффективностью компенсируют вносимые нами нарушения. Например, имеющая место в нейронах NHEJ-репарация [7] может эффективно восстанавливать вносимые белком Cas9 двухцепочечные разрывы молекулы ДНК, или в ответ на первичные нарушения нейротрансмиссии нервная клетка может включать механизмы увеличения транскрипции и трансляции, что приводит к нормализации уровня нейротрансмиссии.

### **Заключение.**

Стереотаксическое введение в область медиального септума векторов для доставки системы CRISPR-Cas со спейсерами гРНК, специфичными для гена холинацетилтрансферазы, позволяет получить делецию в 7 экзоне гена *Chat*, хотя эффективность такого редактирования является низкой. Это не приводит к существенным изменениям поведения животных или активности ферментов синтеза и деградации ацетилхолина в гиппокампе.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ  
(проект № 20—015—00226).*

### **Список литературы:**

1. Takács V. T. et al. Co-transmission of acetylcholine and GABA regulates hippocampal states//Nature communications. — 2018. — Т. 9. — №. 1. — С. 1—15.
2. Mitsushima D. Hippocampal Function and Gonadal Steroids//Steroids-From Physiology to Clinical Medicine. — IntechOpen, 2012.
3. Bolshakov A. P. et al. Saporin from *Saponaria officinalis* as a Tool for Experimental Research, Modeling, and Therapy in Neuroscience//Toxins. — 2020. — Т. 12. — №. 9. — С. 546.
4. Gulyaeva N. V. et al. Molecular and cellular mechanisms of sporadic Alzheimer's disease: Studies on rodent models in vivo//Biochemistry (Moscow). — 2017. — Т. 82. — №. 10. — С. 1088—1102.

5. Swiech L. et al. In vivo interrogation of gene function in the mammalian brain using CRISPR-Cas9//Nature biotechnology. — 2015. — T. 33. — №. 1. — C. 102—106.
6. Grieger J. C., Choi V. W., Samulski R. J. Production and characterization of adeno-associated viral vectors//Nature protocols. — 2006. — T. 1. — №. 3. — C. 1412—1428.
7. McKinnon P. J. Maintaining genome stability in the nervous system//Nature neuroscience. — 2013. — T. 16. — №. 11. — C. 1523—1529.

## CHOLINE ACETYLTRANSFERASE GENE INACTIVATION USING THE CRISPR/ CAS9 SYSTEM DOES NOT LEAD TO CHOLINERGIC DEFICIT IN MEDIAL SEPTUM

Koryagina A. A.<sup>1</sup>, Nedogreeva O. A.<sup>1</sup>, Spivak Yu. S.<sup>1</sup>,  
Beletsky A. P.<sup>1</sup>, Bolshakov A. P.<sup>1</sup>, Dashinimaev E. B.<sup>2</sup>,  
Gulyaeva N. V.<sup>1</sup>, Stepanichev M. Yu.<sup>1</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

2 Kol'tsov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** Forebrain cholinergic neurons can release two neurotransmitters: acetylcholine (ACh) and gamma-aminobutyric acid (GABA). Previously, role of cholinergic neurons was studied using various toxins that lead to damage and death of neurons. However, this approach does not allow to differentiate the functional role of each of two neurotransmitters. To shed light upon the individual neurotransmitter contribution to brain function it is necessary to develop models for inactivation of one neurotransmitter with saving another. In current work, we planned to use a system on the basis of genome editing CRISPR/Cas system for local inhibition of ACh synthesis in medial septal neurons which makes it possible to preserve structures and functional properties of neurons.

**Keywords:** cholinergic neurons, choline acetyltransferase, CRISPR/Cas9, genome editing

# КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-179-182

Кострюков П. А.<sup>1</sup> Комольцев И. Г.<sup>1,2</sup>, Шальнева Д. В.<sup>1</sup>, Франкевич С. О.<sup>1,2</sup>, Волкова А. А.<sup>1</sup>, Широбокова Н. И.<sup>1</sup>, Салып О. Ю.<sup>1</sup>, Башкатова Д. А.<sup>1</sup>, Костюнина О. В.<sup>1</sup>, Чижова О. А.<sup>1</sup>, Беликова А. А.<sup>1,2</sup>, Балан С. И.<sup>1,2</sup>, Новикова М. Р.<sup>1</sup>, Гуляева Н. В.<sup>1,2</sup>

1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской Академии Наук», Москва, Россия

2 ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр им. З. П. Соловьёва ДЗМ, Москва, Россия  
*pavelkostrukov075@gmail.com*

**Аннотация:** Крысы линииSHR характеризуются повышенным базальным уровнем кортикостерона и потенциально являются новым экспериментальным объектом для изучения кортикостерон-зависимых механизмов посттравматических нарушений. В данной экспериментальной работе мы показали наличие когнитивных нарушений через 3 месяца после ЧМТ в тесте Барнес.

**Ключевые слова:** когнитивные нарушения, черепно-мозговая травма, артериальная гипертензия

## **Введение.**

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из основных причин смертности, инвалидизации и неврологического дефицита у людей молодого возраста. При этом к отдаленным последствиям ЧМТ относят депрессию, когнитивные нарушения и посттравматическую эпилепсию (ПТЭ). В связи с недостаточным пониманием нейробиологических механизмов посттравматических процессов до сих пор не существует методик эффективной профилактики

ки поздних осложнений ЧМТ. Крысы линии SHR (spontaneously hypertensive rats) характеризуются развитием спонтанной артериальной гипертензии, а также спектром поведенческих нарушений: гиперактивность, нарушения внимания, импульсивность, когнитивные нарушения и др. Известно также, что крысы линии SHR характеризуются повышенным базальным уровнем кортикостерона. Таким образом, крысы линии SHR являются новым экспериментальным объектом для изучения кортикостерон-зависимых механизмов посттравматических нарушений. В данной экспериментальной работе исследовали наличие когнитивных и поведенческих нарушений через 3 месяца после ЧМТ у крыс линии SHR.

### **Материалы и методы.**

Эксперимент были проведён на 25 самцах крыс линии SHR (возраст около 6 мес), поделённых на две группы: животные с ложной операцией (ЛО) и крысы с ЧМТ. ЧМТ моделировали при помощи латерального гидродинамического удара. Артериальное давление измеряли до операции, а также на 3 и 7 дни, а также через месяц, 2 и 3 месяца после краниотомии. Моделирование ЧМТ проводили при помощи латерального гидродинамического удара в область правой сенсомоторной коры. Измерение давления проводили с помощью аппарата «Систола» после помещения в иммобилизационные камеры, с поддержкой постоянной температуры около 340 С. Поведенческих тесты проводили через 3 месяца после ЧМТ. Для выявления когнитивных нарушений использовали тест Барнес, проводимый в течение 7 дней. Приподнятый крестообразный лабиринт и тест открытое поле использовали для выявления элементов тревожно-депрессивного поведения.

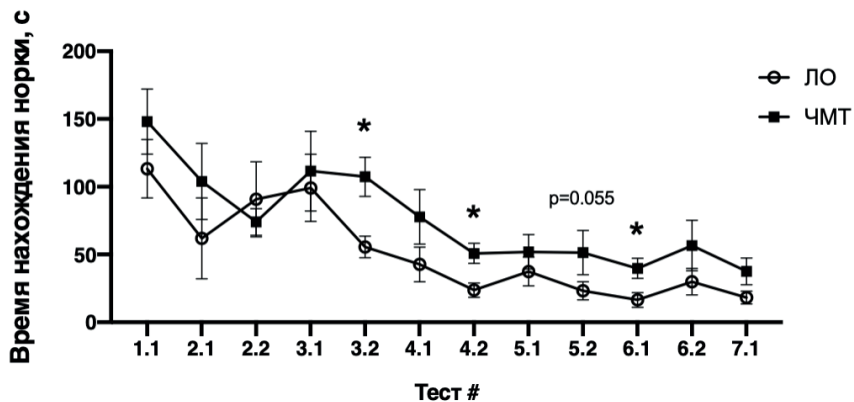
### **Результаты.**

Крысы линии SHR обладали гипертоническим фенотипом, АД составляло  $179 \pm 2$  на  $139 \pm 2$  мм. рт. ст. до краниотомии. Нанесение ЧМТ не влияло на показатели АД в течение всего эксперимента (Рис. 1).



*Рис. 1. Динамика систолического давления у крыс линии SHR.*

Поведенческие нарушения в тесте Барнес выявляются через 3 месяца после моделирования ЧМТ (Рис. 2). Время нахождения истинной норки было выше у крыс группы ЧМТ при сравнении с группой ЛО на 3, 4 и 6 дни тестирования ( $p < 0,05$ ). Стоит отметить также, что общая длительность теста была выше у крыс группы ЧМТ ( $p < 0,05$ ). Кроме того, скорость у крыс с ЧМТ была значимо ниже по сравнению с группой ЛО ( $p < 0,05$ ).



*Рис. 2. Время нахождения норки через 3 мес после краниотомии у крыс линии SHR.*

Нам не удалось выявить различия у крыс групп ЧМТ и ЛО в тестах крестообразный приподнятый лабиринт и открытое поле.

### **Выводы.**

Крысы линии SHR в отдалённом периоде ЧМТ демонстрируют когнитивные нарушения и являются новым перспективным экспериментальным объектом для изучения механизмов таких нарушений.

*Поддержано грантомРНФ № 22—25—00713.*

## **COGNITIVE DISTURBANCES IN LATE POSTTRUMATIC PERIOD IN RATS WITH SPONTANEOUSLY ARTERIAL HYPERTENSION**

Kostruykov P. A.<sup>1</sup> Komoltsev I. G.<sup>1,2</sup>, Shalneva D. V.<sup>1</sup>,  
Frankevich S. O.<sup>1,2</sup>, Volkova A. A.<sup>1</sup>, Shirobokova N. I.<sup>1</sup>,  
Salyp O. Yu.<sup>1</sup>, Bashkatova D. A.<sup>1</sup>, Kostyunina O. V.<sup>1</sup>,  
Chizhova O. A.<sup>1</sup>, Belikova A. A.<sup>1,2</sup>, Balan S. I.<sup>1,2</sup>,  
Novikova M. R.<sup>1</sup>, Gulyaeva N. V.<sup>1,2</sup>

1 Dept. of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences

2 Moscow Research and Clinical Center for Neuropsychiatry

**Annotation:** SHR rats are characterized by elevated basal corticosterone levels and are potentially a new experimental object for the study of corticosterone-dependent mechanisms of post-traumatic disorders. In this experimental work, we found cognitive impairment 3 months after the TBT in Barnes maze.

**Keywords:** cognitive decline, traumatic brain injury, arterial hypertension

## ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ ГИППОКАМПА В ОТДАЛЁННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-183-187

Костюнина О. В.<sup>1</sup>, Волкова А. А.<sup>1,2</sup>, Комольцев И. Г.<sup>1,3</sup>,  
Широбокова Н. И.<sup>1</sup>, Франкевич С. О.<sup>1,3</sup>, Салып О. Ю.<sup>1</sup>,  
Башкатова Д. А.<sup>1</sup>, Шальнева Д. В.<sup>1</sup>, Кострюков П. А.<sup>1</sup>,  
Чижова О. А.<sup>1</sup>, Беликова А. А.<sup>1,3</sup>, Балан С. И.<sup>1,3</sup>,  
Новикова М. Р.<sup>1</sup>, Гуляева Н. В.<sup>1,3</sup>

1 Лаборатория функциональной биохимии нервной системы, Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва;

2 Лаборатория психоневрологии и эпилептологии, Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю. Е. Вельтищева РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва;

3 ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр им. З. П. Соловьева, Москва.

*e-mail: okostyunina67@mail.ru*

**Аннотация:** Целью данного исследования являлась оценка зависящих от уровня кортикостерона морфологических изменений через 3 месяца после ЧМТ у крыс. Черепно-мозговая травма приводит к повреждению гиппокампа в отдалённом периоде. Раннее повышение уровня кортикостерона напрямую не коррелирует с повреждением гиппокампа в отдалённом периоде ЧМТ. Уровень кортикостерона в крови в отдалённом посттравматическом периоде негативно коррелирует с плотностью микроглии, проявляя слабые противовоспалительные эффекты у выживших крыс — можно предположить, что у выживших крыс с относительно низким уровнем кортикостерона увеличивается плотность микроглии, что приводит к повреждению гиппокампа.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, гиппокамп, кортикостерон, нейродегенерация.

### **Введение.**

Известно, что патогенез черепно-мозговой травмы (ЧМТ) опосредован нейровоспалением и нейродегенерацией [1]. Гиппокамп

является избирательно уязвимой областью, где высоко экспрессируются глюкокортикоидные рецепторы, регулирующие ответ на стресс— глюкокортикоиды связываются с ними и модулируют работу гиппокампа, влияя на сигнальные и метаболические системы [2]. Острое и хроническое повышение уровня кортикостерона может быть вовлечено в раннее повреждение гиппокампа после ЧМТ и дальнейшую вторичную нейродегенерацию— предполагаемый морфологический субстрат для отдалённых последствий ЧМТ [3]. Цель нашего исследования — оценить зависящие от уровня кортикостерона морфологические изменения через 3 месяца после ЧМТ.

### **Материалы и методы.**

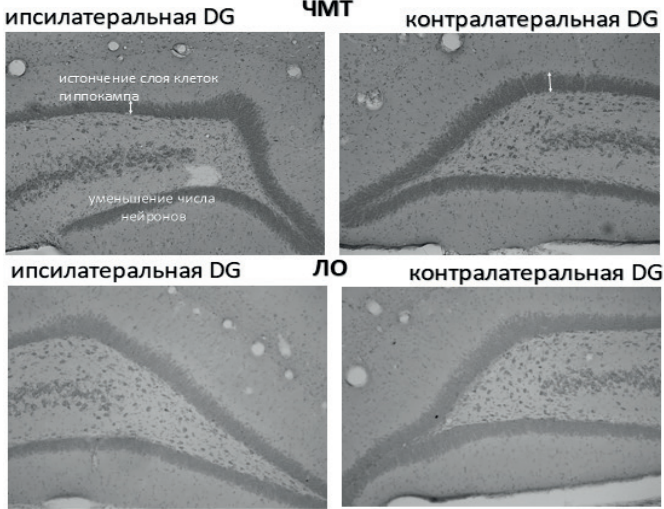
Исследование было выполнено на 51 самце крыс линии Sprague-Dawley, разделённых на 3 группы: ЧМТ, ложнооперированные животные и контроль. ЧМТ моделировали нанесением латерального гидродинамического удара. Уровень кортикостерона в крови измеряли методом иммуноферментного анализа перед краниотомией, на 3,7 дни и через 3 месяца после ЧМТ. Для гистологического анализа применяли иммуногистохимическое окрашивание с использованием антител к маркерам астроцитов (GFAP) и микроглии (Iba1). Среднее число глиальных клеток было посчитано в областях ипси- и контралатерального гиппокампа — зубчатой извилине, CA1 и CA3.

### **Результаты.**

Уровень кортикостерона повышался на 3 день после ЧМТ, и являлся предиктором отдалённой смертности ( $p < 0.05$ ). Через 3 месяца после ЧМТ мы выявили уменьшение числа нейронов в ипсилатеральной зубчатой извилине, билатеральное истончение клеточных слоёв гиппокампа и астроглиоз (Рис. 1). Неожиданным оказалось отсутствие различий в числе микроглиальных клеток между полушариями и между группами животных. Повышение уровня кортикостерона в остром периоде ЧМТ не коррелировало с повреждениями гиппокампа через 3 месяца после травмы. Однако, уровень кортикостерона в крови через 3 месяца после ЧМТ негативно коррелировал с плотностью микроглии в области CA1 ипсилатерально ( $p < 0.017$ ) и CA3 билатерально ( $p < 0.02$ ) (Рис. 2).

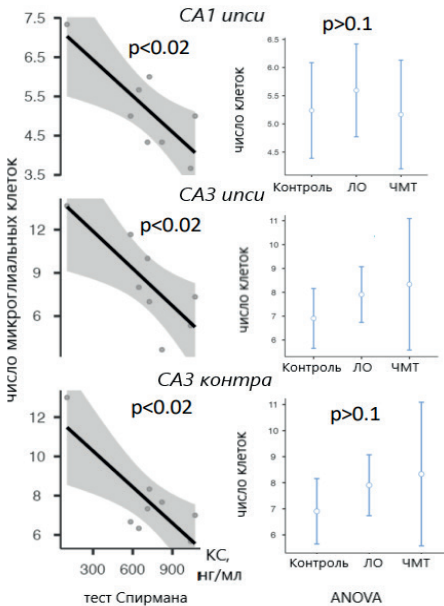


**Окраска по Нисслю**



**Рис. 1.** Нейродегенерация в ипсилатеральном гиппокампе через 3 мес. после ЧМТ.

**Корреляции между уровнем КС в крови и плотностью микроглии (3 мес. после ЧМТ)**



**Рис. 2.** Корреляция между уровнем КС в крови и числом микроглиальных клеток в гиппокампе через 3 мес. после ЧМТ.

### **Заключение.**

Черепно-мозговая травма приводит к повреждению гиппокампа, сохраняющемуся к 3 месяцам после травмы. Раннее повышение уровня кортикостерона напрямую не коррелирует с повреждением гиппокампа в отдалённом периоде ЧМТ. Уровень кортикостерона в крови в отдалённом посттравматическом периоде негативно коррелирует с плотностью микроглии, проявляя слабые противовоспалительные эффекты у выживших крыс. Можно предположить, что у выживших крыс с относительно низким уровнем кортикостерона увеличивается плотность микроглии, что приводит к повреждению гиппокампа.

*Поддержано грантомРНФ № 22—25—00713.*

### **Список литературы:**

1. Vezzani, A.; Balosso, S.; Ravizza, T. Inflammation and epilepsy. In Handbook of Clinical Neurology; Elsevier, The Netherlands, 2012; Volume 107, pp. 163—175; ISBN 9780444528988.
2. Komoltsev, I. G.; Gulyaeva, N. V. Brain Trauma, Glucocorticoid-sand Neuroinflammation: Dangerous Liaisons for the Hippocampus. *Biomedicines* 2022, 10, 1139. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051139>
3. Thompson, H. J.; Lifshitz, J.; Marklund, N.; Grady, M. S.; Graham, D. I.; Hovda, D. A.; McIntosh, T. K. Lateral Fluid Percussion Brain Injury: A 15-Year Review and Evaluation. *J. Neurotrauma* 2005, 22, 42—75, doi:10.1089/neu.2005.22.42.

## **EFFECTS OF CORTICOSTERONE ON HIPPOCAMPAL DAMAGE DURING LATE POST-TRAUMATIC PERIOD IN RATS**

**O. V. Kostyunina<sup>1</sup>, A. A. Volkova<sup>1,2</sup>, I. G. Komoltsev<sup>1,3</sup>,  
N. I. Shirobokova<sup>1</sup>, S. O. Frankevich<sup>1</sup>, O. Yu. Salyp<sup>1</sup>,  
D. A. Bashkatova<sup>1</sup>, D. V. Shalneva<sup>1</sup>, O. A. Chizhova<sup>1</sup>,  
P. A. Kostrukov<sup>1</sup>, Belikova A. A.<sup>1,2</sup>, Balan S. I.<sup>1,2</sup>,  
M. R. Novikova<sup>1</sup> and N. V. Gulyaeva<sup>1,3</sup>**

1 Department of Functional Biochemistry of Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

2 Department of Psychoneurology and Epileptology, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

3 Moscow Research and Clinical Center for Neuropsychiatry, Moscow, Russia.

*e-mail: okostyunina67@mail.ru*

**Annotation:** The aim of this study was to assess corticosterone-dependent morphological changes 3 months after TBI in rats. Traumatic brain injury results in hippocampal damage persisting by 3 months after injury. Early elevation of corticosterone levels does not directly correlate with hippocampal damage 3 months after TBI. Blood corticosterone levels in the late post-traumatic period are negatively correlated with microglial density, exhibiting weak anti-inflammatory effects in surviving rats. It can be assumed that surviving rats with relatively low levels of corticosterone increase the density of microglia, which leads to damage to the hippocampus.

**Keywords:** traumatic brain injury, hippocampus, corticosterone, neurodegeneration.

## ВЛИЯНИЕ РАДИОТЕРАПИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЛАТЕРАЛИЗОВАННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ МЕДИОБАЗАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ВИСОЧНОЙ ДОЛИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-188-193

Кулева А. Ю.<sup>1</sup>, Болдырева Г. Н.<sup>1</sup>, Шарова Е. В.<sup>1</sup>,  
Галкин М. В.<sup>2</sup>, Кроткова О. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко» Минздрава России; Москва, Россия

*E-mail: kylaria@mail.ru*

**Аннотация:** В работе проанализированы изменения мнестических функций и ЭЭГ у 27 пациентов с латерализованным поражением медиобазальных отделов височной доли, оказывающем разную степень компримирующего воздействия на гиппокамп, после радиотерапии (РТ). Сопоставление полученных результатов с данными нейровизуализации и морфометрии позволило выявить полушарную специфичность реакций мозга на лучевое воздействие и уточнить функциональные маркеры включенности гиппокампа в этот процесс.

**Ключевые слова:** паттерны ЭЭГ, зрительная память, опухоль височной доли, гиппокамп, радиотерапия.

Изучение особенностей включения глубинных церебральных структур в формирование механизмов работы повреждённого мозга является актуальной проблемой клинической нейропсихологии и нейрофизиологии. Моделью для ее изучения может служить исследование пациентов с менингиомой медиобазальных отделов височной доли, оказывающей разную степень компримирующего воздействия на гиппокамп, до и после стереотаксической радиотерапии (РТ), проводимой с целью остановки роста опухоли. В литературе имеются данные о том, что, наряду с позитивным лечебным эффектом, вероятным последствием РТ может быть частичное на-

рушение функций памяти [1], обусловленное побочным лучевым воздействием на структуры гиппокампа [1,2]. С другой стороны, есть указания на возможную стимуляцию нейрогенеза гиппокампа с последующей активацией некоторых когнитивных функций [3,4]. ЭЭГ-эффекты последствий РТ изучены в меньшей степени, и полученные результаты также неоднозначны [5,6].

Цель работы — в сопоставлении с данными нейровизуализации (МРТ), включающей морфометрию, проанализировать характер изменений мнестических функций и ЭЭГ у пациентов с латерализованным поражением медиобазальных отделов височной доли через 6 месяцев после РТ.

### **Методика.**

Основную группу наблюдения составили 27 пациентов с менигиомами медиобазальных отделов височной доли. Из них у 12 человек (ср. возраст  $50 \pm 10$  лет; 10 женщин) опухоль локализовалась справа, у 15 — слева (ср. возраст  $53 \pm 10$  лет; 13 женщин). На основании данных нейровизуализации (МРТ), полученных в отделении радиохирургии и радиотерапии НМИЦН им. ак. Н. Н. Бурденко, пациенты были разделены на две группы: 17 случаев с компрессией и 10 — без компрессии гиппокампа. По данным морфометрии, проведенной путем оконтуривания опухоли и гиппокампов, значимых различий их объемов в исследуемых группах не выявлено. Пациенты проходили 30-дневный курс РТ с разовой очаговой дозой 1.8 Гр, суммарной — 54.0 Гр. Комплексное нейропсихологическое и нейрофизиологическое исследования выполнялись до и через 6 месяцев после курсовой РТ.

Тестирование зрительного запоминания проводилось по оригинальной методике АВП [7]. На экране последовательно предъявлялось 5 стимулов, каждый из которых состоял из 3х цветных картинок. Стимулы требовалось запомнить. Через 10 мин после презентации испытуемый должен был назвать те картинки, которые он смог запомнить — тест на свободное воспроизведение («СВ»). Еще через 15 мин проводился тест на узнавание («У»): в псевдослучайном порядке предъявлялось 30 картинок, среди которых были идентичные исходному образцу, несколько отличающиеся от него и совершенно новые. Испытуемый должен был определить, видел ли он этот стимул раньше, видел ли похожий, или такого стимула раньше не было. Далее в % анализировалось количество ошибок от максимально возможного по каждому заданию.

После этого проводились 18-канальные регистрации ЭЭГ в состоянии покоя с закрытыми глазами с последующим анализом ЭЭГ-паттернов и когерентным анализом (эпоха анализа 1 мин.) на базе программно-вычислительного комплекса «Нейрокартограф» (МБН, Россия). Сопоставлялись групповые показатели средних уровней Ког (всей частотной полосы ЭЭГ в целом и основных физиологических диапазонов ритмов) между нормой и пациентами, а также между выделенными группами пациентов.

Статистический анализ полученных данных проводился на базе программы SPSS Statistics, и программ для обработки ЭЭГ данных. Применялся непараметрический критерий Вилкоксона — Манна — Уитни: при интерпретации КогЭЭГ данных учитывались наиболее достоверные результаты ( $p < 0,001$ ). При анализе данных АВП различия признавались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Группу контроля составили 19 здоровых испытуемых (ср. возраст  $50 \pm 11$  лет).

### **Результаты.**

Нейропсихологическое тестирование после РТ, сопровождавшейся снижением объёма опухоли ( $p < 0,01$ ), выявило выраженную тенденцию разнонаправленных изменений в оценке зрительного запоминания: в задании «СВ» — к увеличению числа ошибок, наиболее выраженному при компрессии гиппокампа; в задании «У» — к снижению их числа, особенно в группе без компрессии гиппокампа. При этом число ошибок в задании «У» более резко снижалось при правостороннем поражении. Анализ разных типов ошибок в задании «У» показал, что после РТ у пациентов с компрессией гиппокампа число ошибок по типу маркировки новых стимулов, как ранее виденных, значимо нарастало, тогда как число ошибок по типу маркировки старых стимулов в сторону новизны в обеих подгруппах пациентов значимо регрессировало.

Анализ паттернов ЭЭГ. Ранее было установлено, что среди возможных ЭЭГ-маркеров компримирующего воздействия опухоли на гиппокамп можно рассматривать усиление альфа-ритма в зоне проекции опухоли. Приуроченность локализации ЭДИ этой атипичной формы альфа-активности к гиппокампальным структурам позволило условно обозначить её как «гиппокампальный» альфа-ритм [8]. Проведенная РТ в 44 % случаев не выявила существенных изменений ЭЭГ у исследованных пациентов. Также как и до её проведения, не было отмечено очаговой медленной или эпилепти-

ческой активности. Изменения, в основном касающиеся выраженности ирритативных знаков и «гиппокампального» альфа-ритма, могли иметь разнонаправленный характер: их динамика при левостороннем поражении была выражена более отчётливо, по сравнению с правосторонним (27+33 и 7+27). При компрессии гиппокампа, отмечавшейся в долечebном периоде, наиболее типичным было усиление «гиппокампального» альфа-ритма после РТ.

Анализ межцентральных отношений после РТ выявил большую интенсивность их изменений, в виде снижения КогЭЭГ, также при левостороннем поражении. На этом фоне отмечалось повышение Ког в альфа диапазоне в височной области, зоне проекции опухоли (аналог «гиппокампального» альфа-ритма). В целом характер динамики когерентности может свидетельствовать о сдвиге в сторону нормализации межцентральных отношений в результате проведенной РТ.

### **Заключение.**

Нейропсихологическое тестирование после РТ выявило разнонаправленные изменения проанализированных показателей зрительного запоминания («СВ» и «У»). Выраженность этих изменений определялась латерализацией поражения и характером включённости гиппокампа в патологический процесс. Анализ ошибок в задании «У», обнаружил, что после РТ наблюдалось нарастание типов ошибок, нивелирующих фактор новизны в предъявляемых стимулах, и, наоборот, наблюдался регресс ошибок, подчеркивающих фактор новизны. Согласно литературным данным, такая тенденция, когда для оценки двух похожих стимулов требовалась значительно бóльшая степень различий между ними, регистрировалась при снижающемся нейрогенезе в гиппокампе [9].

Выявленное отсутствие существенных изменений в характере ЭЭГ после РТ можно рассматривать в качестве показателя относительной безопасности использованного протокола лучевой терапии. Наблюдаемые нерезкие изменения ЭЭГ по данным как структурного, так и Ког анализа, более отчетливо были выражены при левостороннем поражении. Характер этих изменений строго не коррелировал с динамикой морфометрических показателей опухоли после РТ. В частности, выраженное уменьшение её объёма могло сопровождаться как ослаблением «гиппокампального» альфа-ритма, отражающим уменьшение степени включения гиппокампа в патологический процесс, так и усилением этого ритма. На наш

взгляд, последнее обстоятельство может быть косвенным свидетельством побочного лучевого воздействия на гиппокамп.

Таким образом, настоящее исследование позволило выявить полушарную специфичность реагирования мозга на лучевое воздействие и уточнить функциональные маркеры включенности гиппокампа в этот процесс.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта  
РНФ17–15–01426*

### **Список литературы:**

1. Kazda T., Jancalek R., Pospisil P. et al. Why and how to spare the hippocampus during brain radiotherapy: the developing role of hippocampal avoidance in cranial radiotherapy//Radiation Oncology. 2014. Vol. 9 (139). doi:10.1186/1748–717X-9–139
2. Rogers L., Barani I., Chamberlain M. et al. Meningiomas: knowledge base, treatment outcomes, and uncertainties. A RANO review//J Neurosurg. 2015. 122 (1): 4–23, <https://doi.org/10.3171/2014.7.jns131644>.
3. Mineyeva O. A., Bezriadnov D. V., Kedrov A. V. et al. Radiation induces distinct changes in defined subpopulations of neural stem and progenitor cells in the adult hippocampus//Frontiers in Neuroscience. 2019. Vol. 12. No. 1013. P. 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.01013>
4. Enikolopov G., Overstreet-Wadiche L., Ge S. Viral and transgenic reporters and genetic analysis of adult neurogenesis//Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2015. Vol. 7. No. 8. P. a018804:1–19. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018804>
5. Ярец М. Ю., Шарова Е. В., Галкин М. В. и др. Особенности изменений ЭЭГ при лучевом воздействии у пациентов с менигиомами медиобазальных отделов правого и левого полушарий//XXI международная научно-техническая конференция «Нейроинформатика2019». Сборник научных трудов. Т. 2. М.: МФТИ, 2019. С. 82–90.
6. Heikkinen E.R, Heikkinen M. I., Sotaniemi K. Stereotactic Radiotherapy Instead of Conventional Epilepsy Surgery//Acta Neurochir. 1992. 119:159–160
7. Кроткова О. А., Кулева А. Ю., Галкин М. В. и др. Факторы модуляции памяти при лучевом воздействии на гиппокамп//Современные технологии в медицине. 2021. Т. 13. № 4. С. 6–15. doi 10.17691/stm2021.13.4.01.



8. Болдырева Г.Н. Атипичные формы церебральной альфа-активности при поражении регуляторных структур мозга человека//Физиология человека. 2018. Т. 44. № 3. С. 14—26. doi 10.7868/S0131164618030025.
9. Tolentino J. C., Pirogovsky E., Luu T. et al. The effect of interference on temporal order memory for random and fixed sequences in non-demented older adults. *Learn Mem* 2012; 19 (6): 251—255, <https://doi.org/10.1101/lm.026062.112>.

## **INFLUENCE OF RADIOTHERAPY ON THE BRAIN FUNCTIONAL ACTIVITY IN PATIENTS WITH LATERALIZED LESION OF THE MEDIOBASAL TEMPORAL LOBE REGIONS**

**Kuleva A.Yu.<sup>1</sup>, Boldyreva G. N.<sup>1</sup>, Galkin M.Yu.<sup>2</sup>,  
Sharova E. V., Krotkova O. A.<sup>2</sup>**

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia;  
2 Federal State Autonomous Institution «N. N. Burdenko National Medical Research  
Center of Neurosurgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Moscow, Russia

**Abstract:** The paper analyzes changes in mnemonic functions and EEG in 27 patients with lateralized lesions of the mediobasal temporal lobe, which has a different degree of compressive effect on the hippocampus, after radiotherapy (RT). Comparison of the obtained results with the data of neuroimaging and morphometry made it possible to reveal the hemispheric specificity of brain reactions to radiation exposure and to clarify the functional markers of the involvement of the hippocampus in this process.

**Keywords:** EEG, visual memory, temporal lobe meningioma, hippocampus, radiotherapy.

# ВАЛИДАЦИЯ ПСИХОМОТОРНОГО ТЕСТА С МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЭПИЗОДАМИ ЗАСЫПАНИЯ И ПРОБУЖДЕНИЯ В ДОМАШНИХ УСЛОВИЯХ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-194-199

Манаенков А. Е.<sup>1,2</sup>, Прохоренко Н. О.<sup>2,3</sup>, Дорохов В. Б.<sup>2</sup>

1 Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

2 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

3 РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ

*e-mail: allomulder@gmail.com*

**Аннотация:** Ранее нами был предложен психомоторный бимануальный тэппинг-тест, монотонное выполнение которого в течение 50—60 минут вызывает чередующиеся эпизоды «микросна» и пробуждения [5,6]. Для более полного анализа поведенческих особенностей этого теста нами было разработано мобильное приложение, адаптированное для мобильных устройств на операционной системе Android. Мобильное приложение позволяло испытуемым самостоятельно проводить эксперименты в домашних условиях, что дало возможность получить большой статистический материал для 102 человек, в 494 экспериментах. Подготовка и анализ данных проводились на языке Python и R. Были показаны статистически значимые взаимосвязи между высоким уровнем сонливости и следующими поведенческими показателями: общее число нажатий на кнопки (меньше); количество эпизодов отсутствия нажатий (больше); частота нажатий (ниже); Полученные результаты показывают, что мобильная модификация психомоторного тэппинг-теста достаточно надёжно детектирует эпизоды засыпания и пробуждения и может использоваться для проведения полноценных экспериментальных исследований.

**Ключевые слова:** психомоторный тест, засыпание, пробуждение

## **Введение.**

Как изучать процессы засыпания и пробуждения? Какими методами можно отслеживать процесс перехода между этими состояниями и в чём их относительные преимущества и недостатки?

В 1995 году Casagrande и Bertini [1] оценивали эффективность теста «переключателя мертвеца», задания на время реакции и «пас-

сивный» тэппинг-тест для исследований межполушарной асимметрии при засыпании. В этой работе, а также в более поздней 1997 года [2] они приходят к выводу, что пассивный тэппинг-тест в меньшей степени интерферирует с процессом засыпания и поэтому более удачно подходит для исследований подобных процессов.

В более поздней публикации Prerau et al. [8] был проведен дополнительный анализ подобных подходов, выделив две категории — активные (с предъявлением некоторой стимуляции либо задачи) и пассивные (актиграфия, тэппинг-тест, “переключатель мертвеца”). При этом описываются следующие их недостатки:

- Активные тесты вносят интерференцию в процесс засыпания, затормаживая его и потенциально нарушая экологическую валидность исследования
- Актиграфия неспособна различать спокойное бодрствование и сон
- Тэппинг-тесты и тесты “переключатели мертвеца” систематически недооценивают время засыпания — поведенческая активность завершается раньше, чем человек переходит ко сну

Одной из проблем, от которой страдают многие экспериментальные дисциплины и нейронауки в частности — это недостаток статистической мощности. Кризис воспроизводимости в психологии в том числе атрибутируется именно вот этому критическому недостатку, так как низкая статистическая мощность является мотиватором поиска значимых различий «во что бы то ни стало», как описано у Chambers [4].

Мы разработали модификацию психомоторного теста [5,6], позволяющую проводить амбулаторные исследования в домашних условиях. Это решает сразу две проблемы — позволяет увеличить выборку испытуемых и устраняет эффект первого эксперимента (необходимость адаптации к которому приводит к потере экспериментальных данных). При выполнении этого теста деятельность испытуемого достаточно монотонна, чтобы не слишком интерферировать с процессом засыпания, а также позволяет оценивать тест-ретестовую надёжность исследования ввиду возможности проводить несколько повторных серий.

### **Методика.**

В данном исследовании испытуемые выполняли психомоторный тест, адаптированный нами для использования на смартфонах

с ОС Android, что позволило проводить исследование в домашних условиях. Мобильное приложение было синхронизировано с двумя портативными Bluetooth-кнопками и регистрировало их нажатия в процессе исследования.

До исследования испытуемые указывали свой уровень субъективной сонливости. Во время самого исследования (длительность — 60 минут) испытуемый, лежа с закрытыми глазами должен был считать про себя от 1 до 10 и одновременно нажимать на кнопку, вначале одной рукой, а затем — другой до конца эксперимента, с частотой приблизительно одно нажатие в секунду. Если испытуемый не нажимал на кнопки в течение 2 минут, раздавался звуковой сигнал, который будил испытуемого и исследование продолжалось. По истечении часа исследование автоматически завершалось, и полученные данные о нажатиях отсылались испытуемым на удаленный сервер. Каждый испытуемый должен был пройти 5 серий исследования.

**Испытуемые:** 102 студента медицинского факультета РУДН, 494 эксперимента (76 женщин и 25 мужчин). Средний возраст — 19.7 лет,  $\pm 1.7$ . В анкете большая часть испытуемых указала правую руку как ведущую.

**Анализ данных:** Для подготовки и анализа данных использовалось два языка программирования — Python v3.10.5 и R v4.2.1. При анализе необходимо было учесть скоррелированный и иерархический характер наших наблюдений — активность обеих рук может иметь индивидуальные различия в средних, зависящие от конкретного испытуемого и конкретной серии эксперимента. Чтобы адекватно смоделировать такие данные, мы использовали линейное моделирование со смешанными эффектами с распределениями Гаусса и Пуассона [9].

## Результаты.

Далее по тексту используются следующие символы:  $\beta$  — коэффициент в линейной модели, 95 % CI — 95 %-ый доверительный интервал для  $\beta$ ,  $p$  —  $p$ -значение, по которому оценивается статистическая значимость.

Мы обнаружили ряд статистически значимых ( $\alpha = 0.01$ ) взаимосвязей между субъективным уровнем сонливости и рядом показателей тэппинг-теста. Так, при высоком уровне сонливости уменьшалось общее число нажатий за весь час исследования ( $\beta = -80.44$ , 95 % CI [-114.69, -46.19],  $p < .001$ ), увеличивалось количество эпизо-

дов отсутствия активности — «сна» ( $\beta = 0.13$ , 95 % CI [0.07, 0.19],  $p < .001$ ), а также замедлялась частота нажатий в миллисекундах ( $\beta = 65.74$ , 95 % CI [28.20, 103.28],  $p < .001$ ). Суммарно было проанализировано 7063 эпизодов сна и пробуждения.

Показано, что статистически значимых различий между правой и левой руками по показателям, приведённым выше (общее число нажатий, количество эпизодов «сна», частота нажатий), не обнаружено.

Мы проверили, какая рука последней перестает нажимать на кнопку («засыпает») и первой начинает нажимать на кнопку после кратковременного эпизода «сна» («просыпается»), но также не обнаружили статистически значимых различий. Однако оказалось, что если последней «засыпает» правая рука, то она же «просыпается» первой; то же самое показано и для левой руки. Остальные комбинации рук встречаются статистически значимо реже ( $\beta = -0.14$ , 95 % CI [-0.23, -0.06],  $p < .001$ ).

### **Обсуждение и выводы.**

Обнаруженные нами статистически значимые взаимосвязи с субъективным уровнем сонливости могут свидетельствовать о том, что наш тест действительно может применяться для изучения процессов засыпания и пробуждения. Любопытны результаты, показывающие отсутствие поведенческой асимметрии между руками при засыпании, что противоречит результатам Casagrande и Vertini [4], которые показали, что левое полушарие засыпает раньше, то есть при переходе ко сну правая рука раньше затормаживается — но этот результат согласуется с результатами полученными Tamaki et al [8], обнаружившими эффект межполушарной асимметрии только в период адаптации к лабораторным условиям. Стоит отметить, что все эти результаты были получены на крайне маленьких выборках ( $n < 20$ ), что может свидетельствовать о ложноположительных результатах, вызванных малыми размерами выборок и селективными манипуляциями с данными. Альтернативным объяснением может быть различие в экспериментальной процедуре, поэтому была полезна прямая репликация их исследований с адекватным размером выборки.

Также объяснением может быть существования различных подгрупп испытуемых с разными степенями проявления асимметрии. Наши дальнейшие исследования будут посвящены более индивидуализированному анализу и поиску подгрупп испытуемых,

а также дополнительной валидации и проверке методологических ограничений используемого теста.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского  
научного фонда (проект № 22—28—01769)*

### **Список литературы:**

1. Casagrande M. et al. Which hemisphere falls asleep first?//Neuropsychologia. 1995. № 7 (33). С. 815—822.
2. Casagrande M. et al. A finger-tapping task and a reaction time task as behavioral measures of the transition from wakefulness to sleep: which task interferes less with the sleep onset process//Sleep. 1997. № 4 (20). С. 301—312.
3. Casagrande M., Bertini M. Night-time right hemisphere superiority and daytime left hemisphere superiority: a repatterning of laterality across wake-sleep-wake states//Biological Psychology. 2008. № 3 (77). С. 337—342.
4. Chambers C. The Seven Deadly Sins of Psychology: A Manifesto for Reforming the Culture of Scientific Practice/C. Chambers, Princeton University Press, 2017.
5. Dorokhov V. B. Alpha bursts and K-complex: phasic activation pattern during spontaneous recovery of correct psychomotor performance at different stages of drowsiness//Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova. 2003 Jul-Aug;53 (4):503—12
6. Dorokhov V. B., Tkachenko O. N., Ushakov V. L., Chernorizov A. M. (2021) Neuronal Correlates of Spontaneous Awakening and Recovery of Psychomotor Performance//In: Velichkovsky B. M., Balaban P. M., Ushakov V. L. (eds) Advances in Cognitive Research, Artificial Intelligence and Neuroinformatics. Intercognsci 2020. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 1358. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-71637-0\\_49](https://doi.org/10.1007/978-3-030-71637-0_49)
7. Prerau M. J. et al. Tracking the Sleep Onset Process: An Empirical Model of Behavioral and Physiological Dynamics//PLoS Computational Biology. 2014. № 10 (10). С. e1003866.
8. Tamaki M. et al. Night Watch in One Brain Hemisphere during Sleep Associated with the First-Night Effect in Humans//Current biology: CB. 2016. № 9 (26). С. 1190—1194.
9. Yu Z. et al. Beyond t-test and ANOVA: applications of mixed-effects models for more rigorous statistical analysis in neuroscience research//Neuron. 2022. № 1 (110). С. 21—35.

# VALIDATION OF A PSYCHOMOTOR TEST WITH MULTIPLE EPISODES OF WAKE-SLEEP TRANSITIONING AT HOME ENVIRONMENT

Manaenkov A. E. <sup>1,2</sup>, Prokhorenko N. O. <sup>2,3</sup>, Dorokhov V. B. <sup>2</sup>

1 Moscow State University M. V. Lomonosov, Moscow, Russia

2 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

3 Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

**Abstract:** Previously, we developed a psychomotor bimanual tapping test, the monotonous execution of which in a span of 50—60 minutes causes alternating episodes of “microsleep” and awakening [5,6]. For a more complete analysis of the behavioral features of this test, we have developed a mobile application adapted for mobile devices on the Android operating system. The mobile application allowed the subjects to independently conduct experiments at home environment, which made it possible to obtain a large statistical material for 102 people in 494 experiments. Data preparation and analysis were carried out in Python and R. Statistically significant correlations were shown between a high level of drowsiness and the following behavioral indicators: total number of button taps (less); number of episodes with no clicks (more); tapping frequency (slower). The obtained results show that the mobile modification of the psychomotor tapping test reliably detects episodes of falling asleep and waking up and can be used to conduct full-fledged experimental studies.

**Keywords:** tapping test, wake-sleep transition, sleep-wake transition

## ИНКЛЮЗИВНАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОЦЕДУРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ МЮ-РИТМА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-200-206

Митюрева Д. Г., Бобров П. Д.,  
Ребрейкина А. Б., Сысоева О. В.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*E-mail: dina.mitureva@gmail.com*

**Аннотация:** Исследования свойств мю-ритма при нарушениях развития осложнены двумя методическими проблемами: отсутствием подходящих экспериментальных парадигм и смещением альфа и мю-ритмов при анализе данных ЭЭГ. Целью настоящего исследования является разработка экспериментальной процедуры, подходящей для лиц с трудностями выполнения произвольного задания, и формирование оптимального алгоритма обработки данных с использованием метода независимых компонент (МНК). Спектральные характеристики мю и альфа-ритма были проанализированы в связи с возрастом участников и 4 экспериментальными условиями: пассивное движение (ПД), наблюдение движений (НД), закрытые глаза (ЗГ) и контроль с открытыми глазами (ОГ). Компоненты мю-ритма характеризовались супрессией мощности при ПД и НД и отсутствием различий между условиями с ЗГ и ОГ как в альфа, так и в бета-диапазоне. Частота пика супрессии мю-ритма при ПД повышается с возрастом. Применение МНК позволило с большей точностью, чем при анализе по выбранным отведениям, разделить альфа и мю-ритмы. Разработанная экспериментальная процедура может быть полезна для изучения свойств мю-ритма при нарушениях развития.

**Ключевые слова:** мю-ритм, ЭЭГ, метод независимых компонент, система зеркальных нейронов

### **Введение.**

Мю-ритм — это специфический паттерн мозговой активности, наблюдаемый при помощи ЭЭГ и МЭГ в частотном диапазоне 8—13 Гц и ассоциированный спонтанной ритмической активностью нейронов сенсомоторной коры. Некоторые исследователи



утверждают, что существует высокочастотный компонент мю-ритма, наблюдаемый в бета-диапазоне [3] especially its motor cortex 20-Hz component, provides an illuminating window to the involvement of the human sensorimotor system in the loop that connects action and perception with the environment.”;collection-title”:”Event-Related Dynamics of Brain Oscillations”;container-title”:”Progress in Brain Research”;language”:”en”;note”:”DOI: 10.1016/S0079—6123 (06. Десинхронизация мю-ритма возникает при выполнении, наблюдении и воображении движений [8]. Мю-ритм функционально и топологически ассоциируется с работой СЗН и используется как объективный показатель активности СЗН при изучении разнообразных процессов: от целенаправленных движений до распознавания эмоций. Однако, пригодность данного физиологического показателя в исследованиях СЗН ставится под сомнение некоторыми исследователями ввиду ряда методических проблем [4].

Основной проблемой в исследованиях мю-ритма является его потенциальное смешение с альфа-ритмом в виду идентичного частотного диапазона и проблемы объемной проводимости. В большинстве исследований, опубликованных на данный момент, эта проблема не решается, лишь делается предположение, что активность, считываемая электродами над премоторной корой, относится к мю-ритму, а над зрительной корой к альфа-ритму. Такой подход к анализу данных мог привести к необъективным результатам [4]. Одно из возможных решений этой проблемы — использование метода независимых компонент (МНК) для выделения независимых источников альфа и мю-ритма.

Также в исследованиях мю-ритма зачастую используется активная экспериментальная парадигма с задачами на произвольное движение, имитацию наблюдаемых действий [2, 7]. Подобные экспериментальные процедуры не могут быть использованы для изучения свойств мю-ритма у лиц с трудностями выполнения произвольных заданий. Таким образом, возникает проблема разработки эффективной экспериментальной процедуры для изучения свойств мю-ритма как при типичном, так и при нарушенном развитии.

В задачи настоящего исследования входит апробация новой экспериментальной парадигмы пригодной для исследования свойств мю-ритма у групп с трудностью выполнения произвольных задач, сопоставление результатов, полученных с использованием анализа при помощи МНК и анализа по выбранным отведениям, анализ возрастной динамики мю и альфа-ритмов.

## Методика.

В исследовании приняли участие 51 человек (35 женского пола) в возрасте от 4 до 31 года ( $14.97 \pm 7.54$ ). Выборка участников старше 18 лет составила 19 человек (11 женского пола) в возрасте от 20 до 31 года (23.83). Выборка детей в первой части эксперимента составила 32 человека (24 женского пола) в возрасте от 3 до 16 лет (9.533.4), из них во второй части эксперимента участвовали 19 человек. Все участники имели нормальное или скорректированное до нормального зрение, не имели психических или неврологических заболеваний в анамнезе. Участники или их законные представители заполнили формы информированного согласия. Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом ИВНД и НФ РАН.

Для регистрации ЭЭГ использовался 32-канальный энцефалограф «Neurotravel». Запись проводилась по международной системе 10—20%, референтные электроды — ушные: А1, А2; сопротивление менее 30 кОм. Частота дискретизации записи 500 Гц.

Первая часть эксперимента состояла из блоков пассивного сжатия руки (экспериментатор сжимает кисть руки участника перед его открытыми глазами 15 раз, далее ПД), закрытых глаз (30 секунд, далее ЗГ), которые повторяются 4 раза со сменой сжимаемой руки, и контрольного условия (далее К) — ЭЭГ с открытыми глазами без совершения и наблюдения движений. Вторая часть эксперимента состояла из блоков с демонстрацией видеофрагментов с движениями рук (далее НД), перемежающихся с контрольными стимулами (далее К). Было использовано 3 типа видеофрагментов с движениями рук: манипуляция предметом (игра с ручкой), калейдоскоп (несколько рук изображают различные подвижные узоры) и танец (рука изображает танцующего человека). В качестве контрольных стимулов использовались: статичные узоры и зашумленные динамические видео-стимулы, созданные на основе видеофрагментов с движениями рук. Каждый вид стимулов предъявлялся в случайном порядке по 3 раза, длительность каждого фрагмента — 20 секунд.

Анализ данных ЭЭГ осуществлялся в программе MATLABR2018a. Записи были отфильтрованы в диапазоне 3—40 Гц. Отрезки в 200 мс с выраженными артефактами, превышающими порог в 500 мВ были отброшены. Алгоритм AMICA был использован для декомпозиции записей на независимые компоненты [6]. Данный алгоритм позволяет рассчитывать несколько моделей разложения на компоненты одновременно. В настоящем исследовании использовались варианты с одной или двумя моделями. Вариант с двумя моделями при-

менялся для автоматического исключения артефактов записи. При отсутствии необходимости исключать артефакты данным образом принималось решение использовать вариант с 1 моделью. Далее для каждого из условий была рассчитана спектральная плотность мощности (СПМ) методом Уэлча. Для варианта с двумя моделями МНК СПМ рассчитывалась для эпох, в которых не менее 70 % точек данных объяснялось первой, доминантной моделью. Расчёт СПМ по каналам ЭЭГ проводился для идентичного набора эпох записи, что и при анализе МНК.

Лево (ЛП) и правополушарные (ПП) компоненты мю-ритма и затылочные компоненты альфа-ритма выбирались вручную для каждого участника на основе спектральных характеристик и топографии. Для анализа мю-ритма на уровне каналов использовались каналы С3/С4. Для статистического анализа были рассчитаны следующие параметры: нормализованная мощность в заданном частотном диапазоне, индекс супрессии (логарифм отношения экспериментального условия к контрольному) и частота пика мощности ритма в широком альфа (5—13 Гц) и бета (13—30 Гц) диапазонах. Различия в мощности между экспериментальными и контрольным условиями анализировались при помощи Т-критерия Стьюдента, р-значения были скорректированы по критерию FDR. Анализ, связанный со значениями индекса супрессии и частоты, проводился с использованием непараметрических критериев.

### **Результаты.**

Для выборки взрослых компоненты альфа-ритма характеризовались значимыми различиями в мощности относительно контрольного условия при ЗГ, ПД и НД (К/ЗГ:  $T(18) = -6.28$ ,  $p < 10^{-5}$ ; К/ПД:  $T(18) = 5.94$ ,  $p < 10^{-5}$ ; К/НД:  $T(18) = 4.38$ ,  $p < 0.001$ ). Компоненты мю-ритма как ПП, так и ЛП характеризовались значимой супрессией при ПД и НД и отсутствием значимых различий между К и ЗГ (для ЛП, К/ЗГ:  $T(18) = -0.72$ ,  $p = 0.48$ ; К/ПД:  $T(18) = 5.92$ ,  $p < 10^{-5}$ ; К/НД:  $T(18) = 3.24$ ,  $p < 0.001$ ). Супрессия мю-ритма наблюдалась как в альфа, так и в бета диапазонах (для ЛП, К/ЗГ:  $T(18) = -0.49$ ,  $p = 0.62$ ; К/ПД:  $T(18) = 5.07$ ,  $p < 0.001$ ; К/НД:  $T(18) = 3.55$ ,  $p < 0.01$ ). Для детей в первой части эксперимента компоненты альфа-ритма характеризовались значимыми различиями в мощности относительно контрольного условия при ЗГ и ПД (К/ЗГ:  $T(31) = -10.57$ ,  $p < 10^{-5}$ ; К/ПД:  $T(31) = 5.35$ ,  $p < 10^{-5}$ ). Компоненты мю-ритма характеризовались выраженной супрессией при ПД и отсутствием значимых

различий между контрольным условием и ЗГ как в альфа (для ЛП, К/ЗГ:  $T(31)=-1.74$ ,  $p=0.09$ ; К/ПД:  $T(31)=6.86$ ,  $p<10^{-5}$ ), так и в бета-диапазоне (для ЛП, К/ЗГ:  $T(31)=0.89$ ,  $p=0.37$ ; К/ПД:  $T(31)=6.47$ ,  $p<10^{-5}$ ). Во второй части эксперимента с наблюдением движений компоненты мю-ритма характеризовались значимой супрессией при НД как в альфа (для ЛП,  $T(18)=3.49$ ,  $p<0.01$ ), так и в бета-диапазоне (для ЛП,  $T(18)=4.13$ ,  $p<0.001$ ). В то же время для компонентов альфа-ритма значимой супрессии при НД обнаружено не было ( $T(18)=2$ ,  $p=0.06$ ).

Возрастная динамика альфа-ритма при анализе по компонентам характеризовалась логарифмической зависимостью частоты пика мощности при ЗГ от возраста участников ( $R=0.78$ ,  $p<$ ;  $R^2=0.57$ ). Мю-ритма — линейной зависимостью частоты пика супрессии при ПД от возраста участников, данная зависимость была обнаружена только для левополушарного компонента мю-ритма (ЛП:  $R=0.29$ ,  $p<0.05$ ;  $R^2=0.09$ ). Супрессия мю-ритма при ПД усиливается с возрастом как в альфа, так и в бета-диапазоне (5—13 Гц, ПП:  $R=-0.32$ ,  $p<0.05$ ; ЛП:  $R=-0.28$ ,  $p<0.05$ ; 13—30 Гц, ЛП:  $R=-0.35$ ,  $p<0.05$ ; ПП:  $R=-0.29$ ,  $p<0.05$ ). Таким образом, мощность мю-ритма увеличивается с возрастом. Не было обнаружено связи между выраженностью супрессии мю-ритма при НД и возрастом. Однако, показатели супрессии мю-ритма при ПД и НД значимо коррелируют с поправкой на возраст ( $R=0.63$ ,  $p<10^{-4}$ ), что говорит о том, что данные системы связаны и отражают скорее общий механизм.

При сравнении результатов, полученных путем анализа по компонентам и каналам, было выявлено, что: мощность мю-ритма при ЗГ значимо выше при анализе по каналам (ЛП компонент мю-ритма/С3:  $T(50)=-3.08$ ,  $p<0.05$ ; ПП компонент мю-ритма/С4:  $T(50)=-3.99$ ,  $p<0.001$ ); при анализе мю-ритма по каналам присутствует значимое различие в мощности между контрольным условием и ЗГ (С3:  $T(50)=2.55$ ,  $p<0.05$ ; С4:  $T(50)=2.42$ ,  $p<0.05$ ), в то время как при анализе по компонентам это различие отсутствует (ЛП:  $T(50)=1.69$ ,  $p=0.09$ ; ПП:  $T(50)=1.81$ ,  $p=0.08$ ). Также отсутствует корреляция между частотой пика мощности для альфа и мю-компонент ( $R=0.01$ ,  $p=0.92$ , возраст — ковариативная переменная), что свидетельствует об эффективном разделении альфа и мю-ритмов при помощи МНК.

### **Заключение.**

В настоящем исследовании была разработана экспериментальная процедура, включающая пассивные движения рук (ПД) и на-

блюдение движений (НД). Использование МНК позволило выделить независимые компоненты альфа и мю-ритмов, которые характеризовались специфическими функциональными свойствами. Компоненты альфа-ритма локализовались в затылочных областях и были чувствительны к открытию глаз. Компоненты мю-ритма были локализованы над сенсомоторной корой и показали значительное подавление мощности при ПД и НД и отсутствие разницы в мощности между состояниями с закрытыми и открытыми глазами. Значимая супрессия мю-ритма при ПД и НД также наблюдалась в бета-диапазоне частот.

При анализе возрастной динамики свойств мю и альфа-ритма было выявлено повышение частоты пика мощности альфа-ритма, частоты пика супрессии мю-ритма и выраженности супрессии мю-ритма с возрастом, что соотносится с предыдущими исследованиями [1, 5].

Применение МНК позволило эффективно разделить альфа и мю-ритмы. При анализе по выбранным отведениям мощность мю-ритма при закрытых глазах была значимо выше, что свидетельствует о возможном смещении альфа и мю-ритмов.

В целом, характеристики мю-ритма, полученные с использованием разработанной экспериментальной процедуры, аналогичны таковым для активных экспериментальных процедур, что позволяет заключить, что данная процедура может быть использована для исследования свойств мю-ритма у лиц с трудностями выполнения произвольных задач.

### **Список литературы:**

1. Berchicci M. [идр.]. Development of mu rhythm in infants and pre-school children//Developmental neuroscience. 2011. № 2 (33). С. 130—143.
2. Bernier R., Aaronson B., McPartland J. The role of imitation in the observed heterogeneity in EEG mu rhythm in autism and typical development//Brain and cognition. 2013. № 1 (82). С. 69—75.
3. Hari R. Action–perception connection and the cortical mu rhythm Event-Related Dynamics of Brain Oscillations/подред. C. Neuper, W. Klimesch, Elsevier, 2006. С. 253—260.
4. Hobson H. M., Bishop D. V. The interpretation of mu suppression as an index of mirror neuron activity: past, present and future//Royal Society Open Science. 2017. № 3 (4). С. 160662.
5. Niedermeyer E., Silva F. L. da Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields/E. Niedermeyer, F. L. da Silva, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

6. Palmer J. A., Kreutz-Delgado K., Makeig S. AMICA: An adaptive mixture of independent component analyzers with shared components//Swartz Center for Computational Neuroscience, University of California San Diego, Tech. Rep. 2012.
7. Pfurtscheller G. [и др.]. Mu rhythm (de) synchronization and EEG single-trial classification of different motor imagery tasks//NeuroImage. 2006. № 1 (31). С. 153—159.
8. Pineda J. A. Mirror neuron systems: The role of mirroring processes in social cognition/J. A. Pineda, Springer, 2009.

## **AN INCLUSIVE PARADIGM TO STUDY MU-RHYTHM PROPERTIES**

**Mitiureva D. G., Bobrov P. D., Rebreikina A. B., Sysoeva O. V.**

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** Studying mu-rhythm in developmental disorders is hampered by two problems: the lack of suitable experimental paradigms and existing overlap of mu and alpha-rhythms. The aim of the study was to design an experimental procedure adapted for challenging populations and develop a pipeline for the analysis of mu-rhythm properties with independent component analysis (ICA). The study sample included 51 participants (4—31 y.o.). We analyzed mu and alpha-rhythm spectral characteristics in relation to age and the closed-eye (CE), passive hand movement (PHM), hand movement observation (HMO) and control open-eye (OE) conditions. The mu-rhythm ICA components demonstrate suppression in PHO and HMO and no difference in power between CE and OE conditions. The mu-rhythm frequency increases with age as a suppression in PHM. The beta-band mu-rhythm was also functionally linked to both PHM and HMO. The ICA-algorithm separated mu and alpha-rhythms effectively, with better performance than the channel-wise analysis. The designed experimental paradigm can be used further to study mu-rhythm in challenging populations.

**Keywords:** mu-rhythm, EEG, independent component analysis, mirror neuron system

# ОСЦИЛЛЯЦИИ НЕЙРОНОВ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-207-210

Незвинский А. А.<sup>1</sup>, Белова Е. М.<sup>1</sup>, Гамалея А. А.<sup>2</sup>,  
Томский А. А.<sup>2</sup>, Седов А. С.<sup>1</sup>

1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, Москва, Россия

2 Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

*E-mail: elena.kumskova@gmail.com*

**Аннотация:** Повышенная осцилляторная активность нейронов субталамического ядра — электрофизиологический биомаркер болезни Паркинсона. Роль альфа-осцилляций субталамического ядра в двигательном контроле мало изучена. В работе сравнивалась мощность нейронной активности в покое и при выполнении двигательных тестов, а также соотносилась степень десинхронизации активности с выраженностью двигательных нарушений пациентов с болезнью Паркинсона.

**Ключевые слова:** нейронные осцилляции, брадикинезия, микроэлектродная регистрация, субталамическое ядро, болезнь Паркинсона

## **Введение.**

Стабильная осцилляторная нейронная активность субталамического ядра в бета-диапазоне считается одним из биомаркеров болезни Паркинсона [1]. Применение традиционных методов уменьшения синдромов паркинсонизма, а именно медикаментозное лечение (levodopa) [2] и стимуляция глубоких структур мозга (DBS) [3] снижают такую синхронизацию активности наряду с улучшением состояния пациента. Также известно, что выполнение движений пациентами приводит к краткосрочному изменению степени синхронизации нейронов в STN, что возможно наблюдать как на уровне локальных потенциалов поля (LFP), так и на уровне микроэлект-

родных записей [4]. В настоящее время набирает популярность мнение, что альфа осцилляции (7—12 Гц) в субталамическом ядре также являются важным биомаркером болезни Паркинсона, так как спонтанная альфа активность коррелирует с клиническими проявлениями болезни [5,6]. Особенности изменения альфа осцилляций при выполнении движений пациентами, особенно на микроэлектродном уровне, до сих пор не изучены.

Задачей работы было исследование характеристик локальной синхронизации нейронов субталамического ядра в покое и при выполнении двигательных тестов у пациентов с болезнью Паркинсона.

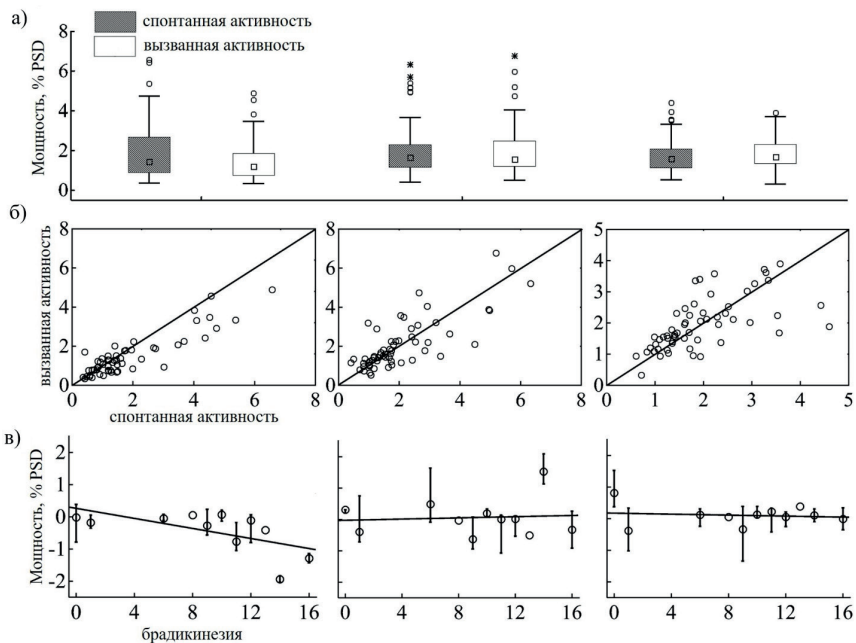
### **Методика.**

Степень двигательных нарушений девяти пациентов в OFF-состоянии оценивалась по шкале UPDRS-III перед проведением операции. Запись нейронной активности субталамического ядра осуществлялась при проведении хирургической операции по стимуляции глубоких структур мозга (deep brain stimulation, DBS) у пациентов с болезнью Паркинсона. Для изучения мощности осцилляций были выбраны 56 записей на глубинах с выраженной ритмической активностью, проводился спектральный анализ методом плотностей спектральных мощностей. Значения PSD рассчитывались для альфа (7—12 Гц), низкого бета (13—20 Гц) и высокого бета (20—30 Гц) диапазонов. Сравнивались мощности осцилляций между интервалами покоя пациента и интервалами выполнения двигательных тестов. Сопоставлялись величины десинхронизации активности при переходе от спонтанной активности к вызванной со степенью двигательных нарушений.

### **Результаты.**

Во время реализации произвольных движений наблюдалось значимое (ранговый тест Уилкоксона,  $p = 0.0005$ ) снижение мощности альфа осцилляций на 9,5% (рис 1 (а)). Наибольшая выраженность десинхронизации альфа-активности наблюдалась на глубинах записи с высокими значениями спонтанной ритмической активности (рис. 1 (б)). Кроме того, мы показали значимую корреляцию ( $r = 0.43$ ,  $p = 0.0009$ ) между амплитудой десинхронизации альфа-ритмов при выполнении движений с выраженностью симптома брадикинезии у исследуемых пациентов (рис. 1 (в)). Различия ритмической низкой и высокой бета активности в покое и при выполнении двигательных тестов, были незначимы (ранговый тест Уилкоксона,  $p > 0.05$ ).





**Рис. 1.** (а) — Сравнение мощности осцилляций в покое и при выполнении движений в трех частотных диапазонах. (б) — Сопоставление мощности спонтанной и вызванной активности на каждой глубине записи. (в) — Зависимость снижения мощности при выполнении движения от выраженности симптома брадикинезии.

## Заключение.

Снижение альфа активности и отсутствие снижения бета активности при выполнении движений указывает на различную роль альфа и бета осцилляций в двигательном контроле. Корреляция между снижением амплитуды альфа осцилляций и выраженностью брадикинезии в контралатеральной руке может указывать на особую роль альфа-осцилляций в нарушениях двигательного контроля.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22—15—00344)*

## Список литературы:

1. Little, S., Pogosyan, A., Kuhn, A. A., & Brown, P. (2012).  $\beta$  band stability over time correlates with Parkinsonian rigidity and bradykinesia. *Experimental neurology*, 236 (2), 383—388.

2. Tinkhauser, G., Pogosyan, A., Tan, H., Herz, D. M., Kühn, A. A., & Brown, P. (2017). Beta burst dynamics in Parkinson's disease OFF and ON dopaminergic medication. *Brain: a journal of neurology*, 140 (11), 2968—2981.
3. Tinkhauser, G., Pogosyan, A., Little, S., Beudel, M., Herz, D. M., Tan, H., & Brown, P. (2017). The modulatory effect of adaptive deep brain stimulation on beta bursts in Parkinson's disease. *Brain: a journal of neurology*, 140 (4), 1053—1067.
4. Marmor, O., Rappel, P., Valsky, D., Bick, A. S., Arkadir, D., Linetsky, E., Peled, O., Tamir, I., Bergman, H., Israel, Z., & Eitan, R. (2020). Movement context modulates neuronal activity in motor and limbic-associative domains of the human parkinsonian subthalamic nucleus. *Neurobiology of disease*, 136, 104716.
5. Neumann W-J., Degen K., Schneider G-H., Brücke C., Huebl J., Brown P., Kühn A. A. Subthalamic synchronized oscillatory activity correlates with motor impairment in patients with Parkinson's disease: Correlation of Subthalamic B Oscillations and PD Symptoms. *MovDisord*. 2016. 31 (11):1748—1751.
6. Belova E. M., Semenova U., Gamaleya A. A., Tomskiy A. A., Sedov A. Is there a single beta oscillation band interfering with movement in Parkinson's disease? *Eur J Neurosci*. 2021. 54 (1):4381—4391.

## OSCILLATIONS OF NEURONS OF THE SUBTHALAMIC NUCLEUS WHEN PERFORMING MOTOR TESTS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

A. A. Nezvinskiy<sup>1</sup>, E. M. Belova<sup>1</sup>, A. A. Gamaleya<sup>2</sup>,  
A. A. Tomskiy<sup>2</sup>, A. S. Sedov<sup>1</sup>

1 Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Science, Moscow, Russia

2 N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, Russia

**Abstract:** Increased neuronal oscillatory activity in subthalamic nucleus is an electrophysiological biomarker of Parkinson's disease. The role of STN alpha oscillations in motor control is poorly studied. In this work we compared neuron oscillation power at rest and during motor test execution, moreover we correlated degree of desynchronization with severity of motor impairment in Parkinson's disease patients.

**Keywords:** neuronal oscillations, bradykinesia, microelectrode recordings, subthalamic nucleus, Parkinson's disease

## СЛУХОВОЙ СТАЦИОНАРНЫЙ ОТВЕТ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ РАЗВИТИЯ ВОСПРИЯТИЯ РЕЧИ В ШУМЕ И РАЗЛИЧИЕНИЯ ЧАСТОТ У ДЕТЕЙ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-211-214

Неклюдова А. К., Сысоева О. В.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*E-mail: anastacia.neklyudova@gmail.com*

**Аннотация:** В работе была изучена связь параметров (амплитуда и латентность) слухового стационарного ответа мозга с восприятием речи в шуме и различением частоты щелчков у нормотипичных детей. Впервые показана связь амплитуды данного ответа с различением частоты щелчков, а латентности — с восприятием речи в шуме, при этом оба параметра увеличивались с возрастом. Таким образом, показатели слухового стационарного ответа могут служить нейрофизиологическим маркерами сложностей восприятия речи и других слуховых стимулов у детей, в том числе с нарушениями развития, что поможет в объективной диагностике и выборе терапии.

**Ключевые слова:** ЭЭГ, слуховой стационарный ответ, восприятие речи в шуме, различение частот

### **Введение.**

Слуховой стационарный ответ (auditorysteady-stateresponse, ASSR) — реакция мозга на предъявление длительного ритмичного стимула (например, последовательности щелчков), которая на ЭЭГ соответствует частоте стимуляции. Чаще всего исследуется ответ на высокочастотную стимуляцию, 40 Гц. В предыдущих исследованиях было показано, что амплитуда 40-Гц ASSR связана с работой NMDA рецепторов на тормозных нейронах [1]. На психологическом уровне данный ответ часто связывают со способностью различать тонкую временную структуру, с восприятием речи. Однако экспериментальных работ подтверждающих этот тезис на удивление мало. Есть одна работа, выполненная на взрослых, в которой было показано, что амплитуда 40-Гц ASSR коррелирует с различением речи в шуме [2], а в другой с детекцией пауз в слуховом потоке [3,4]. В другой работе показано, что при редкой микродупликации

гена SHANK3, исчезает 40-Гц ASSR. В этом случае также проявляются речевые нарушения [5]. Функциональное значение 40-Гц ASSR на группе детей ранее не изучалось.

### **Методика.**

В настоящем исследовании мы изучили связь ASSR с такими функциями как восприятие речи в шуме и различение частоты щелчков у нейротипичных детей. Всего в исследовании приняло участие 83 ребенка (средний возраст =  $10.16 \pm 4.26$ ).

Испытуемые смотрели видео без звука, и одновременно в наушники им предъявлялись последовательности щелчков с частотой 40 Гц длительностью 500 мс и межстимульным интервалом 500—800 мс. Во время стимуляции осуществлялась запись ЭЭГ с помощью 32-канального энцефалографа (система Neurotravel) с частотой дискретизации 500 Гц. Данные ЭЭГ усреднялись по эпохам (200 мс до стимула и 500 после), фильтровались в диапазоне 34—45 Гц, после чего эпохи, превышающие по амплитуде 3 стандартных отклонения, отбрасывались. Далее данные были обработаны с помощью преобразования Гилберта. Амплитуда ASSR считалась как площадь под огибающей, а латентность — время пика в окне 0—500 мс. Следует отметить, что латентность 40-Гц ASSR может рассматриваться как коррелят окна временной суммации, и отражает способность слуховой коры интегрировать информацию во времени [6].

После этого дети выполняли две поведенческие задачи. В первой было необходимо слушать слова в шуме и повторять их после. Ответы расшифровывались двумя независимыми экспертами, и затем для каждого слова было подсчитано расстояние Левенштейна [7] — метрика, используемая в лингвистике для измерения различия между двумя словами. В качестве оценки восприятия слов в шуме было использовано среднее расстояние Левенштейна для всех слов для двух экспертов.

Во второй поведенческой задаче предъявлялись две последовательности щелчков (эталонной частоты и меняющейся), и испытуемому необходимо было ответить, одинаковые ли стимулы или разные. При этом частота второго стимула менялась адаптивно в зависимости от ответа ребенка. Пороговым стимулом считался тот, что был идентифицирован как «идентичный» в четвертый раз, в качестве показателя различения частоты щелчков был принят процент межстимульного интервала порогового стимула от межстимульного интервала эталонного стимула.

## Результаты.

Результаты показали, что амплитуда и латентность ASSR увеличивались с возрастом (амплитуда:  $r=0.42$ ,  $p<0.001$ , латентность:  $r=0.27$ ,  $p=0.01$ ). При этом амплитуда была связана с различением частоты щелчков (парциальная корреляция с возрастом в качестве ковариата:  $r(43)=-0.38$ ,  $p=0.03$ ), а латентность ASSR была связана с восприятием слов в шуме (парциальная корреляция с возрастом в качестве ковариата:  $r=-0.4$ ,  $p=0.02$ ).

## Заключение.

Наше исследование позволило выделить два компонента в слуховом стационарном ответе, возникающем на слуховую стимуляцию щелчками с частотой 40 Гц. Один из них, амплитуда, увеличивался с возрастом (что также было показано в предыдущих работах [5,8]) и коррелировал со способностью различать частоту щелчков. Второй компонент, латентность ASSR, отражающий способность интегрировать информацию во времени, также увеличивался с возрастом и связан со способностью воспринимать речь в шуме.

Результаты данного исследования помогают понять функциональное значение слухового стационарного ответа мозга, а также его роль в развитии слуховой системы. Это, в свою очередь, может пролить свет на причину нарушения восприятия речи у детей с нарушениями развития, так как при многих заболеваниях ASSR оказывается нарушен [5,9].

## Список литературы:

1. Sivarao D. V. et al. 40 Hz auditory steady-state response is a pharmacodynamic biomarker for cortical NMDA receptors//Neuropsychopharmacology. — 2016. — Т. 41. — №. 9. — С. 2232—2240.
2. Ross B., Fujioka T. 40-Hz oscillations underlying perceptual binding in young and older adults//Psychophysiology. — 2016. — Т. 53. — №. 7. — С. 974—990.
3. Ross B., Pantev C. Auditory steady-state responses reveal amplitude modulation gap detection thresholds//The Journal of the Acoustical Society of America. — 2004. — Т. 115. — №. 5. — С. 2193—2206.
4. Kadowaki S., Morimoto T., Okamoto H. Auditory steady state responses elicited by silent gaps embedded within a broadband noise//BMC neuroscience. — 2022. — Т. 23. — №. 1. — С. 1—8.
5. Neklyudova A. K. et al. 40-Hz auditory steady-state response (ASSR) as a biomarker of genetic defects in the SHANK3 gene: A case report of 15-year-old girl with a rare partial SHANK3 Duplication//

- International Journal of Molecular Sciences. — 2021. — T. 22. — №. 4. — C. 1898.
6. Roß B., Picton T.W., Pantev C. Temporal integration in the human auditory cortex as represented by the development of the steady-state magnetic field//Hearing research. — 2002. — T. 165. — №. 1—2. — C. 68—84.
  7. Sanders N. C., Chin S. B. Phonological distance measures//Journal of quantitative linguistics. — 2009. — T. 16. — №. 1. — C. 96—114.
  8. Cho R. Y. et al. Development of sensory gamma oscillations and cross-frequency coupling from childhood to early adulthood//Cerebral cortex. — 2015. — T. 25. — №. 6. — C. 1509—1518.
  9. Seymour R. A. et al. Reduced auditory steady state responses in autism spectrum disorder//Molecular autism. — 2020. — T. 11. — №. 1. — C. 1—13.

## **AUDITORY STEADY-STATE RESPONSE AS AN INDICATOR OF DEVELOPMENT OF SPEECH IN NOISE PERCEPTION AND RATE DISCRIMINATION IN CHILDREN**

**Neklyudova A. K., Sysoeva O. V.**

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** In this work, we investigated the relationship between the parameters (amplitude and latency) of brain auditory steady-state response (ASSR) and speech in noise perception and rate discrimination in typically developed children. The amplitude of this response correlates with rate discrimination, and latency with speech in noise perception, both parameters increase with age. Thus, indicators of auditory steady-state response can serve as neurophysiological markers of difficulties in perceiving speech and other auditory stimuli in children, including those with developmental disorders, which will help in objective diagnosis and choice of therapy.

**Keywords:** EEG, auditory steady-state response, speech in noise perception, rate discrimination

## НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ ПРИ ВВЕДЕНИИ ВАЗОПРЕССИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ БОЛИ У КРЫС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-215-221

Никитина А. А., Белокоскова С. Г., Цикунов С. Г.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия  
*e-mail: doknikitina@yandex.ru*

**Аннотация:** Проблема боли остается актуальной. Установлено вовлечение эндогенных нейропептидов в модуляцию боли. Вместе с тем, количество используемых в клинической практике препаратов пептидной природы остается ограниченным. Аргинин-вазопрессин (АВП) проявляет анальгетические эффекты у человека и грызунов. Нейрохимические механизмы таких эффектов при интраназальном введении пептида не изучены. Показано в модели острой термической боли у крыс, что АВП вызывал доза-зависимое обезболивание при интраназальном введении, что ассоциировалось повышением уровней мозгового нейротрофического фактора в спинном мозге, снижением содержания норадреналина в теменной коре, серотонина в спинном мозге. В модели электростимуляции лап у крыс АВП в разных дозах вызывал анальгезию, что коррелировало с повышением уровней дофамина и снижением уровней 5Н1АА, метаболита 5-НТ, в теменной коре, в спинном мозге — со снижением содержания серотонина. Таким образом, при разных болевых воздействиях вызванное АВП обезболивание реализуется различными нейрохимическими изменениями в мозге.

**Ключевые слова:** вазопрессин, боль, дофамин, серотонин, мозговой нейротрофический фактор

### **Введение.**

В настоящее время боль разного генеза остается важной медико-социальной проблемой. Болевые синдромы являются самой частой причиной обращения за медицинской помощью и временной утраты трудоспособности. Имеющиеся лекарственные средства не в полной мере решают проблему коррекции таких расстройств. В этой связи актуален поиск новых методов терапии боли. При этом значительный интерес представляет интраназальный путь введения препаратов.

Эндогенные нейропептиды вовлечены в модуляцию боли. Важное место среди нейропептидных систем занимает вазопрессинергическая система. Нонапептид аргинин-вазопрессин (АВП), синтезируется в паравентрикулярном (ПВЯ) и супраоптическом ядрах гипоталамуса, в экстрагипоталамических образованиях. Проекции ядер гипоталамуса, содержащие АВП, обнаружены в центральном сером околотовопроводном веществе (ЦСОВВ), большом и заднем ядрах шва ствола мозга, хвостатом ядре и в задних рогах спинного мозга, в структурах, входящих в антиноцицептивную сеть мозга [3]. Показано, что АВП вызывает антиноцицепцию у животных и человека. В модели острой термической боли у грызунов АВП вызывал умеренное обезболивание при системном, центральном или эндOLUMBальном и периферическом введении [4, 10]. У человека АВП при интраназальном введении уменьшал головную боль [11], боль вследствие дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника [1], болей после хирургических вмешательств [8]. Свои эффекты АВП реализует путем активации трех типов рецепторов: V1aR, V1bR и V2R. Роль V1aR и V1bR в модуляции боли хорошо изучена, роль V2R изучена мало. Показано, что аналгезия, связанная с АВП в ПВЯ гипоталамуса и ЦСОВВ, обусловлена активацией V2R [9].

Центральная моноаминергическая система и мозговой нейротрофический фактор (brain derived neurotrophic factor, BDNF) вовлечены в восприятие боли. При болевых воздействиях повышение содержания норадреналина (NE), с еротонина (5-НТ) и дофамина (DA) и BDNF в мозге сопровождается аналгезией [5, 7]. Эффекты агониста V2R, 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина, ДДАВП, при интраназальном введении в моделях острой термической боли и электроболевом воздействии не изучены. Целью работы была оценка влияния ДДАВП при интраназальном введении на температурную чувствительность в тесте термической иммерсии хвоста и восприятие боли при электростимуляции лап у крыс, выявление нейрохимических механизмов эффектов пептида.

Исследование температурной чувствительности выполнено на 38 самцах крыс Вистар в возрасте 4 месяцев с массой тела  $220 \pm 25$  г, из которых было сформировано 4 группы животных: 1 группа включала 10 интактных крыс; 2 группа — 10 животных, получивших физ. раствор; 3 группа — 10 крыс, получивших ДДАВП по 2 нг/сут, 10 нг/курс; 4 группа — 8 животных, получивших ДДАВП по 2 мкг/сут, 10 мкг/курс. Применяли метод термического раздражения кожи хвоста при погружении в горячую воду, на-



гретую до температуры  $52 \pm 0,1^\circ \text{C}$  [2]. Время, в секундах, отдергивания хвоста из воды рассматривалось как порог ноцицептивной чувствительности (ПНР). У каждого животного с использованием 6-кратных измерений определяли средние значения ПНР до и после введения препаратов, оценивали максимальный процент аналгезии (%А).

Исследование чувствительности при электрокожной стимуляции лап проведено на 40 крысах в возрасте 4 месяцев, из которых было сформировано 4 группы: 1 группа включала 10 интактных крыс; 2 группа — 10 животных, получивших физ. раствор; 3 группа — 10 крыс, получивших ДДАВП по 20 нг/сут, 100 нг/курс; 4 группа — 10 животных, получивших ДДАВП по 2 мкг/сут, 10 мкг/курс. Каждое животное помещалось в камеру с полом в виде с медной проволочной решетки, на которую подавались одиночные импульсы электрического тока с силой тока от 0,1 мА с частотой 40 Гц, с длительностью 0,5 с, равномерно увеличивая силу тока по 0,01 мА от электростимулятора ЭСЛ-2. Определяли ПНР по минимальному значению тока, вызывающему реакцию вздрагивания, прижатия тела к полу, отдергивания от пола одной-двух конечностей, побега животного [2]. Каждое животное получало не избегаемое воздействие током в течение 2—3 минут до появления вокализации с силой тока не более 610 мкА. Определяли средние значения ПНР из 3-х измерений до и после введения исследуемых веществ, и максимальный процент аналгезии (%А). Вслед за последним измерением ПНР всех животных подвергали эвтаназии путем декапитации; извлекали головной и спинной мозг с корешками с уровня L1—2. Содержание нейромедиаторов и их метаболитов определяли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, уровни BDNF — методом иммуноферментного анализа. Статистический анализ проводили с использованием дисперсионного анализа. Все экспериментальные процедуры проводили с разрешения Комитета по биомедицинской этике ФГБНУ «ИЭМ».

Полученные результаты представлены в таблице. В тесте тепловой иммерсии хвоста после интраназального введения ДДАВП по 2 мкг/сут, 10 мкг/курс повышался ПНР ( $p = 0,0001$ ), %А составил  $45,5 \pm 3,21\%$ . Вызванная пептидом легкая аналгезия ассоциировалась со снижением содержания NE в теменной коре ( $p = 0,03$ ), в спинном мозге — уровней 5-HT ( $p = 0,04$ ), с повышением уровней BDNF в спинном мозге ( $p = 0,005$ ). Учитывая то, что сенсомоторная кора и спинной мозг обеспечивают восприятие боли и моторную

составляющую болевого поведения, а повышение содержания NE и 5-НТ в мозге ассоциируется с анальгезией и увеличением двигательной активности, эти нейротрансмиттеры не влияли непосредственно на ноцицепцию или сенсорно-дискриминативный компонент боли, но могли снижать двигательную реакцию на термическое воздействие — рефлекс отдергивания хвоста или моторный компонент боли, что вносило вклад в повышение латенции. Поскольку при умеренных болевых воздействиях обезболивание ассоциируется с повышением уровней BDNF в мозге, ассоциация анальгезии, вызванной ДДАВП, и увеличения содержания BDNF спинном мозге свидетельствовала о том, что нейротрофин непосредственно влиял на температурную чувствительность, то есть снижал сенсорно-дискриминативный компонент боли.

В тесте электрокожной стимуляции лап у крыс повышался ПНР после введения ДДАВП в кумулятивных дозах 100 нг/курс и 10 мкг/курс ( $p = 0,04$ ,  $p = 0,0002$ ). % А при введении ДДАВП в малых дозах составил  $40,79 \pm 1,87$  %, в больших —  $66,76 \pm 2,75$  %. Легкая анальгезия при введении пептида по 100 нг/курс ассоциировалось с повышением в теменной коре содержания DA ( $p = 0,028$ ) и снижением уровня 5Н1АА, метаболита 5-НТ ( $p = 0,010$ ). Умеренное обезболивание при введении пептида по 10 мкг/курс коррелировало с увеличением в теменной коре уровня DA ( $p = 0,013$ ); со снижением содержания 5-НТ в спинном мозге ( $p = 0,034$ ). Поскольку повышение уровней DA в мозге коррелирует со снижением боли [7], ассоциация вызванного ДДАВП обезболивания с увеличением уровней DA в теменной коре отражала непосредственное вовлечение нейромедиатора в анальгетические эффекты пептида или сенсорно-дискриминативный компонент восприятия боли. Снижение уровней 5-НТ и его метаболита (5-Н1АА) в мозге могло вносить вклад в снижение моторной реакции на боль.

Впервые показано, что ДДАВП при интраназальном введении вызывает анальгезию в модели острой термической боли и при электростимуляции лап у крыс. При термическом воздействии вызванное пептидом обезболивание носило доза-зависимый характер. В снижение температурной чувствительности в тесте термической иммерсии хвоста вносил вклад BDNF, в редукцию на боль при электроболевом воздействии — DA. При разных видах боли снижение уровней NE и 5-НТ в головном и спинном мозге могло отражать влияние пептида на моторный компонент боли. Таким образом, при разных болевых воздействиях вызванное АВП обезболивание

реализуется различными нейрoхимическими механизмами. В целом выявленные нейрoхимические изменения в мозге отражали комплексное влияние ДДАВП на болевое поведение животных.

Таблица

**Влияние ДДАВП на ноцицептивную чувствительность в тесте термической иммерсии хвоста и электрокожной стимуляции у крыс**

№ п/п	Группы животных	Тест иммерсии хвоста, Сек		Тест электрокожной стимуляции, мА	
		до введения ДДАВП	после введения ДДАВП	до введения ДДАВП	после введения ДДАВП
1	Контроль (n = 10, n = 10)	8,33 ± 1,27	-	360,33 ± 45,9	-
2	Физ. раствор n = 10, n = 10)	8,58 ± 0,83	9,77 ± 0,77	361,33 ± 66,13	394,0 ± 66,36
3	ДДАВП малая доза (n = 10, n = 10)	8,17 ± 0,87	10,18 ± 0,65	349,33 ± 48,45	456,67 ± 53,17*
4	ДДАВП большая доза (n = 8, n = 9)	6,67 ± 0,81	9,79 ± 1,01*	362,33 ± 52,4	522,33 ± 77,32*

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению со значением до введения ДДАВП

**Список литературы:**

1. Белокоскова С. Г., Цикунов С. Г. Эффективность селективного агониста V2 рецепторов вазoпрессина, 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина, ДДАВП, в лечении болевого синдрома у больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника//Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016. — Т. 14, № 3. — С. 58—65.
2. Чайка А. В., Чертаев И. В., Хусаинов Д. Р. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического

- действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах//Ученые записки Крымского Федерального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». 2015. — Т. 1 (67), № 1. — С. 161-173.
3. Honda K, Takano Y. New topics in vasopressin receptors and approach to novel drugs: involvement of vasopressin 1a and V1b receptors in nociceptive responses and morphine-induced effects. *J Pharmacol Sci*. 2009; 109:38—43. DOI: 10.1254/jphs.08r30fm
  4. Manzano-García A., González-Hernández A., Tello-García I. A. et al. The role of peripheral vasopressin 1A and oxytocin receptors on the subcutaneous vasopressin antinociceptive effects. *Eur J Pain*. 2018; 22 (3):511—526. doi: 10.1002/ejp.1134.
  5. Merighi A, Salio C, Ghirri A et al. BDNF as a pain modulator. *Prog Neurobiol*. 2008;85 (3):297—317. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.04.004.
  6. Merighi A. Cross Talk of BDNF and GDNF in Spinal Substantia Gelatinosa (Lamina II): Focus on Circuitry. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1331: 215—229. doi: 10.1007/978—3-030—74046—7.
  7. Millan M. J. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002;66 (6):355—474. doi: 10.1016/s0301—0082 (02)00009—6.
  8. Yang FJ, Ma L, Yang Jet al. Intranasal Vasopressin Relieves Orthopedic Pain After Surgery. *Pain ManagNurs*. 2019;20 (2):126—132. doi: 10.1016/j.pmn.2018.06.001.
  9. Yang J, Chen JM, Liu WY et al. Through V2, not V1 receptor relating to endogenous opiate peptides, arginine vasopressin in periaqueductal gray regulates antinociception in the rat. *Regul Pept*. 2006; 137:156—161. DOI: 10.1016/j.regpep.2006.07.004
  10. Yang J, Chen JM, Song CY et al. Through the central V2, not V1 receptors influencing the endogenous opiate peptide system, arginine vasopressin, not oxytocin in the hypothalamic paraventricular nucleus involves in the antinociception in the rat. *Brain Res*. 2006; 1069:127—138. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.11.045
  11. Yang J, Lu L, Wang HC et al. Effect of intranasal arginine vasopressin on human headache. *Peptides*. 2012;38 (1):100—4. doi: 10.1016/j.peptides.2012.07.029.
  12. Yang J, Yang Y, Chen JM et al Periaqueductal gray knockdown of V2, not V1a and V1b receptor influences nociception in the rat. *Neurosci Res* 2007; 57:104—111. DOI: 10.1016/j.neures.2006.09.011

# NEUROCHEMICAL CHANGES IN THE BRAIN DURING VASOPRESSIN ADMINISTRATION IN DIFFERENT TYPES OF PAIN IN RATS

Nikitina A. A.<sup>1</sup>, Belokoskova S. G.<sup>1</sup>, Tsikunov S. G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine», St-Petersburg, Russia

**Abstract:** The problem of pain remains topical. The involvement of endogenous neuropeptides in pain modulation has been established. At the same time, the number of drugs of peptide nature used in clinical practice remains limited. Arginine vasopressin (AVP) shows analgesic effects in humans and rodents. Neurochemical mechanisms of such effects during intranasal administration of the peptide have not been studied. In a model of acute thermal pain in rats, we showed that AVP caused dose-dependent analgesia when administered intranasally, which was associated with increased levels of brain-derived neurotrophic factor in the spinal cord, decreased levels of noradrenaline in the parietal cortex, and serotonin in the spinal cord. In the model of electric paw stimulation in rats, AVP induced analgesia in different doses, which correlated with increased levels of dopamine and decreased levels of 5HIAA, a metabolite of 5-NT, in the parietal cortex, and in the spinal cord with decreased serotonin content. Thus, under different painful influences, AVP-induced analgesia is realized by different neurochemical changes in the brain.

**Keywords:** vasopressin, pain, dopamine, serotonin, brain-derived neurotrophic factor

# ВЛИЯНИЕ АКТИВНО МИГРИРУЮЩИХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ОПУХОЛИ К ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-222-225

Павлова С. А.<sup>1</sup>, Голанов А. В.<sup>2</sup>, Павлова Г. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: pavlova.sweti@yandex.ru*

**Аннотация:** Известные в настоящий момент подходы к терапии глиобластомы человека имеют ряд серьезных ограничений, что затрудняет лечение и приводит к рецидивам заболевания. Одно из таких ограничений накладывает устойчивость клеток глиобластомы к внешним воздействиям и усиление их миграционных свойств под воздействием лучевой терапии. В данной работе был проведен анализ изменений пролиферативных и миграционных свойств клеточной культуры глиобластомы человека после воздействия облучения. Было показано, что в культурах, выведенных из популяции активно мигрирующих клеток глиобластомы человека, после облучения сохраняется высокий уровень пролиферативной активности, при снижении миграционной активности культуры. Было сделано предположение, что в культурах глиом мигрирующие клетки обладают большей устойчивостью к лучевой терапии, при этом после облучения данные клетки частично теряют способность к миграции с одновременной активацией процессов пролиферации.

**Ключевые слова:** глиома, миграция клеток, облучение, резистентность опухолевых клеток

Существующие в настоящее время подходы терапии глиобластомы человека заключаются в хирургическом удалении опухоли, химиотерапии и лучевой терапии. Однако, клетки глиобластомы человека обладают особой устойчивостью, что ограничивает применение данных методов лечения [1]. Кроме того, есть данные, свидетельствующие об увеличении миграционной активности клеток опухоли после лучевой терапии [2]. Активно мигрирующие клетки глиобластомы человека способны распространяться в окружающие здоровые ткани

мозга и при этом их полное удаление становится невозможным, что приводит к неизбежным рецидивам заболевания [3].

Целью нашей работы было понять, как изменяются пролиферативные и миграционные свойства опухолевых клеток глиомы человека после воздействия лучевой терапии.

Из клеточной культуры глиомы человека G-01, полученной из послеоперационного материала, была выделена популяция активно мигрирующих клеток. Для эксперимента были использованы культуры, выведенные из данной популяции через 2 пассажа после разделения (G-01 CM) и через 8 пассажей (G-01M). При описании результатов экспериментов культура G-01 принимается за контрольную и значения для нее принимаются за 100 %, а для культур G-01 CM и G-01M полученные данные представлены в виде процента от контроля.

В ходе оценки пролиферативной активности полученных культур методом MTS теста наблюдалось повышение значений по сравнению с исходной культурой на 43 % для G-01 CM и на 250 % для G-01M.

При оценке миграционной активности данных культур было выявлено увеличение миграционной способности культур G-01 CM и G-01M по сравнению с исходной культурой G-01. Наиболее выраженное увеличение наблюдается в культуре G-01 CM, уровень миграционной активности которой составляет 473 % от исходной культуры. Для культуры G-01M это значение составляет 158 %.

Все культуры были подвергнуты однократному вертикальному тормозному излучению с номинальной энергией 6 МэВ и мощностью 600 доз/мин на приборе True Veam STx дозой 20 Гр. Исследования проводились через 3 и 7 дней после облучения.

При оценке пролиферативной активности культур G-01 CM и G-01M после облучения было выявлено снижение показателей по сравнению с необлученными культурами с сохранением повышенной пролиферативной активности относительно облученной культуры G-01. На 7 день после облучения в культуре G-01 CM наблюдается продолжение снижения уровня пролиферативной активности по сравнению с необлученными образцами, при этом в культуре G-01M наблюдается рост пролиферации.

При оценке миграционной активности культур после облучения наблюдается снижение показателей в культурах G-01 CM и G-01M по сравнению с необлученными образцами, и сохранение для G-01 CM повышенных значений миграционной активности по сравнению с облученной культурой G-01.

Таким образом, было показано, что в культурах, выведенных из популяции активно мигрирующих клеток, даже после облучения сохраняется высокий уровень пролиферативной активности, но при этом наблюдается снижение их миграционной активности. Исходя из этого можно сделать предположение, что в культурах глиом мигрирующие клетки обладают большей устойчивостью к лучевой терапии, при этом после облучения данные клетки частично теряют способность к миграции с одновременной активацией процессов пролиферации.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, грант № 075—15—2020—809 (13.1902.21.0030)*

### **Список литературы:**

1. Noch, E. K., Ramakrishna, R., & Magge, R. (2018). Challenges in the Treatment of Glioblastoma: Multisystem Mechanisms of Therapeutic Resistance. *World Neurosurgery*, 116, 505—517. doi:10.1016/j.wneu.2018.04.022
2. Moncharmont, C., Levy, A., Guy, J.-B., Falk, A. T., Guilbert, M., Trone, J.-C., Magné, N. (2014). Radiation-enhanced cell migration/invasion process: A review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 92 (2), 133—142. doi:10.1016/j.critrevonc.2014.05.006
3. Lefranc, F., Le Rhun, E., Kiss, R., & Weller, M. (2018). Glioblastoma quo vadis: Will migration and invasiveness reemerge as therapeutic targets? *Cancer Treatment Reviews*, 68, 145—154. doi:10.1016/j.ctrv.2018.06.017

## **INFLUENCE OF ACTIVELY MIGRATING HUMAN GLIOBLASTOMA CELLS ON THE TUMOR RESISTANCE TO RADIATION THERAPY**

**Pavlova S. A.<sup>1</sup>, Golanov A. V.<sup>2</sup>, Pavlova G. V.<sup>1,2</sup>**

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2 Nikolay Nilovich (N. N.) Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery (NMRCN), Moscow, Russia



**Abstract:** Currently known approaches to the treatment of human glioblastoma have a number of serious limitations, which complicates treatment and leads to relapses of the disease. One of these limitations is the resistance of glioblastoma cells to external influences and the enhancement of their migratory properties after exposure to radiation therapy. In this work, we analyzed the changes in the proliferative and migratory properties of human glioblastoma cell culture after exposure to radiation. It was shown that in cultures derived from a population of actively migrating human glioblastoma cells, after irradiation, a high level of proliferative activity is maintained, with a decrease in the migration activity of the culture. It was suggested that migratory cells in cultures of gliomas are more resistant to radiation therapy, while after irradiation these cells partially lose their ability to migrate with simultaneous activation of proliferation processes.

**Keywords:** glioma, cell migration, radiation, tumor cell resistance

# МЭГ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ МЕЖПРИСТУПНЫХ РАЗРЯДОВ И К-КОМПЛЕКСОВ У ПАЦИЕНТА С ЭПИЛЕПСИЕЙ ВО ВРЕМЯ ДНЕВНОГО СНА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-226-230

Полтаржицкая А. Ю.<sup>1</sup>, Клеева Д. Ф.<sup>1</sup>,  
Дорохов В. Б.<sup>2</sup>, Осадчий А.Е.<sup>1</sup>

1 Центр биоэлектрических интерфейсов, НИУ ВШЭ, Москва, Россия

2 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*e-mail: apoltarzhitskaya@hse.ru*

**Аннотация:** Эпилепсия — широко распространенное неврологическое заболевание. Для детектирования эпилептогенной активности часто используются методы нейрокартирования испытуемых во время сна. При этом в случае с генерализованной эпилепсией вариативный вид К-комплексов делает эпилептические спайки трудно распознаваемыми [6]. В данной работе мы предлагаем сравнить эпилептогенную активность с К-комплексами с помощью записи МЭГ у пациента с эпилепсией во время дневного сна. Предварительные результаты показали, что локализация спайков может перекрываться с локализацией К-комплексов, что важно учесть в исследованиях эпилептиформной активности.

**Ключевые слова:** МЭГ, К-комплекс, локализация эпилептогенной зоны, сон

## **Введение.**

Для исследования эпилепсии в качестве неинвазивных методов часто используются электро и магнитоэнцефалография (ЭЭГ и МЭГ). МЭГ представляет собой новый инструмент для локализации и характеристики эпилептиформных нарушений и обладает более высокой точностью при решении обратной задачи и поиске источников, чем ЭЭГ [2,5]. При этом стоит учитывать, что эпилептиформные разряды могут перекрываться с нормальными физиологическими переходными процессами сна, в том числе и с К-комплексами [3]. К-комплексы наблюдаются при нормальном засыпании

во второй фазе сна и могут возникать под воздействием не только внешних, но и внутренних стимулов [1]. Целью данной работы является исследование источников локализаций межприступных разрядов и К-комплексов у пациента во время дневного сна.

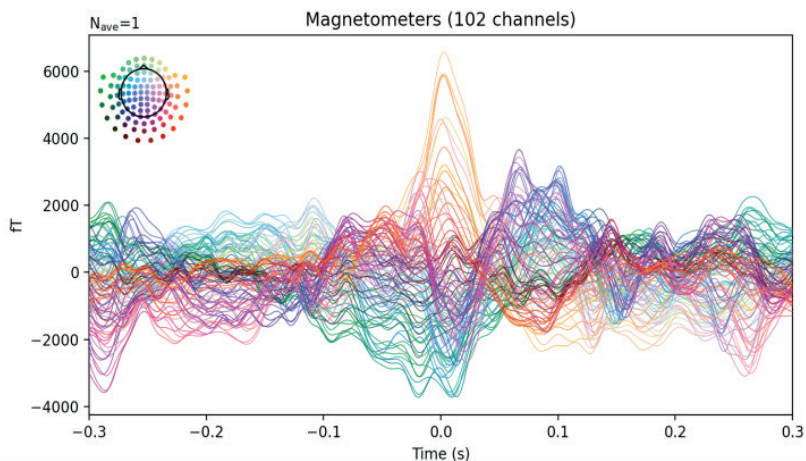
### Методы.

В данной работе для локализации эпилептогенной зоны мы использовали МЭГ данные одного пациента (м) с фармакорезистентной мультифокальной эпилепсией. Запись данных осуществлялась с использованием системы Elekta-Neuromag Vectorview 306 (Финляндия) в Московском МЭГ-центре с помощью 204 планарных градиометров и 102 магнитометров (частота дискретизации 1000 Гц). Длительность записи дневного сна составила 1,5 часа. Первичная обработка данных (удаление глазных и сердечных артефактов) была осуществлена с помощью программного обеспечения MNE-Python (методом независимых компонент ICA), фильтрация данных 0,5—50 Hz.

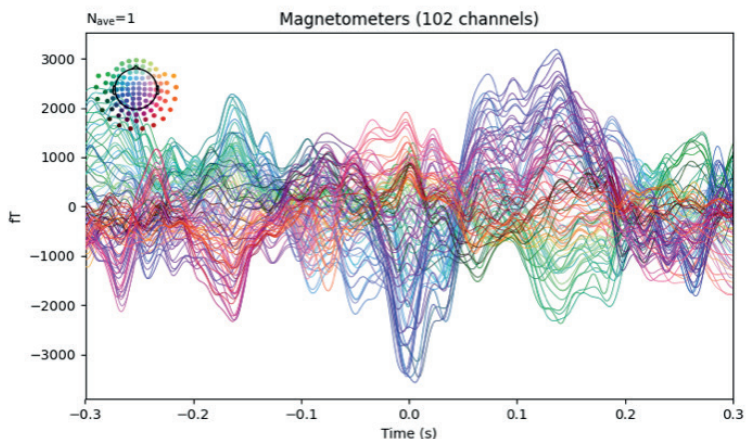
### Результаты.

Интериктальные разряды были выявлены автоматически с помощью метода быстрого параметрического сопоставления кривых (FPCM) [4]. Разметка К-комплексов осуществлялась просмотром всей записи на сенсорах с помощью эксперта.

Примеры единичного разряда и К-комплекса указаны на рисунке 1 (цветом закодировано положение сенсоров, указанное в верхнем левом углу рисунка). Общее число детектированных разрядов — 50, К-комплексов — 30.



A)

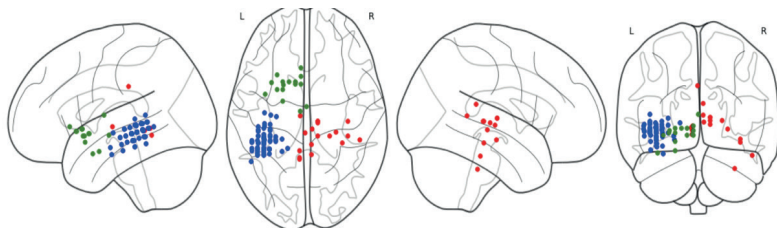


(б)

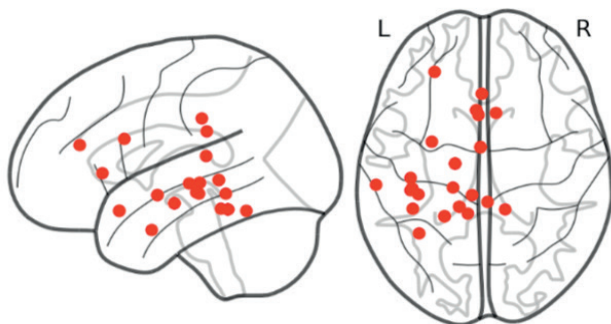
**Рис. 1.** (а) – Активность единичного разряда на магнитометрах  
(б) — Активность единичного К-комплекса на магнитометрах.

Локализация диполей, полученная в двух случаях с помощью решения обратной задачи и использования метода `rap_music` (MNE-Python) представлена на рисунке 2 (а – спайки, б — К-комплексы). Координаты источников разрядов и к-комплексов частично перекрываются в левой височной доле, при этом локализации к-комплексов разбросаны и не формируют единого кластера (в отличие от интериктальные разрядов).

Учитывая, что К-комплексы более выражены во второй стадии сна, при использовании автоматических алгоритмов поиска интериктальных разрядов следует учитывать и фазу сна (например, использовать готовые решения как `Yasa Python` для классификации фаз сна). Полученные результаты требуют дальнейшего исследования и могут стать подтверждением предположению о связи К-комплексов и эпилепсии [7].



а)



(б)

**Рис. 2.** (а) — Локализация интериктальных разрядов  
(б) — Локализация К-комплексов

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22—28—01769).*

### Список литературы:

1. Дорохов В.Б. (2003). Альфа-веретена и К-комплекс — физические активационные паттерны при спонтанном восстановлении нарушений психомоторной деятельности на разных стадиях дремоты. Журнал Высшей Нервной Деятельности им. И.П. Павлова. - 2003, том 53, N4, с.502—511
2. Barkley, G.L., & Baumgartner, C. (2003). MEG and EEG in epilepsy. Journal of clinical neurophysiology, 20 (3), 163—178.
3. Broutian, A. G., Belyakova-Bodina, A. I., Sharkova, S. M., Abramova, A. A., Shalimanova, E. V., & Lukianova, A. A. (2021). Epileptiform K-complexes in Adult Patients with Idiopathic Generalized Epilepsy. Human Physiology, 47 (8), 831—838.
4. Kleeва, D., Soghoyan, G., Komoltsev, I., Sinkin, M., & Ossadtschi, A. (2022). Fast parametric curve matching (FPCM) for automatic spike detection. Journal of Neural Engineering, 19 (3), 036003.
5. Knowlton, R. C., & Shih, J. (2004). Magnetoencephalography in epilepsy. Epilepsia, 45, 61—71.
6. Pan, Y. (2017). Recognition of epileptiform K-complexes in generalized epilepsy: A case report. J. Neurol. Exp. Neurosci, 3 (2), 45—47.
7. Si, Y., Liu, L., Li, Q., Mu, J., Tian, L. Y., Chen, J. N., & Zhou, D. (2010). Features of the K-complex waves in refractory nocturnal frontal lobe epilepsy. Epilepsy research, 92 (2—3), 219—225.

# MEG STUDY OF SPATIAL LOCALIZATION OF INTERICTAL SPIKES AND K-COMPLEXES IN A PATIENT WITH EPILEPSY DURING DAYTIME SLEEP

Paltarzhitskaya A. <sup>1</sup>, Kleeva D. <sup>1</sup>, Dorochoy V<sup>2</sup>, Ossadtchi A. <sup>1</sup>

1 Centre for Bioelectric Interfaces, SRU HSE, Moscow, Russia

2 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** Epilepsy is a widespread neurological disorder. To detect epileptogenic activity, methods of neurocapture of subject brain activity during sleep are often used. However, in the case of generalized epilepsy, the variable appearance of K-complexes makes epileptic spikes difficult to recognize [6]. In this paper, we propose to compare epileptogenic activity with K-complexes using MEG recording in a patient with epilepsy during daytime sleep. Preliminary results have shown that the localization of spikes can overlap with the localization of K-complexes, which is important to consider in studies of epileptiform activity.

**Keywords:** meg, k-complex, localization of the epileptogenic zone, sleep

## СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ SHGDNF-1 И GDNFB КУЛЬТУРЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА, РАЗДЕЛЕННОЙ НА CD133 И L1CAM БОГАТЫЕ И CD133 И L1CAM ОБЕДНЕННЫЕ ПОПУЛЯЦИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-231-233

Паршина В. В., Шамадыкова Д.В, Колесникова В. А.,  
Ревещин А. В., Фаб Л. В., Павлова Г. В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
*E-mail: parshina-v-v@yandex.ru*

**Аннотация:** В ранних исследованиях было показано, что экспрессия новой изоформы shGDNF-1 в головном мозге здоровой взрослой крысы обнаруживается в области субвентрикулярной зоны и предположительно в молодых зрелых нейронах. Известно, что субвентрикулярная зона является зоной локализации нейральных стволовых клеток и областью нейрогенеза. Обнаружение новой изоформы в этой зоне позволило предположить, что shGDNF-1 может быть связан с нейрогенезом. В работе анализировались уровни экспрессии факторов shGDNF-1 и рекомбинантного GDNF в культуре глиомы человека, разделенной на 4 популяции по маркерам стволости *CD133* и *L1CAM*.

**Ключевые слова:** GDNF, глиома, стволовые клетки, *CD133*, *L1CAM*

Глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor — GDNF) — это белок, относящийся к семейству лигандов (GFL), который первоначально был выделен из глиальных клеток крыс. Этот белок принадлежит к большой группе белков, которые называют нейротрофическими факторами. Эти факторы играют чрезвычайно важную роль в обеспечении развития нервной системы в ходе эмбриогенеза, поддержке процесса дифференцировки и способствуют выживаемости различных групп нейронов на протяжении жизни. В норме GDNF синтезируется популяциями нейронов (дофаминовыми нейронами черной субстанции и стриатума, двигательными, чувствительными нейронами и др.) и секретируется паракринно в ряде отделов мозга: коре, гиппокампе, стриатуме, чер-

ной субстраницы, таламусе, мозжечке, спинном мозге. В случаях повреждения мозга повышение экспрессионной активности GDNF наблюдается и у глиальных клеток — астроцитов, микроглии, а так же у макрофагов [1,2]. Было показано, что обнаруженная нами изоформа GDNF — shGDNF-1 в головном мозге здоровой взрослой крысы локализована в субвентрикулярной зоне в NeuN+ и DCX+ клетках. Предположительно, это может быть связано с нейрогенезом происходящим в данной области. Необходимо было оценить вероятность экспрессии shGDNF-1 в нейтральных стволовых клетках. В работе была оценена корреляция между экспрессией маркеров стволовости CD133, L1CAM и экспрессией GDNF или shGDNF-1. Для исследования использовались клеточные культуры глиобластомы человека G-01 обедненные или обогащенные по маркерам CD133, L1CAM.

### **Методика.**

Культура глиобластомы человека G-01 была селективно разделена с использованием CD133 MicroBeadKit и CD171 (L1CAM) MicroBeadKit (MiltenyiBiotec, USA) на 4 культуры по маркерам стволовости CD133 и L1CAM. Популяции клеток были окрашены антителами против shGDNF-1, GDNF, CD133, L1CAM и Nestin. Фотографии окрашенных культур были сделаны на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM-710-NLO (Carl Zeiss Microscopy, Германия).

### **Результаты.**

В ходе работы было показано, что в популяции глиобластомы человека CD133+ изоформа shGDNF-1 преобладает по сравнению с GDNF, в то время как в популяции CD133-изоформа shGDNF-1 не выявлена, в отличие от GDNF, который активно экспрессируется. В популяции L1CAM+ GDNF обнаружен не был, изоформа shGDNF-1 присутствовала. В популяции L1CAM- были обнаружены и обе формы GDNF.

### **Заключение.**

По итогам работы нами было показано, что новая изоформа shGDNF-1 преобладает в популяции опухолевых стволовых клеток глиобластомы человека CD133+, при этом отсутствует в популяции CD133-. В популяции опухолевых стволовых клеток L1CAM+ GDNF не обнаружен. Таким образом, мы наблюдаем существенное отличие характеристик стволовости CD133 и L1CAM в опухолевых клетках глиобластомы и изоформа shGDNF-1 характерна именно для CD133+ стволовых клеток.



### Список литературы:

- 1, Duarte Azevedo M., Sander S., Tenenbaum L. GDNF, A Neuron-Derived Factor Upregulated in Glial Cells during Disease//Journal of clinical medicine. — 2020. — Vol. 9. — №. 2. — P. 456
- 2, Cintrón-Colón A. F. et al. GDNF synthesis, signaling, and retrograde transport in motor neurons//Cell and tissue research. — 2020. — Vol. 382. — №.1. — P. 47—56.

## COMPARISON OF EXPRESSION OF SHGDNF-1 AND GDNF IN A GLIOMA CELL CULTURE DIVIDING INTO CD133-ENRICHED AND CD133-DEPLETED POPULATIONS

Parshina V. V., Shamadykova D. V., Kolesnikova V. A.,  
Revishchin A. V., Fab L. V., Pavlova G. V.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS

**Abstract:** It is shown that tissue localization of the new isoform shGDNF-1 in the brain zones of an adult rat and a 3-day-old rat puppy coincides with NeuN+ and DCX+ cells. The subventricular zone (SVZ) is a main region of adult neurogenesis. The localization of shGDNF-1 may have relation with neurogenesis. In this work, we studied expression of shGDNF-1 and GDNF in a glioma cell culture dividing into CD133-enriched and CD133-depleted population.

**Keywords:** GDNF, stem cells, CD133, L1CAM

# ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-234-240

**Поляниченко А. А., Счастливец Д. В.**

ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем РАН»

*e-mail: alekseipolyanichenko@mail.ru*

**Аннотация:** Длительное функционирование на орбите пилотируемых комплексов сопряжено с необходимостью поддержания высокого уровня работоспособности у членов экипажей, как важнейшего звена в системе «космонавт-космический корабль-среда обитания». Снижение нейрокогнитивных способностей и падение уровня функционального состояния головного мозга увеличивает риск провала миссии и физического причинения вреда экипажу. В связи с этим для комплексных исследований и анализа познавательной способности в космическом полете и факторов, которые угрожают срывом программы полета, требуется набор когнитивных психологических тестов, точных и дающих достоверные результаты.

**Ключевые слова:** электроэнцефалограмма, риски, антиортостатическая гипокинезия, когнитивные тесты.

## **Введение:**

Будущие длительные космические полеты будут намного длиннее, чем текущие стандартные миссии на Международной космической станции (МКС), так, например, в странах-лидерах по освоению космического пространства были поставлены цели полета на Луну и на Марс, где продолжительность путешествия увеличивается примерно до ~ 30 месяцев [1]. Длительные космические полеты будут характеризоваться повышенными физиологическими, экологическими и психосоциальными стрессорами, включая, такие факторы, как невесомость, гипокинезия, гравитационное перераспределение жидких сред организма, изоляция, радиация, повышенный уровень CO<sub>2</sub> и нарушение сна. Все эти факторы неблагоприятно сказываются на когнитивных и поведенческих состояниях, что считается критическим и непреодолимым риском во время таких

миссий [2]. Одной из актуальных проблем космической медицины являются вопросы моделирования физиологических эффектов, свойственных состоянию невесомости. Одним из таких физиологических эффектов является перераспределение жидких сред организма (в частности крови) в верхнюю половину тела. Такой моделью в условиях наземных экспериментах является антиортостатическая гипокинезия (АНОГ), предусматривающая длительное пребывание в постельном режиме с наклоном головного конца туловища. Первое такое исследование с углом наклона в  $-4^\circ$  было проведено в 1970 г. при оценке эффективности комплекса профилактических средств, рекомендованных для первой в мире орбитальной станции «Салют-1». Коллектив авторов [5] изучал особенности активности головного мозга в условиях 60-суточной АНОГ ( $-6^\circ$ ) с физическими упражнениями в качестве контрмеры и без них (2015—2016 гг., Германия), а также долгосрочные эффекты 60-суточной АНОГ ( $-6^\circ$ ) с антиоксидантными/противовоспалительными добавками в качестве контрмеры и без них (2017 г., Франция). Было отмечено, что спектральная мощность электроэнцефалограммы (ЭЭГ) была значительно снижена в дельта-, тета-, альфа- и бета-диапазонах частот. Эти изменения наблюдались вскоре после начала АНОГ (после 24 ч постельного режима), не изменялись на протяжении всего АНОГ и возвращались к исходному уровню после прекращения постельного режима. Поскольку АНОГ является формой сенсорной депривации, его использование в качестве модели для изучения функциональных нарушений и последующего восстановления, возникающих в результате длительного воздействия движения жидкости в направлении головы [6], как модель для изучения таких феноменов АНОГ имеет важное научно-практическое значение.

### **Цель исследования.**

Изучение влияния 21-суточной антиортостатической гипокинезии ( $-6^\circ$ ), моделирующей некоторые физиологические эффекты невесомости, на нейрофизиологические особенности человека-оператора при выполнении сложных динамических задач.

### **Методика.**

Программа эксперимента была утверждена на секции ученого совета и одобрена Комиссией по биомедицинской этике при ГНЦ РФ — ИМБП РАН (протокол № 599 от 06.10.2021 г.). Исследование проводилось с участием 6 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 25—40 лет (рост не более 195 см, вес не более 85 кг), отобранных вра-

чебно-экспертной комиссией ГНЦ РФ — ИМБП РАН. Добровольцы в течение 21-х суток находились в условиях постельного режима с углом наклона головного конца кровати  $-6^\circ$  относительно горизонта. На всех этапах эксперимента — в фоне, на 3, 11, 17, 21 сутки во время самого АНОГ и в последствии проводили регистрацию ЭЭГ до и после предъявлений когнитивных задач «Clever Balls». Запись осуществляли по международной системе 10—20% монополярно от 19 стандартных отведений фронтальных (F), центральных (C), темпоральных (T), париетальных (P) и окципитальных (O) областей обеих гемисфер неокортекса. Для установления индивидуально-типологических особенностей ЭЭГ-паттерна каждого добровольца применяли классификацию Е. А. Жирмунской, позволяющую дать общее качественное описание ЭЭГ картины [3, 4]. В данном исследовании рассчитывали относительные значения мощности (ОЗМ) ЭЭГ-спектра в Дельта-2- (2—4 Гц), Тета- (4—8 Гц), Альфа- (8—13 Гц) и Бета-1- (13—24 Гц) диапазонах для всех отведений.

Для предъявления батареи когнитивных тестов использовалось программное обеспечение «CleverBalls». Пример одного из тестов: На экране предъявляются буквы «Е» и «F», которые распределены по группам чёрного и красного цвета. Пользователю нужно указать цвет группы, в которой присутствует буква, которая не совпадает с другими буквами группы. Т.е. среди букв «Е» присутствует буква «F», а среди букв «F» присутствует буква «Е». Всего последовательно предъявляли три теста.

Вторичный анализ полученных данных проводили методами непараметрической статистики с использованием компьютерной программы STATISTICA 10. Для проверки статистической значимости различий применяли парный Т-критерий Вилкоксона.

## **Результаты.**

Для определения динамики функционального состояния (ФС) мозга во время пребывания в постельном режиме с наклоном головного конца туловища в  $-6^\circ$  провели качественный и количественный анализ индивидуальных паттернов ЭЭГ. Визуальная оценка показала, что у 5 наблюдался организованный во времени и пространстве тип ЭЭГ-паттерна (I-тип по классификации Жирмунской), характеризующийся доминированием альфа-ритма (8—13/с) при амплитудном лобно-затылочном градиенте, низкоамплитудной бета-активностью (5—15 мкВ), а также умеренно выраженной тета- и дельта-активностью; у одного испытуемого отмечен гипер-

синхронный, моноритмичный ЭЭГ-паттерн (Тип II по классификации Жирмунской), характеризующийся высокой степенью регулярности колебаний биопотенциалов с повышенной амплитудой волн ( $\alpha$  — до 100 мкВ,  $\beta$  — до 70 мкВ) (Жирмунская Е. А., 1993). Таким образом, у большинства добровольцев в ЭЭГ-паттерне наиболее выраженной была альфа-активность. В течение всего экспериментального периода не наблюдали смены индивидуально-типологического паттерна ЭЭГ у добровольцев. Количественный анализ ОЗМ исследуемых диапазонов ЭЭГ-спектра до предъявления когнитивных тестов «Clever Balls» для группы добровольцев показал, что для ОЗМ Дельта-диапазона относительно фона наблюдали увеличение во 1, 2, 3 сессиях и в последствии на 23 %, 18,5 %, 17,5 % и 16,6 % соответственно (рисунок 1. А); для ОЗМ Тета-диапазона относительно фона наблюдали увеличение во 1, 2, 3 сессиях и в последствии на 3,5 %, 19 %, 34 % и 1,7 % соответственно (рисунок 1. В); для ОЗМ Альфа-диапазона относительно фона наблюдали уменьшение во 1, 2, 3 и 4 сессиях на 1 %, 7,4 %, 3 % и 1,6 % соответственно, при этом в последствии увеличивалось на 1 % (рисунок 1. Д); для ОЗМ Бета-диапазона относительно фона наблюдали уменьшение во 1, 2 и 3 сессиях на 8,7 %, 5,8 % и 4 % соответственно (рисунок 1. Ж). Количественный анализ ОЗМ исследуемых диапазонов ЭЭГ-спектра после предъявления когнитивных тестов «Clever Balls» для группы добровольцев показал, что для ОЗМ Дельта-диапазона относительно фона наблюдали увеличение во 1, 2, 3 сессиях и в последствии на 50,2 %, 20,3 %, 13,5 % и 16,9 % соответственно (рисунок 1. Б); для ОЗМ Тета-диапазона относительно фона наблюдали увеличение во 1, 3, 4 сессиях и в последствии на 24 %, 17,2 %, 18 % и 21 % соответственно (рисунок 1. Г); для ОЗМ Альфа-диапазона относительно фона наблюдали уменьшение во 1, 2, 3, 4 сессиях и в последствии на 14,7 %, 8,3 %, 6,8 %, 2,1 % и 17,7 % соответственно (рисунок 1. Е); для ОЗМ Бета-диапазона относительно фона наблюдали уменьшение во 1, 2, 3, 4 сессиях и в последствии на 9,7 %, 12,5 %, 10,3 %, 11,7 % и 8,7 % соответственно (рисунок 1. З).

### **Заключение.**

Поскольку тип ЭЭГ-паттерна и его основной ритм не изменялись, можно с уверенностью предположить, что добровольцы хорошо адаптировались к условиям 21-суточной антиортостатической гипокинезии. В течение 21-суточной антиортостатической гипокинезии и в последствии перед выполнением сложных динамических

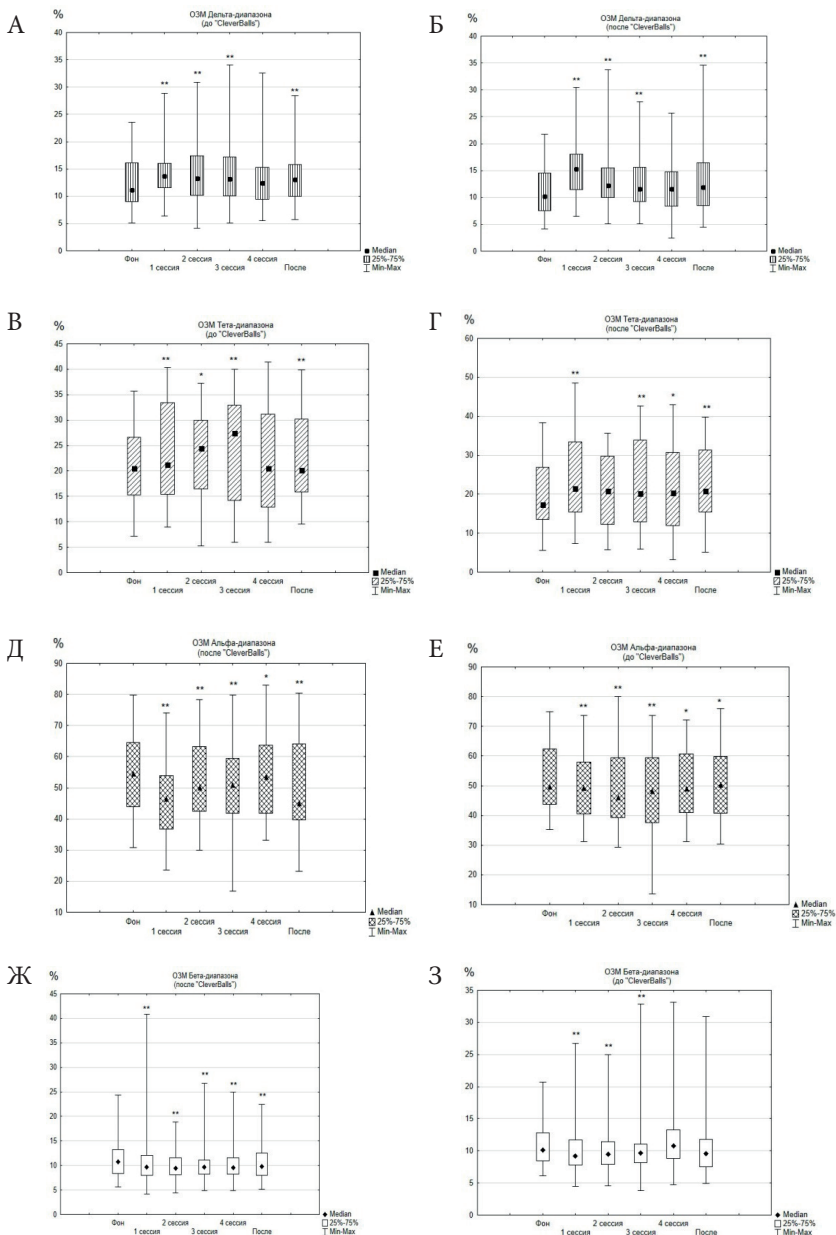
задач наблюдали небольшое, но статистически значимое ( $p \leq 0,05$ ) увеличение медленноволновой (дельта- и тета-) активности и одновременное снижение альфа- и бета-активности. Выявленные тенденции в динамике ЭЭГ-параметров усиливались после выполнения сложных динамических задач, особенно во время острого периода антиортостатической гипокинезии (1 сессия), что свидетельствует об однонаправленности эффекта этих действующих факторов.

Будущие исследования АНОГ с использованием ЭЭГ должны учитывать использование положения лежа на спине ( $-6^\circ$ ) для всех записей, т.е. включая исходный уровень и период восстановления, что дает достаточно времени для адаптации к постуральным изменениям, сводя к минимуму эффекты, связанные со сдвигами жидкости, а также получать связанные с событиями данные связанные с событиями спектральные возмущения для выявления влияния длительного постельного режима на изменения активности головного мозга.

### **Список литературы:**

1. Clément, G. R., Boyle, R. D., George, K. A., Nelson, G. A., Reschke, M. F., Williams, T. J., et al. (2020). Challenges to the central nervous system during human spaceflight missions to Mars. *J. Neurophysiol.* 123, 2037—2063. Clément GR, Boyle RD, George KA, Nelson GA, Reschke MF, Williams TJ, Paloski WH. Challenges to the central nervous system during human spaceflight missions to Mars. *J Neurophysiol.* 2020 May 1;123 (5):2037—2063.
2. McPhee, J., and Charles, J. (2009). *Human Health and Performance Risks of Space Exploration Missions: Evidence Reviewed by the NASA Human Research Program.* Washington, DC: US National Aeronautics and Space Admin.
3. Жирмунская Е. А. Атлас классификации ЭЭГ/М., 1996. 259 с.
4. Жирмунская Е. А., Лосев В. С. Понятие типа в классификации электроэнцефалограмм//*Физиология человека.* 1980. № 6. С. 1039.
5. Brauns K, Friedl-Werner A, Maggioni MA, Gunga HC, Stahn AC. Head-Down Tilt Position, but Not the Duration of Bed Rest Affects Resting State Electro cortical Activity. *Front Physiol.* 2021 Feb 24;12:638669.
6. Pavy-Le Traon, A., Heer, M., Narici, M. V., Rittweger, J., and Vernikos, J. (2007). From space to Earth: advances in human physiology from 20 years of bed rest studies (1986—2006). *Eur. J. Appl. Physiol.* 101, 143—194.

*Работа поддержана темой РАН № 63.2.*



**Рис. 1.** Относительное значение мощностей частотных составляющих (Дельта-, Тета-, Альфа-, Бета-диапазона) до и после предъявления когнитивных задач «Clever Balls».

# INVESTIGATION OF THE NEUROPHYSIOLOGICAL STATUS OF A PERSON UNDER THE INFLUENCE OF ANTIORTHOSTATIC HYPOKINESIA

**Polyanichenko A. A., Schastlivtseva D. V.**

FSBI “State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences”

*e-mail: alekseipolyanichenko@mail.ru*

**Annotation:** Long-term operation of manned complexes in orbit is associated with the need to maintain a high level of efficiency among crew members, as the most important link in the cosmonaut-spacecraft-habitat system. A decrease in neurocognitive abilities and a drop in the level of functional state of the brain increase the risk of mission failure and physical harm to the crew. In this regard, for the comprehensive research and analysis of cognitive ability in space flight and factors that threaten to disrupt the flight program, a set of accurate and reliable cognitive psychological tests is required.

**Keywords:** electroencephalogram, risks, anti-orthostatic hypokinesia, cognitive tests.



## ОНЛАЙН- И ОФФЛАЙН-ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ: ЕСТЬ ЛИ РАЗНИЦА?

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-241-244

Пронина В. М.<sup>1</sup>, Подвигина Д. Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,  
Санкт-Петербург, Россия.

<sup>2</sup> Федеральное государственное учреждение науки Институт физиологии  
им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

*e-mail: vlada\_pronina@inbox.ru*

**Аннотация:** В наше время взаимодействие людей всё чаще осуществляется через онлайн-среды [1]. Однако ранее не проводилось исследований, сравнивающих обратную связь от человека в условиях онлайн и оффлайн взаимодействий с использованием метода вызванных потенциалов. Таким образом, это первое исследование, изучающее биологические основы обработки обратной связи при компьютерно-опосредованном по сравнению с непосредственным взаимодействием между людьми с применением методики регистрации ВП на обратную связь. В работе произведена апробация методики выявления ВП при варьировании формата присутствия агента (онлайн/оффлайн), дающего обратную связь.

**Ключевые слова:** FRN; P300; компьютерно-опосредованное взаимодействие; социальная значимость

Через взаимодействие с другими людьми мы получаем обратную связь, на основании которой мы оцениваем своё собственное поведение и корректируем его в последующем (обучаемся) [2]. Электроэнцефалографические данные обучения на основании обратной связи показывают, что социальное влияние может быть опосредовано системой контроля результатов деятельности [3]. Механизм обучения с подкреплением наилучшим образом объясняет возникновение компонента вызванных потенциалов (ВП), называемого «Негативность Результата Действия» (feedback-related negativity — FRN) [4]. Предполагается, что амплитуды данного ВП зависят от того, насколько испытуемые обеспокоены совершением ошибок, особенно в социальном контексте [5]. Ещё одним ВП, который может измениться при разных форматах взаимодействия

между людьми, является P300, который отображает степень задействования внимания при обработке сигналов — обнаружено, что социальные сигналы сопровождаются бóльшей его амплитудой [6].

В связи с этими данными, мы предположили, что компьютерно-опосредованное взаимодействие, имея меньше социальности, будет менее значимо для испытуемых по сравнению с непосредственным взаимодействием, что может отразиться на обработке обратной связи от агента, который даёт обратную связь, что мы сможем наблюдать через амплитуды вызванных потенциалов FRN и P300.

### **Методика.**

Лабораторный эксперимент с использованием игры с ведущим, дающим обратную связь при личном или опосредованном присутствии, целью которой было выявление правила, которым руководствовался ведущий, давая задание испытуемому. Эта методика позволяет измерить электроэнцефалограмму испытуемого во время отправки ему обратной связи от ведущего посредством компьютера при личном или при онлайн-присутствии ведущего.

В оффлайн-условии присутствия ведущего выборка составила 9 человек (7 женщин, 2 мужчин), а в онлайн-условии присутствия ведущего — 14 человек (7 женщин, 7 мужчин). После окончания игры с ведущим, испытуемые отвечали на вопросы, которые отражали уровень доверия к ведущему, субъективную оценку степени выраженности его присутствия и участия в игре, а также отношение к задаче.

### **Результаты.**

По шкале того, насколько испытуемые опирались на обратную связь от ведущего, применяя t-критерий для независимых выборок, между группами онлайн и оффлайн не было обнаружено различий ( $t=0,9$ ,  $p>0,05$ ), по субъективной шкале оценки степени выраженности присутствия и участия в игре ведущего между группами различия обнаружены не были ( $t=1$ ,  $p>0,05$ ). Это говорит о том, испытуемые из обеих групп одинаково опирались на обратную связь о своей производительности, и ведущий для них был одинаково заметен.

Многофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями выявил значимое влияние типа обратной связи на амплитуду компонента P300 для электродов CP1 ( $F=11,9$ , 1 ст. св.,  $p<0,05$ ) и CP2 ( $F=7,7$ , 1 ст. св.,  $p<0,05$ ). При этом различий в амплитуде этого компонента в зависимости от условия присутствия ведущего,

дающего обратную связь, в этих электродах не обнаружено (для CP1  $F=42,7$ , 1 ст. св.,  $p>0,05$ ), для CP2  $F=65,4$ , 1 ст. св.,  $p>0,05$ ).

Тот же анализ показал различия амплитуд компонента FRN в условии онлайн- и офлайн-присутствия ведущего для электрода FC1 ( $F=4,4$ , 1 ст. св.,  $p<0,05$ ). Для электрода FC2 таких различий обнаружено не было ( $F=1,3$ , 1 ст. св.,  $p>0,05$ ). Значимого влияния типа обратной связи на мониторинг производительности обнаружено не было для электрода FC1 ( $F=1,3$ , 1 ст. св.,  $p>0,05$ ) и FC2 ( $F=1$ , 1 ст. св.,  $p>0,05$ ).

### **Заключение.**

Мы варьировали степень социального присутствия для проверки его воздействия на мониторинг производительности человека. Несмотря на то, что нами не было обнаружено значимых различий между группами в субъективных отчётах о воспринимаемой роли ведущего в исследовании, условия присутствия ведущего, предоставляющего обратную связь, оказали значимое влияние на амплитуду компонентов ВП, регистрируемых в ответ на обратную связь. Большая амплитуда P300 в ответ на положительную обратную связь от ведущего может быть связана как с приятным переживанием, сопровождающим получение положительной обратной связи в условиях задачи с вероятностным исходом, так и с большей релевантностью положительной обратной связи в этой задаче. В нашей работе мы получили значимое влияние формата присутствия человека, дающего обратную связь, на мониторинг производительности испытуемого, который обычно оценивается по характеристикам компонента FRN. Амплитуда этого компонента была больше в условии, когда испытуемый получал обратную связь от ведущего, находящегося рядом, по сравнению с условием, когда ведущий взаимодействовал с участником исследования опосредованно, через Интернет, причем это отмечалось в ответ как на положительную, так и на отрицательную обратную связь.

### **Список литературы:**

1. Meier, J. V., Noel, J. A., & Kaspar, K. Alone together: Computer-mediated communication in leisure time during and after the COVID-19 pandemic//Frontiers in Psychology. — 2021. — Т. 12. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.666655>
2. Ishii C., Katayama J. History of one's own performance modulates evaluative processing of another's action outcomes, but not vice versa//Scientific Reports. — 2022. — Т. 12. — №. 1. — С. 1—8.

3. Chen J. et al. ERP correlates of social conformity in a line judgment task//BMC neuroscience. — 2012. — T. 13. — №. 1. — C. 1—10.
4. Holroyd C.B., Coles M.G.H. The neural basis of human error processing: reinforcement learning, dopamine, and the error-related negativity//Psychological review. — 2002. — T. 109. — №. 4. — C. 679.
5. Hajcak G. et al. Brain potentials associated with expected and unexpected good and bad outcomes//Psychophysiology. — 2005. — T. 42. — №. 2. — C. 161—170.
6. Gu R. Lei, Z., Broster, L., Wu, T., Jiang, Y., and Luo, Y. Beyond valence and magnitude: a flexible evaluative coding system in the brain//Neuropsychologia. — 2011. — T. 49. — №. 14. — C. 3891—3897. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2011.10.006

## ONLINE AND OFFLINE INTERACTION: IS THERE A DIFFERENCE?

Pronina V. M.<sup>1</sup>, Podvigina D. N.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russia.

<sup>2</sup> Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia.

**Abstract:** Nowadays, interaction between people is increasingly taking place through online environments [1]. However, there have been no previous studies comparing human feedback in online and offline interactions using the evoked potential method. Thus, this is the first study investigating the biological basis of feedback processing in computer-mediated versus face-to-face human-to-human interactions using the technique of registering ERP for feedback. In this paper, the methodology for detecting ERP was tested by varying the format of the presence of an agent (online/offline) that gives feedback.

**Keywords:** FRN; P300; computer-mediated interaction; social significance

# МЕТОД ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОВОКАЦИИ» ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА У КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА АЛЬФА-2 АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-245-250

Пупикина М. Е.<sup>1</sup>, Ситникова Е.Ю.<sup>2</sup>

1. ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина»

2. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

*e-mail: mariapupikina@yandex.ru*

**Аннотация:** Пик-волновая активность у крыс линии WAG/Rij, являющаяся признаком абсанс-эпилепсии, находится под контролем модуляторных систем, в частности, норадренэргической системы. Мы проводим селекцию особей с бессимптомным фенотипом –подлинью NEW (NonEpileptic WAG/Rij). Цель данной работы — исследовать проэпилептический эффект селективного агониста альфа2-адренорецепторов (Дексдомитора) у крыс WAG/Rij с симптомным фенотипом крыс бессимптомной подлинью NEW, а также возможности фармакологической провокации эпилептической активности с использованием агониста альфа2-адренорецепторов. Установлено, в ответ на системное введение Дексдомитора резко усиливалась пик-пик-волновая активность у крыс WAG/Rij с эпилептическим фенотипом (вплоть до эпилептического статуса). Дексдомитор не провоцировал пик-волновые разряды у части крыс NEW. Наши данные свидетельствуют о мощном про-эпилептическом действии Дексдомитора у симптомных особей WAG/Rij и о возможности фармакологической провокации пик-волновой активности у особей с латентной формой абсанс-эпилепсии.

**Ключевые слова:** абсанс-эпилепсия, Дексдомитор, норадренэргическая система, крысы WAG/Rij, эпилептический статус.

Некоторые генетически однородные линии мышей и крыс демонстрируют эпилептическую активность на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) и нарушения поведения, сходные с эпилепсией человека [1]. Например, крысы линии WAG/Rij, использующиеся в качестве надёжной генетической модели абсанс-эпилепсии человека

[2,3], демонстрируют пик-волновые разряды на ЭЭГ, которые являются основным диагностическим признаком абсанс-эпилепсии [4,5]. Известно, что пик-волновая эпилептическая активность находится под контролем модуляторных систем, в частности, норадренергической системы [5]. Агонисты альфа2-адренорецепторов многократно усиливают абсанс-эпилепсию у крыс WAG/Rij (например, клонидин [6]). Наши предварительные исследования на крысах WAG/Rij свидетельствуют о необходимости соблюдения крайней осторожности в использовании агонистов альфа2-адренорецепторов клинической практике у пациентов с эпилепсией (к этой группе относятся препараты Клонидин, Дексмететомидин, Гуанфацин, Гуанабенз, Тизанидин и др.). Цель данной работы — исследовать возможность использования препарата Дексдомитор® (дексмететомидин) для провокации эпилептического статуса (абсанс-эпилепсии) у крыс с наследственной предрасположенностью.

С 2016 года мы проводим селекцию бессимптомного фенотипа крыс WAG/Rij и формируем новую подлинию «бессимптомных» крыс NEW, сохраняющей генетическое родство с материнской линией WAG/Rij (NEW — NonEpileptic WAG/Rij). В настоящей работе представлен новый подход к выявлению латентных форм эпилепсии путём «фармакологической провокации», который может служить дополнительным инструментом для диагностики и селекции генетически предрасположенных особей.

### **Методика.**

Регистрацию ЭЭГ у крыс проводили в свободном поведении после вживления эпидуральных электродов. Работа с животными проведена в соответствии с директивой 2010/63/EU и одобрена комиссией по этике ИВНД и НФ РАН (протокол № 4 одобрен 26.10.21).

Имплантация электродов. Стереотаксические операции проводилась под изофлурановым ингаляционным наркозом. Для местной инфильтрационной анестезии мягких тканей использован 2 % раствор лидокаина. Животное помещали в стереотаксический аппарат Корф. После скальпирования и удаления надкостницы в кости черепа были вживлены эпидуральные электроды — минивинты из нержавеющей стали (длина =2.0 мм, диаметр головки =2.0 мм, диаметр резьбы = 0.8 мм). Электроды располагались симметрично в обоих полушариях лобной и париетальной коры. Референтный электрод (минивинт) был размещён над поверхностью мозжечка. Свободные концы электродов прикреплялись к разъёму и поме-

щены в пластиковую трубку диаметром 1 см с внешней резьбой (коннектор для соединения с кабелем). Трубка была зафиксирована на кости черепа с помощью метилметакрилатного мономера. После операции животным вводили внутримышечно инъекции метамизола натрия (ФГНИИ Микроген, Россия, 25 мг/кг) для снятия боли после пробуждения. Животные содержались поодиночке с целью предотвратить повреждение электродов. Период восстановления после стеротаксических операций составит 7—10 дней.

Регистрация ЭЭГ. Была использована установка на базе 8-канальной системы PowerLab 4/35 (ADInstruments, Австралия). Животные размещались в высоких плексигласовых клетках со свободным доступом к воде и пище. Сигнал ЭЭГ был зарегистрирован в полосе частот 0.5—200 Гц с частотой дискретизации 400/с/канал.

Фармакологическая провокация эпилептической активности в остром эксперименте осуществляли путём внутримышечной инъекции агониста альфа-2 адренорецепторов Дексдомитора® (седативное средство, используемое в ветеринарной практике). После введения фарм-препарата ЭЭГ регистрировали в свободном поведении непрерывно в течении суток.

### **Результаты.**

У крыс WAG/Rij с симптомным фенотипом введение Дексдомитора в дозе 0,03 мг/кг вызвало всплеск эпилептической активности. Если в фоне число пик-волновых разрядов в фоне составило от 4 до 52 за 2,5 часа, то после введения Дексдомитора их число увеличилось до 40 до 85 эпизодов за аналогичный период времени ( $F [2;510]=96.6$ ,  $p<0.0001$ ). Укрыс бессимптомной подлины NEW (non-epileptic WAG/Rij) пик-волновые разряды отсутствовали как в фоне, так и под влиянием Дексдомитора.

Общая продолжительность пик-волновых разрядов также увеличилась под действием Дексдомитора. В фоне у крыс WAG/Rijс эпилептическим фенотипом их длительность составляла от 0,42 до 9 мин в час, в то время как под влиянием Дексдомитора увеличилась до 16—48 минут в час. Характерно, что у крыс с симптомным фенотипом введение Дексдомитора провоцировало эпилептический статус. Со 105 минуты записи после инъекции, процент пик-волновых разрядов в каждом пятиминутном интервале превышал 50 % (Рис. 1). Непрерывная эпилептическая активность в таком случае длилась больше 30 минут, что полностью соответствует клиническому определению эпилептического статуса.

### Эффект инъекции дексдомидора (доза 0.03 мг/кг, n=10 крыс)

ANOVA:  $F(58; 510)=4.58, p < 0.0001$

среднее и 0,95 доверительный интервал

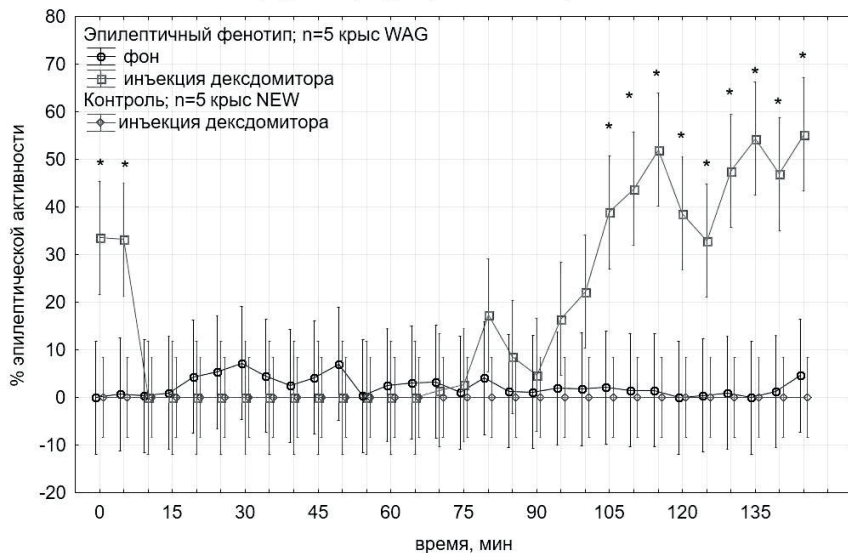


Рисунок 1. Динамика процента пик-волновой активности у крыс WAG/Rij с симптомным (эпилептическим) фенотипом под влиянием Дексдомидора. Дополнительным контролем служили данные, полученные под влиянием дексдомидора у крыс бессимптомной подлины WAG/Rij (NEW—non-epileptic WAG/Rij). Звездочками показаны отличия от контроля по данным post-hoc анализа (Bonferoni test,  $p < 0.05$ ).

### Заключение.

В нашей работе было исследовано влияние системных инъекций дексдомидора (агониста альфа2-адренорецепторов) в дозе 0,03 мг/кг на пик-волновую активность у крыс с генетической предрасположенностью к абсансной эпилепсии. Обнаружено, что дексдомидор 1) значительно усиливал эпилептическую активность у крыс линии WAG/Rij с эпилептическим фенотипом, вплоть до появления эпилептического статуса; 2) не провоцировал пик-волновую активность у части крыс бессимптомной подлины WAG/Rij (NEW).

Результаты данного исследования не являются окончательными, а лишь поднимают вопрос о возможности фармакологической провокации эпилептического статуса и выявления латентных форм абсанс-эпилепсии.



## Список литературы:

1. Szpirer, C. (2020). Rat models of human diseases and related phenotypes: a systematic inventory of the causative genes. *J Biomed Sci.*, 27:84 <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00673-8>
2. Coenen, A.M.L., van Luijtelaar, E.L.J.M. (2003) Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of Rats. *Behav. Genetics*, 33:635—655
3. Russo E, Citraro R, Constanti A, Leo A, Lüttjohann A, van Luijtelaar G, De Sarro G. (2016) Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci Biobehav Rev.* 71:388—408. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.09.017
4. Sitnikova, E. (2021) Sleep Disturbances in Rats With Genetic Pre-disposition to Spike-Wave Epilepsy (WAG/Rij). *Front. Neurol.* 12:766566. doi: 10.3389/fneur.2021.766566
5. van Luijtelaar, G., & van Oijen, G. (2020). Establishing Drug Effects on Electrocorticographic Activity in a Genetic Absence Epilepsy Model: Advances and Pitfalls. *Frontiers in Pharmacology.* 11:395. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00395>
6. Sitnikova, E., & van Luijtelaar, G. (2005). Reduction of adrenergic neurotransmission with clonidine aggravates spike-wave seizures and alters activity in the cortex and the thalamus in WAG/Rij rats. *Brain Research Bulletin* 64 (6):533—540.

## METHOD OF “PHARMACOLOGICAL PROVOCATION” OF STATUS EPILEPTIC IN RATS USING THE AGONIST OF ALFA-2 ADRENORECEPTORS

Pupikina M. E.<sup>1</sup>, Sitnikova E.<sup>2</sup>.

1 Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin

2 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** WAG/Rij rats is a genetic rat model of absence epilepsy, which exhibit spike-wave activity (hallmark of absence epilepsy). Spike-wave epilepsy is known be modulated by the noradrenergic system. We selective breed subjects with an asymptomatic phenotype — the substrain NEW (Non Epileptic WAG/Rij). The aim of this work is to investigate the proepileptic effect of a selective alpha2-adrenoceptor agonist (Dexdomitor) in WAG/Rij rats with a

symptomatic phenotype and asymptomatic NEW rats, as well as the possibility of pharmacological provocation of epileptic activity using an alpha2-adrenoceptor agonist. It was found that systemic administration of Dexdomitor increased epileptic activity (up to epileptic status) in epileptic WAG/Rij rats, but did not cause spike-wave activity in some NEW rats. Our data indicate a powerful pro-epileptic effect of Dexdomitor in symptomatic WAG/Rij rats and the possibility of pharmacological provocation of spike-wave activity in individuals with the latent form of absence epilepsy.

**Keywords:** absence-epilepsy, dexdomitor, noradrenergic system, WAG/Rij rats, epileptic status.

## ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ В ТЕСТАХ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-251-256

Рибик А. А.<sup>1</sup>, Рига В. Д.<sup>1,2</sup>, Смирнов К. С.<sup>1</sup>,  
Сысоева О. В.<sup>1</sup>, Мидзяновская И. С.<sup>1</sup>

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

2 ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России  
*rebik\_anastasiya@mail.ru*

**Аннотация:** Расстройству аутистического спектра (РАС) в клинической практике почти в 40 % случаев сопутствуют эпилептические патологии, что предполагает необходимость поиска модельных животных. Мы впервые проанализировали поведение взрослых самцов линии Крушинского-Молодкиной (КМ, с латентной генетической аудиогенной эпилепсией) в тестах на зоосоциальное взаимодействие. Присутствие социального стимула (незнакомца самца Вистар, тест «социального предпочтения») вызывало повышенную тревожность и сниженную исследовательскую реакцию у КМ: резко укороченное время и сниженное число контактов со стимульным животным, сниженная горизонтальная подвижность, вместе с усиленным коротким грумингом и гипертрофированным замиранием. Подсадка второго стимульного животного (тест «социальной новизны») вызывало сходную поведенческую реакцию у КМ (сниженное время контакта, выраженная реакция замирания). Таким образом, у крыс линии КМ наблюдалась значительно сниженная мотивация к внутривидовому взаимодействию при повышенных реакциях тревоги/страха. Предполагается, что эта линия может служить модельной для исследования механизмов коморбидности РАС и эпилепсии.

**Ключевые слова:** аутичноподобное поведение, линия крыс Крушинского-Молодкиной, поведенческая нейробиология.

### Введение.

Аутизм — это гетерогенное расстройство, в рамках которого встречаются различные поведенческие фенотипы. Предполагается, что в будущем его можно будет классифицировать на отдельные

типы, обладающие определенными физиологическими и генетическими особенностями. Коморбидность аутизма и эпилепсии хорошо установлена и подтверждена многочисленными исследованиями [1]. Существует несколько гипотез, объясняющих эту комплексную патологию, например единые генетические механизмы (синдромы Ретта, ломкой X-хромосомы, Драве и др. [1]; нарушения формирования нейротрансмиттерных систем (преимущественно глутаматергической) [2]. Предполагается, что за обоими заболеваниями могут лежать сходные патологические механизмы.

Исследование линий крыс, генетически предрасположенных к эпилепсии, является многообещающим для появления новых моделей животных с коморбидностью РАС и эпилепсии. Большинство основных исследований, изучающих комплексную патологию эпилепсии и РАС у лабораторных крыс, выполнялись на фармакологических моделях провокаций судорожных припадков (например, инъекции пилокарпина), что ставит вопрос о побочных эффектах воздействия самого химического агента. Предпочтительно использование моделей с наследственной природой заболевания, что позволяет исследовать механизмы патологии без привнесенных изменений.

На основании предварительно полученных данных мы предположили повышенную вероятность аутичноподобных изменений в социальном поведении крыс с генетически детерминированной эпилепсией и изучили особенности поведения крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) в тестах на зоосоциальное взаимодействие. Данная линия инбредна, характеризуется генетически детерминированной аудиогенной эпилепсией, и является одной из старейших животных моделей конвульсивных эпилепсий человека. Здоровым контролем в настоящем исследовании служили крысы линии Вистар, как представители материнской линии для крыс КМ.

### **Методы.**

В исследовании мы использовали взрослых самцов линии КМ (N=12) и линии Вистар (N=16) в возрасте от 4 до 6 месяцев и массой 250—400 г. Животные поступили в виварий ИВНД и НФ РАН в возрасте 6—8 недель. Крыс содержали по 4—6 особей в клетке со свободным доступом к пище и воде. Все животные, включенные в эксперимент, были интактны.

Для оценки зоосоциального взаимодействия нами был выбран трехкамерный тест на социальное предпочтение/социальную но-

визну. Подопытное животное помещали в экспериментальную камеру, разделенную на три отсека с возможностью свободного перемещения между отсеками. Крайние секции содержали пустую клетку или клетку со стимульным животным того же пола и возраста. В соответствии с выбором тестируемой крысы (приблизиться к клетке с незнакомого особью или двигаться в сторону пустых отсеков) можно количественно оценить предрасположенность тестируемого животного к зоосоциальному взаимодействию или, наоборот, его безразличие к присутствию стимульного животного или даже доминирование реакции избегания [3]. Под контактом подразумевалось нахождение головы свободноподвижного животного на расстоянии меньше, чем 2 см от клетки стимульного животного. Для трекинга подвижности крыс использовалось программное обеспечение ToxTrac (алгоритм ToxId (Ssi.Rep.)). Автоматически производились следующие измерения: время проведенного в определенных зонах, длина пути, расстояние, пройденное в определенных зонах, количество и длительность эпизодов замирания [3]. Соотношение времени, проведенного свободноподвижной крысой в отсеках камеры, рассчитывались по автоматически определяемым величинам. С помощью экспертной оценки регистрировались: время контакта; вертикальные стойки; короткий и полный груминг; подсчитаны дефекации и уринации (если таковые были).

Перед проведением поведенческого теста проводилась адаптация, во время которой животным разрешалось исследовать пространство экспериментальной установки в течение 20—30 минут при отсутствии стимульных крыс. После каждого сеанса поверхности установок очищались 50 % спиртовым раствором. Крыс, служивших в качестве социальных стимулов, адаптировали к используемым клеткам в течение 30—60 минут перед началом тестирований.

Основным методом оценки достоверности между экспериментальной и контрольной группами был U-критерий Манна-Уитни. Данный критерий был выбран, так как полученные данные отклоняются от нормального распределения. Для статистической обработки использовалась библиотека SciPy для языка программирования Python.

### **Результаты и обсуждение.**

Ранее результаты тестов на зоосоциальное поведение у крыс линии КМ не публиковались. Главное, что мы можем отметить, это достоверно сниженное в несколько раз время ( $p < 0.001$ ) и количе-

ство ( $p < 0.001$ ) контактов между самцами КМ и стимульными животными. Уменьшение показателей социального взаимодействия сопровождалось удлинёнными в несколько раз эпизодами замирания ( $p < 0.05$ ). Группа КМ достоверно проводила меньше времени в отсеке со стимульным животным ( $p < 0.01$ ) и более длительно находилась в отсеке с пустой клеткой ( $p < 0.01$ ; индексы предпочтения (Т стимул/Т пуст) отсека с социальным стимулом были достоверно ниже ( $p < 0.01$ ) для группы крыс КМ). Предпочтение отсека с пустой клеткой показывает не только социальное избегание тесного контакта со стимульной крысой, но и пространственное избегание незнакомого животного.

В тесте на социальную новизну, при добавлении второго стимульного животного, группа КМ продемонстрировала сходное поведение: кратно укороченное (по сравнению с контролем) время контакта ( $p < 0.001$ ) и пролонгированное замирание ( $p < 0.001$ ). Крысы КМ чаще контрольных ( $p < 0.01$ ) выбирали промежуточный отсек, остававшийся свободным от других крыс. Увеличенное время замирания и уменьшенное количество вертикальных стоек ( $p < 0.001$ ) говорит об усугублении реакции тревожности/страха при появлении нового социального стимула. Сниженный индекс социального предпочтения ( $(p < 0.05)$ ;  $(Т\ стимул_1 + Т\ стимул_2) / Т\ промежуточный\ отсек$ ) показывает отсутствие интереса к социальным стимулам. Полученные данные в этом тесте также свидетельствуют в пользу предположения о дефиците социальной мотивации и наличии пространственного избегания стимульных животных.

Необходимо отметить, что у крыс линии КМ обычно наблюдается сниженная локомоторная активность и повышенный уровень тревожности, что мы смогли подтвердить также в тесте «крестообразный приподнятый лабиринт». Эти данные согласуются полученными ранее другими исследователями [5]. В наших экспериментах длина траектории ( $p < 0.001$ ) и вертикальные стойки ( $p < 0.001$ ) достоверно снижены по сравнению с контрольной группой. Время, проведенное в открытых рукавах, достоверно меньше у группы крыс КМ ( $p < 0.01$ ). Сниженный исследовательский интерес подтверждается уменьшенным количеством посещений всех рукавов ( $p < 0.01$ ). Признаки повышенной тревожности проявлялись в виде более частых эпизодов короткого груминга ( $p < 0.001$ ) и замираний ( $p < 0.001$ ). Помимо короткого груминга и замираний, на повышенный уровень тревожности указывает значимо сниженное количество посещений открытых рукавов ( $p < 0.005$ ) крестообразного лабиринта.

Примечательно, что эти аутичноподобные особенности крыс КМ в тестах на зоосоциальное взаимодействие не сопровождались проявлениями гиперактивности, характерными для некоторых других моделей коморбидности РАС и эпилепсии (например, для вальпроатной модели). Таким образом, мы можем предположить, что крысы линии КМ могут служить моделью для изучения механизмов РАС с коморбидной латентной эпилепсией и без сопутствующих признаков СДВГ.

### Список литературы:

1. Кузьмич Г. В., Синельникова А. Н. Коморбидность аутизма и эпилепсии. Взгляд с точки зрения онтогенеза. *Русский журнал детской неврологии* 2018;13 (4):40—52 DOI: 10.17650/2073—8803—2018—13—4-40—52
2. Anashkina A. A., Erlykina E. I. Molecular mechanisms of aberrant neuroplasticity in autism spectrum disorders (review). *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2021; 13 (1): 78—92, <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.1.10>
3. Crawley J. N, What's Wrong with My Mouse? Behavioral Phenotyping of Transgenic and Knockout Mice, John Wiley and Sons, —2000—329 pp ISBN: 978—0-471—47192—9
4. Rodriquez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P. L. and Andersson, M. ToxTrac: a fast and robust software for tracking organisms. *Methods in Ecology and Evolution*. 2018; 9 (3):460—464. DOI:10.1111/2041—210X.12874.
5. Surina N. M., Poletaeva I. I., Fedotova I. B., Kalinina T. S., Volkova A. V., Malikova L. A., Rayevsky K. S. Anxiety and predisposition to audiogenic epilepsy in rats of different genotypes *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2011. T. 151. № 1. С. 47—50.
6. Fereshetyan, K., Chavushyan, V., Danielyan, M. et al. Assessment of behavioral, morphological and electrophysiological changes in prenatal and postnatal valproate induced rat models of autism spectrum disorder. *Sci Rep* 11, 23471 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598—021—02994—6>
7. Meng Y, Xu D, Zhang W, Meng W, Lan X, Wang X, Li M, Zhang X, Zhao Y, Yang H, Zhang R, Zhen Z. Effect of Early Swimming on the Behavior and Striatal Transcriptome of the Shank3 Knockout Rat Model of Autism. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2022 Mar 31;18:681—694. doi:10.2147/NDT.S357338. PMID: 35387206; PMCID: PMC8979754.
8. Gilby KL. A new rat model for vulnerability to epilepsy and autism spectrum disorders. *Epilepsia*. 2008 Nov;49 Suppl 8:108—10. doi:10.1111/j.1528—1167.2008.01851.x. PMID: 19049604.

# BEHAVIORAL FEATURES OF KRUSHINSKY-MOLODKINA RATS IN TESTS OF ZOOSOCIAL INTERACTION

Rebik A. A. <sup>1</sup>, Riga V. D. <sup>1,2</sup>, Smirnov K. S. <sup>1</sup>, Sysoeva O. V. <sup>1</sup>,  
Midzyanovskaya I. S. <sup>1</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS

2 Pirogov Russian National Research Medical University

**Annotation:** Autism spectrum disorder (ASD) in clinical practice is comorbid with epilepsy in almost 40 % of cases, which implies the need to search for model animals. We analyzed the behavior of adult males of the KM line (with latent genetic audiogenic epilepsy) in tests for zoosocial interaction. The presence of a social stimulus (an unfamiliar male Wistar, a test of “social preference”) caused increased anxiety and reduced research response in KM: sharply shortened time and reduced number of contacts with the stimulus animal, reduced horizontal locomotion, along with enhanced short grooming and freezing. The introduction of the second (new) stimulus animal (the “social novelty” test) caused the same behavioral reaction in KM (reduced contact time, pronounced freezing). Thus, KM strain demonstrated a sharply reduced motivation for zoosocial interaction, accompanied by anxiety/fear reactions. It is assumed that this strain can serve as a model for comorbid ASD and epilepsy.

**Keywords:** autistic-like behavior, Krushinsky-Molodkina rat line, behavioral neurobiology



# УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ВОКАЛИЗАЦИЯ КАК МАРКЕР НАРУШЕНИЙ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У КРЫС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-257-261

Рига В. Д.<sup>1,2</sup>, Ребик А. А.<sup>1</sup>, Смирнов К. С.<sup>1</sup>,  
Сысоева О. В.<sup>1</sup>, Мидзяновская И. С.<sup>1</sup>

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

2 ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России

*slavariga@bk.ru*

**Аннотация:** Особенности ультразвуковой коммуникации изучались в тестах зоосоциального взаимодействия на крысах линии КМ (с латентной эпилепсией и предполагаемыми зоосоциальными дефицитами) и нормотипичных животных (крыс материнской линии Вистар). В тестах «социального предпочтения»/«социальной новизны» крысы линии КМ демонстрировали сниженное число и длительность контактов со стимульными животными, что сопровождалось аверсивной 22 кГц вокализацией. Число и продолжительность аверсивных вокализаций отрицательно коррелировала с временем контактов ( $p < 0.05$ ) и положительно коррелировала с длительностью реакции замирания ( $p < 0.05$ ). В контрольной группе преобладала высокочастотная (35—70 КГц) сильно модулированная вокализация, короткой продолжительности (10—150 мс), ассоциируемая с «положительным аффектом». Суммарная продолжительность и число вокализаций этого типа положительно коррелировала со временем контакта со стимульными животными ( $p < 0.05$ ). Таким образом, ультразвуковая вокализация может служить объективным показателем для оценки особенностей зоосоциального поведения.

**Ключевые слова:** ультразвуковая вокализация, зоосоциальное взаимодействие.

## Введение.

В настоящее время практически единственным экспериментальным методом оценки возможных коммуникативных дефицитов в животных моделях расстройств аутистического спектра (РАС) являются тесты на зоосоциальное взаимодействие в нескольких

модификациях. Количественными измерениями взаимодействия обычно служат время нахождения свободноподвижного подопытного животного в зоне клетки со стимульным животным и время непосредственного контакта. Мы использовали трехкамерный тест на «социальное предпочтение» и «социальную новизну» для исследования возможных особенностей ультразвуковой вокализации, сопровождающей взаимодействие животных в эксперименте.

Для взрослых крыс характерны две категории ультразвуковых сигналов: «вокализации негативного аффекта» (длительные, с частотой около 22 кГц, являются важной частью защитного поведенческого репертуара крыс и значимым элементом коммуникации, описываемым как “сигнал тревоги”) и «вокализации позитивного аффекта» (с частотой 50 кГц, сопровождающие игру, социальное взаимодействие и обнаружение пищевого подкрепления). Роль вокализаций заключается в транслировании эмоционального состояния животного остальным членам социальной группы, что является эволюционно древним механизмом, характерным для позвоночных [2,3].

На базе имеющихся данных поведенческих методик мы предположили наличие симптомов РАС у крыс КМ, для объективизации данной гипотезы мы использовали метод оценки ультразвуковой вокализации в тестах на социальное предпочтение.

Мы предположили наличие дефицитов коммуникации у крыс линии КМ, предполагаемой животной модели коморбидности РАС и эпилепсии (Ребик и соавт, настоящий сборник). Метод оценки ультразвуковой вокализации в тестах на социальное предпочтение использовался для получения объективных параметров оценки зоосоциального взаимодействия.

### **Методы.**

В исследовании мы использовали взрослых самцов линии КМ (N=11) и линии Вистар (N=8) в возрасте от 4 до 6 месяцев и массой 250—400 г. Животные поступили в виварий ИВНД и НФ РАН в возрасте 6—8 недель. Крыс содержали по 4—6 особей в клетке со свободным доступом к пище и воде. Все животные, включенные в эксперимент, были физически и фармакологически интактны.

Для оценки зоосоциального взаимодействия нами был избран стандартный трехкамерный тест на социальное предпочтение [4]. В экспериментальную камеру, состоящую из трех отсеков, с возможностью свободного перемещения между каждым, помещалось испытуемое животное. В периферических отсеках содержалось сна-

чала одно (тест «социальное предпочтение»), затем два (тест «социальная новизна») стимульных животных. Пол и возраст всех животных был одинаков.

Парадигма, описывающая тенденцию к зоосоциальному взаимодействию, заключается в количественной оценке выбора тестируемой крысой определенного отсека и суммы взаимодействий внутри него (количество и продолжительность контактов со стимульным животным), и также число и длительность короткого и длинного грумминга, вертикальных стоек. Эксплицитное поведение оценивалось по видеозаписям экспертами. Определяющим для данного эксперимента был метод параллельного детектирования вокализаций, для их регистрации использовался комплект с ультразвуковым (УЗ) микрофоном “Sonotrack” от Metris. Анализ ультразвуковых сигналов был реализован с помощью нейросети DeepSqueak на базе MatLab [5]. УЗ регистрировали в течение всего времени тестирования (10 минут). Были определены количество и продолжительность 22 кГц (от 0,5 до 5 с) и количество средне- и высокочастотных (35—70 кГц) вокализаций (рис. 1), описываемых в литературе как «вокализации позитивного и негативного аффектов».

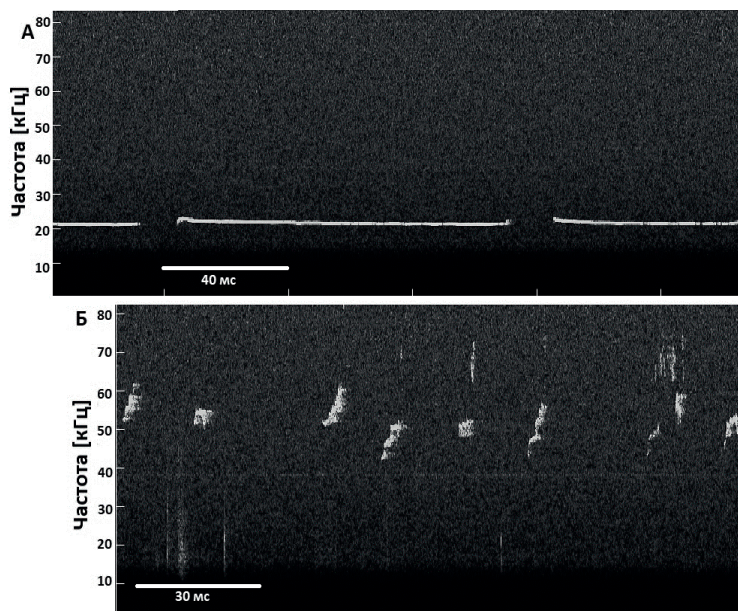


Рис. 1. Примеры спектрограмм (А) продолжительных 22 кГц, (Б) коротких 50—60 кГц звуковых сигналов.

## Результаты и обсуждение

Вокализация с частотой 55 кГц коррелировала с суммарным временем контакта в трехкамерном тесте социального предпочтения во всех исследуемых группах ( $p < 0.05$ ), что соответствует данным литературы и подтверждает тезис о характеристике 55 кГц сигналов как маркеров стремления к взаимодействию. Суммарное время замирания, характеризующее страх животного, коррелировало числом и общей продолжительностью с 22 кГц вокализацией ( $p < 0,05$ ). Аверсивная вокализация достоверно чаще встречалась в тестах, включающих свободноподвижных крыс КМ, в сравнении с контролями ( $p < 0,05$ ). Таким образом, для крыс КМ характерны аверсивные вокализации в присутствии незнакомой крысы, которое не провоцирует у них контакт, а, наоборот, ведет к поведению избегания, проявляющемуся в замирании и увеличении времени, проведенном в пустом отсеке (Ребик и соавт, настоящий сборник).

Расстройства аутистического спектра — термин, описывающий комплекс дефицита социальной коммуникации и стереотипного сенсомоторного поведения у человека, проявляющихся на ранних стадиях онтогенеза. В настоящее время существует заметный недостаток моделей этой патологии на животных, которые позволили бы понять механизмы возникновения заболевания и в будущем находить пути возможной фармакологической коррекции. Мы предполагаем, что устойчивые дефициты в коммуникативной мотивации, обнаруживаемые у крыс КМ в тестах социального предпочтения/социальной новизны (см Ребик и соавт., настоящий сборник), позволяют изучать их как животную модель коморбидности эпилепсии и РАС. Анализ ультразвуковой коммуникации позволяет получить объективные параметры зоосоциального взаимодействия в поведенческих тестах.

Такой подход значительно повышает трансляционную ценность подобных методов, привнося объективный критерий в анализ коммуникации.

### Список литературы:

1. Canitano R. Epilepsy in autism spectrum disorders//Eur Child Adolesc Psychiatry. Springer, 2007. Vol. 16, № 1. P. 61—66.
2. Caruso A., Ricceri L., Scattoni M.L. Ultrasonic vocalizations as a fundamental tool for early and adult behavioral phenotyping of Autism Spectrum Disorder rodent models//Neurosci Biobehav Rev. Pergamon, 2020. Vol. 116. P. 31—43.

3. Brudzynski S.M. Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats//Curr Opin Neurobiol. Elsevier Current Trends, 2013. Vol. 23, № 3. P. 310—317.
4. Henbid M. T. et al. Sociability impairments in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg: Reversal by the T-type calcium channel antagonist Z944//Exp Neurol. Academic Press, 2017. Vol. 296. P. 16—22.
5. Coffey K.R., Marx R.G., Neumaier J.F. DeepSqueak: a deep learning-based system for detection and analysis of ultrasonic vocalizations//Neuropsychopharmacology 2019 44:5. Nature Publishing Group, 2019. Vol. 44, № 5. P. 859—868.

## ULTRASONIC VOCALIZATION IN RATS AS A MARKER OF DISTURBANCES IN SOCIAL INTERACTION

Riga V. D.<sup>1,2</sup>, Rebik A. A.<sup>1</sup>, Smirnov K. S.<sup>1</sup>,  
Sysoeva O. V.<sup>1</sup>, Midzyanovskaya I. S.<sup>1</sup>

1 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS

2 Pirogov Russian National Research Medical University

**Abstract:** Peculiarities of ultrasonic communication were studied in tests of zoosocial interaction in rats of KM line (with latent epilepsy and suspected zoosocial deficits) and normotypic animals (rats of maternal Wistar line). In the «social preference»/«social novelty» tests, the rats of the KM line demonstrated a reduced number and duration of contacts with stimulus animals, which was accompanied by aversive 22kHz vocalizations. The number and duration of aversive vocalizations negatively correlated with contact time ( $p<0.05$ ) and positively correlated with the duration of the freeze reaction ( $p<0.05$ ). In the control group, high-frequency (35—70 KHz) strongly modulated vocalizations, of short duration (10—150 ms), associated with «positive affect» dominated. The total duration and number of vocalizations of this type correlated positively with the time of contact with stimulus animals ( $p<0.05$ ). Thus, ultrasonic vocalizations can serve as an objective indicator for assessing features of zoosocial behavior.

**Keywords:** zoosocial interaction, ultrasonic vocalization (USV)

# ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ПРОФИЛЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА МЫШЕЙ: ПРЯМОЕ ИЗМЕРЕНИЕ АЛМАЗНЫМ МИКРОТЕРМОМЕТРОМ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-262-266

Ромшин А. М.<sup>1</sup>, Осипов А. А.<sup>2,3</sup>, Попова И. Ю.<sup>2</sup>,  
Цееб В. Э.<sup>2</sup>, Власов И. И.<sup>1</sup>

1 Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук

2 Институт теоретической и экспериментальной биофизики

Российской академии наук

3 Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии

Российской академии наук

*e-mail: alex\_31r@mail.ru*

**Аннотация:** Нейрональная пластичность, как исключительно энергозатратный процесс, ключевым образом зависит от работы митохондрий, которые представляют собой микроскопические печи, выделяющие тепло как побочный продукт окислительных реакций. Однако до сих пор роль температурных градиентов в реализации физиологических процессов на субклеточном уровне оставалась в тени из-за отсутствия измерительного инструментария. В настоящей работе регистрировалась возможная энергетическая продукция выделенных из мозга мышей постсинаптических митохондрий путем прямого измерения температуры при помощи алмазного микротермометра. Возникающий после воздействия мембранного разобщителя моментальный сброс потенциала приводит к преобразованию потенциальной энергии электрохимического градиента в тепловую энергию и, как следствие, температурному всплеску. Предлагаемый метод прямого измерения температуры, в отличие от традиционных косвенных показателей, например, с использованием флуоресцентных зондов, избавлен от влияния возможных сопутствующих процессов изменения электромагнитного потенциала, концентрации ионов, в т. ч. рН, и других значимых факторов, и позволяет судить об энергетическом обеспечении нейропластичности напрямую.

**Ключевые слова:** Изолированные митохондрии мозга, температурный градиент, СССР, алмазный микротермометр.

Исследование проводили на изолированных митохондриях мозга мышей линии BALB/c (25—33 г), полученных из питомника

лабораторных животных «Столбовая» (<https://www.pitst.ru>, Россия). Мышей анестезировали изофлураном, декапитировали, полушария мозга выделяли, разрезали на мелкие кусочки в ледяном буфере (125 мМКСl, 10 мМ K<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, рН 7,4) и гомогенизировали (Duran, Wheaton). Гомогенат мозга центрифугировали при 4000 g в течение 10 мин при 4 °С. Осадок отбрасывали, а надосадочную жидкость центрифугировали при 12000 g в течение 10 мин при 4 °С. Полученный осадок ресуспендировали в 4 мл среды для выделения и хранили на льду в течение эксперимента. Для проверки жизнеспособности изолированных митохондрий использовали краситель TMRM (ThermoFisher, USA), чувствительный к мембранному потенциалу (максимум флуоресценции на 580 нм). Временной трек интенсивности красителя записывали на фоне пирувата, АДФ и разобщителя СССР, чтобы убедиться, что митохондрии выжили после гомогенизации и демонстрируют обычный метаболический ответ.

Изучение митохондриального теплового ответа на разобщение проводили с использованием коммерчески доступного конфокального спектрометра Horiba Jobin-Yvon Lab Ram HR800. Флуоресценция SiV-центров возбуждалась лазерным источником LaserQuantum на длине волны 473 нм, который фокусировался линзой с малой числовой апертурой на один из концов многомодового оптического волокна (Thorlabs, 400 мкм) с максимумом пропускания при 740 нм. В то же время другой конец волокна, проложенный внутри капилляра и расположенный вблизи его кончика, направлял фотоны возбуждения непосредственно на микроалмаз. Устройство алмазного термометра (АТ) исчерпывающе описано в нашей предыдущей работе [1]. В основе конструкции лежит алмазный кристалл высокого структурного качества, локализованный на торце стеклянного микрокапилляра. Термочувствительность АТ обеспечивается ансамблем центров окраски «кремний-вакансия» (SiV-центр), встроенных в алмазный кристалл во время CVD-синтеза. Положение максимума бесфонной линии SiV-флуоресценции зависит от температуры и позволяет регистрировать температуру любой микросистемы после предварительной калибровки. Полученную флуоресценцию собирали с помощью воздушного объектива с большим рабочим расстоянием (Olympus x50, числовая апертура = 0.55) и направляли на спектрометр Horiba. Митохондриальную суспензию (200 мкл) размазывали по чашке Петри, с помощью оптической CMOS-камеры находили митохондриальный агрегат размером от 2 до 10 мкм и регистрировали термические изменения в ответ на аппликацию

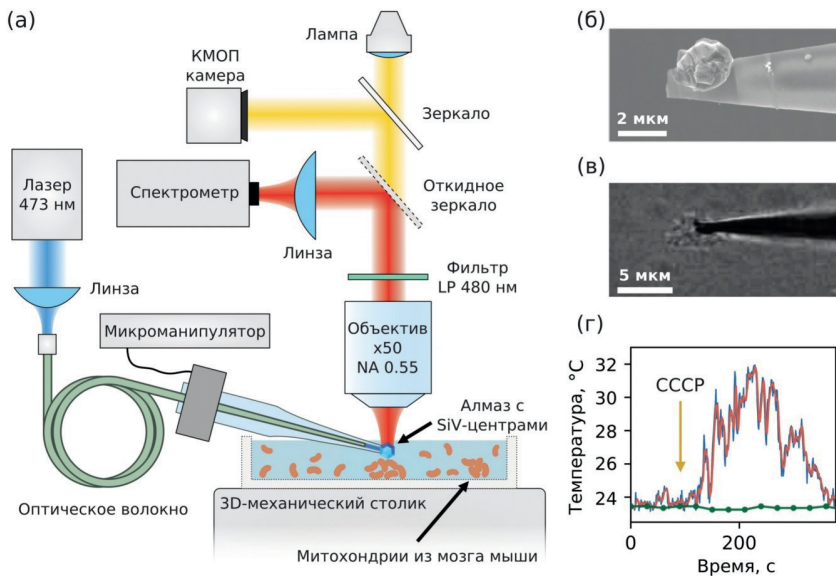
2.5 мкл СССР. В качестве эталонного индикатора макроскопической температуры в раствор погружали термопару.

Эксперименты показали, что сброс мембранного потенциала при аппликации разобщителя СССР приводит к выделению тепла митохондриями в диапазоне от 4 до ~ 22 °С по сравнению с уровнем окружающей среды. Такой широкий диапазон температурных ответов может быть связан с гетерогенностью митохондриальной суспензии и отражать различный энергетический потенциал разных типов митохондрий. Это предположение согласуется с литературными данными о наличии в нейронах разных типов митохондрий, различающихся линейными размерами и функциями. Было показано, что мелкие аксональные митохондрии выполняют буферизующую функцию, поддерживая оптимальную концентрацию ионов кальция в цитоплазме и регулируя передачу сигналов в синапсах [2]. Митохондрии дендритов имеют сильно удлинённую форму, а длинные митохондрии в телах нейронов сливаются между собой, формируя густую сеть [3]. Можно предположить, что тепловой профиль митохондрий из разных клеточных компартментов может принципиально отличаться.

Длительность теплового ответа также варьировалась в широких пределах — от секунд до сотен секунд, вероятно, из-за неоднородного распределения действия СССР на отдельные митохондрии в пределах одного агрегата. В то время как митохондрии на поверхности агрегата находятся под прямым действием СССР, глубинные органеллы изолированы и остаются неразобщенными. Таким образом, медленное проникновение СССР приводит к асинхронному и неоднородному временному отклику.

Митохондрии играют важную роль в контроле нейропластичности, включая дифференцировку нервных клеток, рост нейритов, высвобождение нейромедиаторов и ремоделирование дендритов и синапсов [4]. Вместе с тем, митохондрии являются естественными производителями тепла, образующегося за счет малоэффективного преобразования энергии (в АТФ сохраняется только от 40 до 60 процентов) [5]. В последнее десятилетие широкое распространение получила гипотеза “горячих митохондрий”, согласно которой митохондрии могут быть теплее (вплоть до 50 °С), чем цитозоль, из-за их интенсивного энергетического метаболизма. Проведенные нами исследования проливают свет на термодинамику митохондрий в нервной ткани и позволяют строить конструктивные теории на основе прямых данных.





**Рис. 1.** (а) Схема экспериментальной установки, используемой для мониторинга флуоресценции SiV-центров и диффузии агрегатов митохондрий. Чашка с митохондриальной суспензией фиксировалась на 3D-механическом столике, что позволило с легкостью найти подходящий изолированный агрегат митохондрий в изображении, регистрируемом оптической камерой. Позиционирование АТ в фокальном пятне объектива осуществлялось с помощью независимого трехосевого микроманипулятора; (б) СЭМ-изображение микроалмаза на торце стеклянного капилляра; (в) Оптическое изображение АТ вблизи предварительно выбранного агрегата митохондрий; (г) Временной трек температуры, регистрируемой АТ вблизи агрегата митохондрий (синяя кривая), показания контрольной термодпары (зеленая кривая). Желтая стрелка указывает на момент аппликации CCCP.

### Список литературы:

1. A. M. Romshin et al., 'A new approach to precise mapping of local temperature fields in submicrometer aqueous volumes', *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 14228, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-93374-7.
2. T. L. Lewis, S.-K. Kwon, A. Lee, R. Shaw, and F. Polleux, 'MFF-dependent mitochondrial fission regulates presynaptic release and axon branching by limiting axonal mitochondria size', *Nat. Commun.*, vol. 9, no. 1, p. 5008, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41467-018-07416-2.

3. T. M. Stępkowski, S. Męczyńska-Wielgosz, and M. Kruszewski, 'mitoLUHMES: An Engineered Neuronal Cell Line for the Analysis of the Motility of Mitochondria', *Cell. Mol. Neurobiol.*, vol. 37, no. 6, pp. 1055—1066, Aug. 2017, doi: 10.1007/s10571—016—0438—0.
4. Гуляева Н.В., 'Молекулярные механизмы нейропластичности: расширяющаяся вселенная', *Биохимия*, vol. 82, no. 3, pp. 365—371.
5. D. Macherel, F. Haraux, H. Guillou, and O. Bourgeois, 'The conundrum of hot mitochondria', *Biochim. Biophys. Acta BBA — Bioenerg.*, vol. 1862, no. 2, p. 148348, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.bba-bio.2020.148348.

## TEMPERATURE PROFILE OF ISOLATED MOUSE BRAIN MITOCHONDRIA: DIRECT MEASUREMENT WITH A DIAMOND MICROTHERMOMETER.

Romshin A. M. <sup>1</sup>, Osypov A. A. <sup>2,3</sup>, Popova I. U. <sup>2</sup>,  
Zeeb V. E. <sup>2</sup>, Vlasov I. I. <sup>1</sup>

1 Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences

2 Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences

3 Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences

**Abstract:** Neuronal plasticity, as an exceptionally energy-consuming process, depends in a key way on the work of mitochondria, which are microscopic furnaces that emit heat as a by-product of oxidative reactions. However, until now, the role of temperature gradients in the implementation of physiological processes at the subcellular level has remained in the shadows due to the lack of measuring instruments. In this work, the possible energy production of postsynaptic mitochondria isolated from the brain of mice was evaluated by direct temperature measurement using a diamond microthermometer. The instantaneous potential reset that occurs after exposure to the membrane disconnecter leads to the conversion of the potential energy of the electrochemical gradient into thermal energy and, as a consequence, a temperature burst. The proposed method of direct temperature measurement, unlike traditional indirect indicators, for example, fluorescent probes, is free from the influence of possible concomitant processes of changes in electromagnetic potential, ion concentration, including pH, and other significant factors, and allows us to judge the energy supply of neuroplasticity directly.

**Keywords:** Isolated brain mitochondria, temperature gradient, CCCP, diamond microthermometer

# ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ПОЛЯ CA1 ГИППОКАМПА ВО ВРЕМЯ ФОРМИРОВАНИЯ И РЕАКТИВАЦИИ АВЕРСИВНОЙ ПАМЯТИ У МЫШЕЙ *INVIVO*

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-267-271

Рощина М. А., Рощин М. В., Бородинова А. А.,  
Асеев Н. А., Балабан П. М.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

*e-mail: marina.zots@gmail.com*

**Аннотация:** Дорсальный гиппокамп критически необходим для формирования и воспроизведения памяти об опасном контексте в задаче условно-рефлекторного замирания. В данной работе мы зарегистрировали нейроны поля CA1 во время обучения и тестирования памяти в задаче УРЗ и показали изменения в активности нейронов, которые происходят в результате формирования и реактивации аверсивной памяти.

**Ключевые слова:** гиппокамп, кальциевый имиджинг, минископ, условно-рефлекторное замирание

Дорсальный гиппокамп — структура, которая критически необходима для формирования и реализации памяти. Существует большое количество работ, доказывающих, что дорсальный гиппокамп в целом и поле CA1 в частности, играют критическую роль в формировании и реактивации памяти об опасной обстановке в задаче условно-рефлекторного замирания (УРЗ). Например, разрушение дорсального гиппокампа препятствует нормальному обучению и воспроизведению памяти об опасной обстановке. Фармакологическая и оптогенетическая обратимая инактивация дорсального гиппокампа также мешает нормальному обучению и воспроизведению памяти при тестировании [1, 2]. Много исследований было посвящено генетической активации нейронов дорсального гиппокампа после обучения или воспроизведения памяти об опасном контексте. Было показано, что нейроны гиппокампа, которые экспрессировали *c-fos* во время обучения, позже реактивировались во время тестирования памяти в опасном контексте [3, 4, 5].

Интересно, что при этом большая часть *in vivo* электрофизиологических исследований активности нейронов дорсального гиппокампа сосредоточена на изучении «клеток-места» и их роли в кодировании пространственной информации. Так, например, на крысах было показано, что обучение в задаче УРЗ приводит к перекодированию пространства экспериментальной камеры «клетками места» [6]. При этом вопрос о том, каким образом нейроны дорсального гиппокампа, в частности поля CA1, вовлекаются в процедуры обучения или реактивации памяти об опасном контексте в задаче УРЗ в настоящее время остается очень мало изученным. Поэтому целью данной работы было исследовать *in vivo* активность нейронов поля CA1 гиппокампа у мышей во время обучения и тестирования памяти в задаче УРЗ на обстановку.

Эксперимент проводили на самцах мышей линии C57Bl/6 (N=4). Для регистрации активности нейронов поля CA1 мы использовали миниатюрные флуоресцентные микроскопы — минископы ([miniscope.org](http://miniscope.org), UCLA). Перед началом эксперимента мыши проходили несколько этапов подготовки. Сначала мы вводили вирусный вектор (AAV2-CAGGScamp6s), несущий кальциевый сенсор GCaMP6s под контролем универсального CAG промотора, в поле CA1 гиппокампа (-2.3 мм AP, 1.6 MLi -1.5 DVот Брегмы). Через несколько недель в ту же область мы имплантировали GRIN-линзу (диаметр 1.8 мм), которая служит объективом минископа. А затем на черепе закрепляли платформу для фиксации минископа. Через две недели после последней операции мы начинали приучать мышей к процедуре прикрепления минископа.

Для обучения мышей в задаче УРЗ на обстановку мы использовали самодельную экспериментальную камеру (25 x 26 см) с решетчатым полом. В день обучения мышей помещали в новую для них обстановку и давали обследовать её в течение 2 минут. Затем через прутья пола подавали электрокожное раздражение (ЭКР, 0.6 мА, 2 секунды) и оставляли мышь в камере ещё на 30 секунд. Через 24 часа после обучения мы снова помещали мышей в обстановку обучения и давали возможность обследовать её в течение 3 минут (тестирование памяти). Во время обучения и тестирования мы регистрировали поведение мышей с помощью веб-камеры и затем с помощью программы ezTrack [7] рассчитывали длительность замирания, показателя, которое свидетельствует о степени страха животного перед обстановкой.

Анализ данных об изменении флуоресцентного сигнала кальциевого сенсора проводили с помощью программы Minian [8]. Программа автоматически выделяет области интереса — тела нейронов, экспрессирующих флуоресцентный кальциевый сенсор и выделяет из шума изменение флуоресцентного сигнала со временем. Для анализа реактивации нейронов в двух экспериментальных ситуациях, обучении и тестировании, мы использовали программу CellReg [9].

В ходе эксперимента мыши с закрепленным на голове минископом успешно обучались в задаче УРЗ на обстановку. В день обучения мыши активно обследовали незнакомую обстановку, не проявляя признаков страха (длительность замирания —  $6 \pm 5,9\%$ ). При тестировании через 24 часа мыши замирали достоверно больше, что свидетельствует о сформировавшейся аверсивной памяти об обстановке (длительность замирания —  $25,19 \pm 15,86\%$ ,  $p = 0,006$ , критерий Вилкоксона для связанных выборок).

В день обучения суммарно нам удалось зарегистрировать 591 активный нейрон (в среднем  $147,8 \pm 74,9$  нейрона на мышь). В день тестирования памяти мы зарегистрировали несколько меньше нейронов — 512 ( $128,0 \pm 40,6$  нейронов на мышь). Средняя частота кальциевых событий за все время сессии обучения составила  $0,037 \pm 0,003$  событий/секунду, а во время тестирования памяти средняя частота несколько увеличивалась, до  $0,042 \pm 0,015$  событий/секунду.

Во время обучения мы наблюдали разнообразные варианты динамики активности нейронов: часть активировалась только до ЭКР, часть — только после. Около 46% от всех зарегистрированных нейронов была активна на протяжении всей процедуры обучения, и до, и после ЭКР. Интересно, что средняя частота кальциевых событий таких нейронов достоверно увеличивалась после нанесения мыши ЭКР, с  $0,035 \pm 0,007$  событий/секунду до  $0,086 \pm 0,013$  событий/секунду ( $p = 0,0082$ , парный t-тест для связанных выборок).

Во время тестирования памяти об опасном контексте мы проанализировали активность нейронов в зависимости от состояния мыши — во время эпизодов замирания или спокойного движения. Во время эпизодов замирания происходило заметное снижение числа активных нейронов — в среднем  $55,5 \pm 17,6\%$  от всех зарегистрированных нейронов, активных во время тестирования. При этом во время эпизодов движения в то или иное время активировались почти все зарегистрированные нейроны — в среднем  $98,5 \pm 1,7\%$  от всех активных нейронов.

Также мы проанализировали, какие нейроны были активны как во время обучения, так и во время тестирования. У обученных мышей с средним  $45,4 \pm 15,2\%$  нейронов, активных во время обучения, вновь активировалась во время тестирования в том же контексте. Средняя частота реактивирующихся нейронов не менялась от обучения, к тестированию ( $0,038 \pm 0,002$  событий/секунду при обучении и  $0,043 \pm 0,014$  событий/секунду в тестировании).

Для того, чтобы описать популяционные изменения активности нейронов мы строили графы, в которых отдельные нейроны были обозначены как узлы, а корреляция активности между нейронами были представлены в виде связей графа. Было показано, что количество функциональных связей во время тестирования увеличивается по сравнению с обучением (средний коэффициент связанности:  $0,049$  — во время обучения, до подачи ЭКР и  $0,058$  во время тестирования).

Таким образом, мы успешно зарегистрировали активность нейронов поля СА1 гиппокампа непосредственно во время формирования аверсивной памяти об обстановке в задаче УРЗ. Мы показали, что при повторном помещении в опасную обстановку снижение двигательной активности сопровождается и снижением активности нейронов. С одной стороны, этот результат представляется тривиальным, так как хорошо известно, что именно в поле СА1 находятся «клетки-места», которые активируются в определенных местах обследуемого животным пространства. Поскольку в тесте животное мало передвигается из-за страха, то и наблюдается снижение активности «клеток-места».

*Работа поддержана грантом РФФИ № 20—04—00874.*

### **Список литературы:**

1. Holt W, Maren S. Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *J Neurosci.* 1999 Oct 15;19 (20):9054—62.
2. Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K. Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell.* 2011 Oct 28;147 (3):678—89.
3. Reijmers LG, Perkins BL, Matsuo N, Mayford M. Localization of a stable neural correlate of associative memory. *Science.* 2007 Aug 31;317 (5842):1230—3.

4. Liu X, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K, Tonegawa S. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*. 2012 Mar 22;484 (7394):381—5.
5. Tayler KK, Tanaka KZ, Reijmers LG, Wiltgen BJ. Reactivation of neural ensembles during the retrieval of recent and remote memory. *Curr Biol*. 2013 Jan 21;23 (2):99—106.
6. Moita MA, Rosis S, Zhou Y, LeDoux JE, Blair HT. Putting fear in its place: remapping of hippocampal place cells during fear conditioning. *J Neurosci*. 2004 Aug 4;24 (31):7015—23.
7. Pennington ZT, Diego KS, Francisco TR, LaBanca AR, Lamsifer SI, Liobimova O, Shuman T, Cai DJ. ezTrack-A Step-by-Step Guide to Behavior Tracking. *CurrProtoc*. 2021 Oct;1 (10): e255.
8. Dong Z, Mau W, Feng Y, Pennington ZT, Chen L, Zaki Y, Rajan K, Shuman T, Aharoni D, Cai DJ. Minian, an open-source miniscope analysis pipeline. *Elife*. 2022 Jun 1;11: e70661.
9. Sheintuch L, Rubin A, Brande-Eilat N, Geva N, Sadeh N, Pinchasof O, Ziv Y. Tracking the Same Neurons across Multiple Days in Ca<sup>2+</sup> Imaging Data. *Cell Rep*. 2017 Oct 24;21 (4):1102—1115.

## IN VIVO STUDY OF CA1 HIPPOCAMPAL NEURONAL ACTIVITY DURING FORMATION AND REACTIVATION OF NEGATIVE MEMORY IN MICE

M. V. Roshchin, M. A. Roshchina, A. A. Borodinova,  
N. A. Aseyev, P. M. Balaban

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

**Abstract:** The dorsal hippocampus is critical structure for the formation and retrieval of memory of a dangerous context in the fear conditioning task. In this work, we recorded CA1 field neurons during training and memory testing in the fear conditioning task and showed changes in neuron activity that occur as a result of the formation and reactivation of negative memory.

**Keywords:** hippocampus, calcium imaging, miniscope, fear conditioning

# ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ НИЗКО- И ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ БЕТА-АКТИВНОСТИ В СУБТАЛАМИЧЕСКОМ ЯДРЕ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-272-275

Сайфулина К. Э.<sup>1</sup>, Филюшкина В. И.<sup>1</sup>, Белова Е. М.<sup>1</sup>,  
Томский А. А.<sup>2</sup>, Гамалея А. А.<sup>2</sup>, Седов А. С.<sup>1</sup>,

1 Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н. Н. Семёнова РАН, Россия.

2 ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии  
имени академика Н. Н. Бурденко” Минздрава России, Москва, Россия  
*e-mail: kseniasayfulina@gmail.com*

**Аннотация:** Изучение патологической активности мозга при болезни Паркинсона остается актуальной задачей нейрофизиологии. Данная работа направлена на изучение функциональной специфичности низко- и высокочастотных бета-осцилляций в субталамическом ядре у пациентов с болезнью Паркинсона. Мы изучали частотные характеристики локальных потенциалов и их связь с брадикинезией, ригидностью и общей оценкой симптомов (UPDRS3). Мы выявили, что мощность низкочастотных бета-осцилляций неспецифично отражает моторные симптомы, в то время как высокочастотные бета-осцилляции специфично связаны с ригидностью.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, субталамическое ядро, локальные потенциалы, брадикинезия, ригидность

## Введение.

Болезнь Паркинсона — второе в мире по распространенности нейродегенеративное заболевание. Изучение патологической активности мозга при данном заболевании остается актуальной задачей нейрофизиологии — как с точки зрения фундаментальной науки, так и с точки зрения борьбы с симптомами методами глубинной стимуляции. Основным нейрофизиологическим маркером болезни Паркинсона считается бета-активность в субталамическом ядре [1] — компоненте системы базальных ганглиев и главной мишени для глубинной стимуляции мозга. В литературе появились данные,



указывающие на функциональные различия между частотными поддиапазонами бета-активности [2, 3], однако консенсуса по этому поводу еще нет. Данная работа направлена на изучение связи бета-поддиапазонов с моторными симптомами.

### **Методика.**

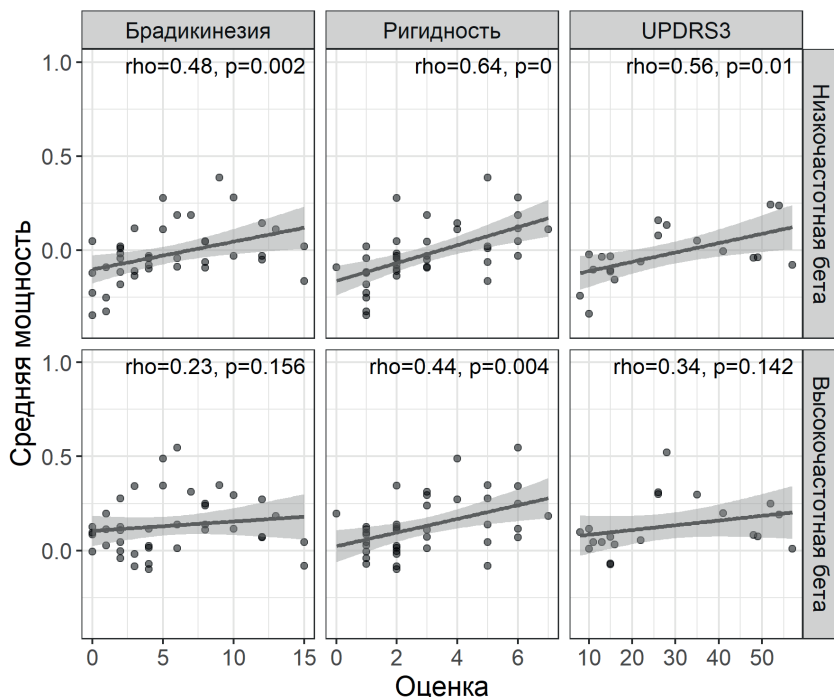
В исследовании участвовали шесть пациентов с болезнью Паркинсона (44—62 лет, среднее 52.8 лет, стандартное отклонение 8.2 лет, 5 женщин). Все пациенты прошли процедуру установки электродов для глубокой стимуляции в субталамическое ядро с наружным выведением. В первый и пятый день после операции с установленных электродов записывали спонтанную активность в состоянии спокойного бодрствования до и после приема леводопы (в ON- и OFF-состояниях). Моторные симптомы оценивали по шкале UPDRS для каждой стороны тела в оба дня до и после приема препарата, в анализ брали три шкалы: брадикинезия, ригидность и UPDRS3 (обобщенная оценка моторных симптомов).

На основе записей от 8 отведений каждого электрода мы рассчитали биполярные сигналы, по этим сигналам рассчитали среднюю спектральную мощность в низкочастотном (14—19 Гц) и высокочастотном (20—30 Гц) бета-диапазонах и вычислили медианные значения для каждого полушария, дня записи и состояния (ON и OFF). Эти значения использовались в анализе качества одного наблюдения.

Для обоих бета-поддиапазонов мы провели корреляционный анализ (корреляция Спирмена), в рамках которого проверяли связь между средней мощностью и тремя оценками моторных симптомов. Оценивали коэффициент корреляции Спирмена и значимость корреляции.

### **Результаты.**

Средняя мощность в низкочастотном бета-поддиапазоне (рис. 1, верх) коррелировала с брадикинезией ( $\rho = 0.48$ ,  $p = 0.002$ ), ригидностью ( $\rho = 0.64$ ,  $p < 0.001$ ), UPDRS3 ( $\rho = 0.56$ ,  $p = 0.01$ ). Средняя мощность в высокочастотном бета-диапазоне (рис. 1, низ) коррелировала с ригидностью ( $\rho = 0.44$ ,  $p = 0.004$ ), значимой корреляции с брадикинезией не наблюдалось ( $\rho = 0.23$ ,  $p = 0.156$ ), как и со шкалой UPDRS3 ( $\rho = 0.34$ ,  $p = 0.142$ ).



*Рис. 1. Взаимосвязь средней мощности активности в двух бета-поддиапазонах и степенью выраженности моторных симптомов: брадикинезии, ригидности и обобщенной оценки моторных нарушений.*

### **Заключение.**

Корреляционный анализ средней мощности в двух бета-поддиапазонах показал, что низкочастотные (13—19 Гц) бета-осцилляции неспецифично связаны с моторными симптомами: их мощность коррелировала с ригидностью, брадикинезией и UPDRS3 (общей оценкой моторных симптомов). Высокочастотные (20—30 Гц) бета-осцилляции, согласно результатам данного исследования, специфично связаны с ригидностью: с оценками по этой шкале корреляция была значимой, а с другими шкалами значимых корреляций не наблюдалось.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 22—15—00344).*

## Список литературы:

1. Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO. Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease//Brain. — 2002 — Vol. 125 — № 6 — PP. 1196—1209. doi: 10.1093/brain/awf128.
2. Oswal A, Beudel M, Zrinzo L, Limousin P, Hariz M, Foltynie T. Deep brainstimulation modulates synchrony within spatially and spectrally distinct resting state networks in Parkinson's disease.//Brain. — 2016 — Vol. 139 — PP. 1482—1496. doi: 10.1093/brain/aww048.
3. Marceglia, S., Foffani, G., Bianchi, A. M., Baselli, G., Tamma, F., Egidio, M. Dopamine-dependent non-linear correlation between subthalamic rhythms in Parkinson's disease: Dopamine-dependent segregation between STN rhythms.//J. Physiol. — 2006 — Vol. 571 — PP. 579—591. doi: 10.1113/jphysiol.2005.100271.

## FUNCTIONAL DIFFERENCES BETWEEN LOW AND HIGH BETA ACTIVITY WITHIN SUBTHALAMIC NUCLEUS IN PARKINSON'S DISEASE

Sayfulina K. E. <sup>1</sup>, Filyushkina V. I. <sup>1</sup>, Belova E. M. <sup>1</sup>,  
Gamaleyeva A. A. <sup>2</sup>, Tomskiy A. A. <sup>2</sup>, Sedov A. S. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Human cellular neurophysiology, N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Moscow, Russia

<sup>2</sup> National Medical Research Center of Neurosurgery named after Academician N. N. Burdenko, Ministry of Health, Moscow, Russia

**Abstract:** Investigation of pathological brain activity in Parkinson's disease remains an actual problem of neurophysiology. This work aims to study the functional specificity of low- and high-frequency beta oscillations in the subthalamic nucleus in patients with Parkinson's disease. We analyzed the frequency characteristics of local field potentials and their relation to bradykinesia, rigidity, and general symptom assessment (UPDRS3 scale). We found that the power of low-frequency beta oscillations nonspecifically reflected motor symptoms, while high-frequency beta oscillations were specifically related to rigidity.

**Keywords:** Parkinson's disease, subthalamic nucleus, local field potentials, bradykinesia, rigidity

## СЛУХОВОЕ ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ В КОНТЕКСТЕ МОДЕЛЕЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЗВУКОВЫХ СТИМУЛОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-276-280

Саликова Д. А.<sup>1,2</sup>, Шестопалова Л. Б.<sup>1</sup>,  
Петропавловская Е. А.<sup>1</sup>

1 Институт физиологии им. Павлова, Российская академия наук, Санкт-Петербург  
2 НИУ ВШЭ, Москва

*e-mail: dasalikova@infran.ru*

**Аннотация:** Были исследованы воспринимаемые траектории движения акустических шумовых сигналов при воздействии неподвижного адаптера и в тишине. В разных сериях неподвижный адаптер располагался у одного из ушей слева или справа, либо по центру; движение тестовых сигналов происходило по направлению по направлению к средней линии головы и в обратную сторону; местоположение задавалось междушумными различиями по времени. Основным выводом эксперимента стало расширение акустического пространства в стороне, контралатеральной адаптеру по сравнению с условиями в тишине. Полученные результаты рассматриваются в рамках трехканальной модели локализации слуховой информации.

**Ключевые слова:** локализация звуковых стимулов, эффект последствия, неподвижные и движущиеся звуковые образы

Слуховое последствие описывается как изменение воспринимаемого положения или траектории движения тестового звукового стимула после прослушивания другого (адаптирующего) стимула. В зависимости от условий эксперимента и выбора сигналов, эффект слухового последствия будет отличаться: например, после прослушивания неподвижных сигналов воспринимаемое положение тестовых стимулов смещается дальше от сигналов, вызвавших последствие [1,2], а после прослушивания движущихся стимулов неподвижный стимул воспринимается как смещающийся во встречном направлении [3, 4].

На сегодняшний день существует три модели, связанные с обработкой слуховой пространственной информации. Популяцион-

ная модель (population coding model) предполагает, что существует нейронные популяции с узко настроенными рецептивными полями, каждая из которых реагирует на небольшой диапазон значений [5]. Согласно «полусферной модели» (hemifield model), в обоих полушариях находятся нейронные популяции, покрывающие широкий диапазон значений акустической информации как слева, так и справа [6]. И третья модель, частный случай “полусферной модели”, наряду с существованием двух латеральных каналов, предполагает существование центрального канала, реагирующего на акустическую информацию в соответствующем поле [7,8,9].

В представленной работе слуховое последствие исследовано в условиях дихотической стимуляции. Использовались три положения неподвижного адаптера (у левого или правого уха либо у средней линии головы), а тестовые сигналы — движущиеся — перемещались от средней линии к уху либо в обратном направлении. Испытуемые определяли положение начальных и конечных точек траекторий движения тестовых стимулов в тишине и в условиях адаптации. В представленном исследовании были поставлены следующие задачи: 1) выяснить, как влияет неподвижный адаптер на воспринимаемые траектории движущихся стимулов; 2) определить, какая из трех моделей в наибольшей степени соответствует полученным данным.

Для создания различно расположенных звуковых образов использовались межущные различия по интенсивности,  $\Delta I$ . Неподвижный адаптирующий стимул в разных сериях располагался центрально ( $\Delta I = 0$  дБ), слева ( $\Delta I = -10$  дБ) или справа ( $\Delta I = 10$  дБ). Тестовые сигналы, движущиеся от центра, создавали за счет линейного нарастания  $\Delta I$  от 0 до  $\pm 10$  дБ, а движущиеся к центру — за счет линейного убывания  $\Delta I$  от  $\pm 10$  дБ до 0. Пробы, содержащие адаптирующий стимул, длящийся 9 с, и пробы, в которых тестовые сигналы звучали в тишине, предъявлялись в случайном порядке в пропорции 3:1.

Испытуемые получали инструкцию при помощи графического планшета показать на схеме точки, соответствующие началу и концу траектории движения тестового сигнала. Положение звукового образа оценивали в градусах относительно средней линии головы.

Статистическую оценку полученных результатов проводили по отдельности для центральных и латеральных точек и для неподвижных. При попарных сравнениях применяли поправку Бонферрони. Все сравнения проводили с уровнем значимости  $p < 0.05$ . В исследовании анализировались данные двух групп испытуемых:

движущиеся сигналы предъявлялись либо на фоне непрерывно звучащего неподвижного маскера, либо в тишине (контроль).

Сравнение длин траекторий основного эксперимента с контрольными условиями показало, что при действии адаптера происходило удлинение траекторий за счет отдаленных от адаптера областей пространства. Максимальное удлинение наблюдалось при движении к центру (7—9 град).

Основной вывод эксперимента связан с наблюдаемым расширением противоположной стороны акустического пространства по сравнению с контролем при действии латеральных адаптеров. Это последствие проявлялось в отдаленной от адаптера части пространства. Действие центрального адаптера в целом приводило к их смещению точки, ближайшей к действию адаптеру.

Полученные результаты не соответствуют популяционной модели. Латеральные адаптеры изменяли траекторию в удаленной от него области пространства, что не согласуется с существованием тонко настроенных нейронных популяций с узкими рецептивными полями. Полусферная модель восприятия движения звука предполагает зависимость ответа на движущийся стимул от его направления [10]. Однако, в проанализированных данных представленного эксперимента подобная связь не выявлена.

С другой стороны, можно рассмотреть полученные результаты без учета направления. В рамках полусферной модели, локализация источника звука определяется совместным действием нейронов, настроенных на левую и правую стороны пространства. Рассмотрим для примера случай левостороннего адаптера. Нейроны, настроенные на левую сторону, ответили бы сильнее на сигналы, движущиеся слева, чем справа, но при появлении левостороннего адаптера они станут подвержены избирательной адаптации, и естественная асимметрия ответа этой нейронной популяции уменьшится. Нейроны, настроенные на правую сторону, ответят сильнее на сигналы, движущиеся справа, чем слева. При появлении левостороннего (контралатерального их предпочитаемой стороне) адаптера они в меньшей степени подвержены адаптации, поэтому последствие слабо повлияет на правостороннюю асимметрию их реакции. В итоге, при левом адаптере, большой вклад в результирующий ответ внесут правонастроенные нейроны, что может выражаться в улучшении восприятия правосторонних сигналов или смещении воспринимаемого положения любых сигналов вправо. Аналогично, в случае правостороннего адаптера преимущество получает левая

сторона. Представленные результаты согласуются с данным рассуждением: субъективное акустическое пространство расширяется на противоположной адаптеру стороне.

Трехканальная модель предполагает, что центральный адаптер приводит к сдвигу воспринимаемого положения неподвижных источников звука к периферии [7,8,9] и при появлении центрального адаптера нейроны станут подвержены избирательной адаптации, и их ответ симметрично уменьшится, траектории отодвинутся от центра, что и было продемонстрировано в эксперименте. Таким образом, можно сделать вывод, что полученные результаты лучше всего объясняются в рамках трехканальной модели локализации.

### **Список литературы:**

1. Carlile S., Hyams S., Delaney S. Systematic distortions of auditory space perception following prolonged exposure to broadband noise. *J. Acoust. Soc. Am.* 2001. 110: 416—424.
2. Phillips D. P., Hall S. E. Psychophysical evidence for adaptation of central auditory processors for interaural differences in time and level. *Hearing Research.* 2005. 202: 188—199. doi: 10.1016/j.heares.2004.11.001.
3. Андреева И. Г. Последствие движения как универсальное явление для сенсорных систем, участвующих в ориентации в пространстве. II. Слуховое последствие. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2015. 51: 145—153.
4. Андреева И. Г. Сенсорное последствие движения. *Сенсорные системы.* 2017. 31: 279—290.
5. Joris X., Smith P. H., Yin T. C. Coincidence detection in the auditory system: 50 years after Jeffress. *Neuron.* 1998. 21: 1235—1238.
6. Phillips D. P., Vigneault-McLean B. K., Boehnke S. E., Hall S. E. Acoustic hemifields in the spatial release from masking of speech by noise. *J. Am. Acad. Audiol.* 2003. 14: 518—524.
7. Dingle R. N., Hall S. E., Phillips D. P. A midline azimuthal channel in human spatial hearing. *Hear. Res.* 2010. 268: 67—74.
8. Dingle R. N., Hall S. E., Phillips D. P. The three-channel model of sound localization mechanisms: interaural level differences. *J. Acoust. Soc. Am.* 2012. 131 (5): 4023—4029. <http://dx.doi.org/10.1121/1.3701877>
9. Dingle R. N., Hall S. E., Phillips D. P. The three-channel model of sound localization mechanisms: Interaural time differences. *J. Acoust. Soc. Am.* 2013. 133 (1): 417—424. <http://dx.doi.org/10.1121/1.4768799>

10. Magezi D. A., Krumbholz K. Evidence for opponent-channel coding of interaural time differences in human auditory cortex. *J Neurophysiol.* 104: 1997—2007.

## **AUDITORY AFTER-EFFECT IN THE CONTEXT OF MODELS OF SOUND LOCALIZATION**

**Salikova D. A.** <sup>1,2</sup>, **Shestopalova L. B.** <sup>1</sup>, **Petropavlovskaja E. A.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

<sup>2</sup> Higher School of Economics, National Research University, Moscow

**Annotation:** Perceived trajectories of moving auditory signals were investigated in two conditions: 1) with stationary adapter, 2) in silence. The spatial position of all stimuli was determined by the interaural level differences. In different series, the stationary adapter was located either laterally (near one of the ears) or at the head midline; motion of test signals was directed from the head midline either to the right or to the left ear, or in the opposite direction. The main result of the experiment was the extension of the acoustic space on the side contralateral to the adapter. The results obtained can be explained within the framework of a three-channel model of the acoustic space perception.

**Keywords:** sound localization, after-effects, stationary and moving sounds



## СЕНСОРНЫЙ ГЕЙТИНГ У МЫШЕЙ НОКАУТНЫХ ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРА СЛЕДОВЫХ АМИНОВ ПЕРВОГО ТИПА (ТААР1)

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-281-285

Симон Ю. А., Дмитриева Е. С., Александров А. Ю.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия  
*e-mail: ysimon@sbpu.ru*

**Аннотация:** Следовые амины (СА) представляют собой соединения структурно близкие к классическим моноаминам, выполняющими медиаторную функцию в ЦНС. Идентифицировано семейство так называемых рецепторов следовых аминов (TAARs), функциональное значение которых остаётся неясно. Целью данного исследования явилось изучение слуховых вызванных потенциалов (ВП) и определение показателей сенсорного гейтинга (СГ) у мышей нокаутных по гену рецептора TAAR1 (KO TAAR1) в хроническом эксперименте.

**Ключевые слова:** рецепторы следовых аминов; TAAR1; сенсорный гейтинг; N40; слуховые ВП

Следовые амины (СА) относятся к классу биогенных аминов, которые присутствуют в ЦНС позвоночных животных в низкой концентрации и рассматриваются в качестве потенциального нейромодулятора. Было продемонстрировано влияние СА на дофаминергическую [1], серотонинергическую [1] и глутаматергическую передачу [2,3]. Наиболее изученным членом семейства рецепторов СА является TAAR1 рецептор, который обнаруживается в центральной нервной системе и в периферических тканях. TAAR1 рецептор в основном экспрессируется в месте наибольшей плотности дофаминергических нейронов: в области вентральной покрышки и черной субстанции, в ядре дорсального шва, там, где наиболее представлены серотонинергические нейроны, а также в гиппокампе и амигдале [4]. Несмотря на то, что функциональная значимость следовых аминов остаётся неясной, изменение концентрации и/или нарушение функции их рецепторов могут быть вовлечены в ряд нейropsychиатрических расстройств, связанных с моноаминергической дисфункцией

[5]. Сенсорный гейтинг наряду с негативностью рассогласования (MMN) и преимпульсным торможением (PPI) является признанным нейрофизиологическим маркером шизофрении. Сенсорный гейтинг (от англ. gate — ворота) — это процесс дозирования и фильтрации избыточных или нерелевантных стимулов, поступающих из окружающей среды, при помощи которого мозг регулирует величину ответов на сенсорные стимулы [6]. Стандартная экспериментальная парадигма изучения СГ включает в себя предъявление последовательности одинаковых коротких звуковых стимулов, которые сгруппированы в пары с фиксированным межстимульным интервалом внутри пары стимулов и большим интервалом между парами стимулов. После регистрации слуховых вызванных потенциалов анализируется амплитуда компонента P50/N40. Сенсорный гейтинг проявляется в подавлении компонента вызванного потенциала P50/N40 в ответах на второй стимул в паре.

### **Цель работы.**

Изучение изменения сенсорного гейтинга у мышей нокаутных по гену рецептора TAAR1.

### **Материалы и методы.**

Исследование проводилось на 3—5 месячных самцах мышей нокаутных по гену рецептора TAAR1 (n=11), в качестве контроля использовались самцы дикого типа WT (n=11). Все животные содержались в стандартных условиях при поддержании 12-часового цикла свет-темнота. По завершении акклиматизационного периода животным проводилась операция по имплантации электродов в кости черепа. Регистрирующие электроды располагались билатерально симметрично (-6mm posterior, 3,5 mm lateral to the bregma); референтный электрод размещался в левом полушарии (-2,5mm posterior, 3,5 mm lateral to the bregma); заземляющий электрод размещался в правом полушарии (-2,5mm posterior, 3,5 mm lateral to the bregma). Эксперимент проводился на хронических животных в условиях свободного поведения. В ходе эксперимента предъявлялись пары звуковых стимулов, длительностью 10 мс, частота заполнения 3000 Гц, интенсивность 85 дБ. Интервал между стимулами в паре составлял 300 мс. Всего предъявлялось 100 пар стимулов, интервал между парами варьировал случайным образом в пределах 3—5 с. Звуки генерировались и предъявлялись через звуковые колонки, расположенные возле боксов при помощи программы Psytask v.2.4 software. Запись электроэнцефалограммы (ЭЭГ) для

регистрации и построения ВП проводилась на цифровом электроэнцефалографе Mitsar-EEG-05/70—201 при помощи программы WINEEG v.2.4 software.

Обработка данных ЭЭГ включала фильтрацию ЭЭГ сигнала в полосе 10—100 Гц. После выделения и построения ВП подсчитывали амплитуду компонента N40, которая измерялась как среднее значение амплитуды ВП на отрезке 20—40 мс от начала предъявления стимула. Показатель сенсорного гейтинга высчитывался двумя способами: абсолютный показатель СГ — определялся путём вычитания амплитуды компонента N40, полученного на второй стимул (С2) в паре из амплитуды компонента N40 полученного на первый стимул в паре (С1), и относительный показатель СГ — полученный методом деления амплитуды компонента N40 полученного в ответ на С2 на амплитуду компонента N40 полученного в ответ на С1. Статистическая оценка групповых ВП производилась с помощью методов дисперсионного анализа ANOVA по схеме повторных измерений с использованием программы IBM SPSS Statistic v. 21. Для общего анализа изменения амплитуд ответов на С1 и С2 был использован 2-х факторный дисперсионный анализ с факторами: «группа» (WT и КО TAAR1) и «стимул» (С1 и С2). Если в результате анализа обнаруживалось значимое влияние фактора или взаимодействие факторов, то проводился апостериорный анализ с помощью парного t- теста Стьюдента.

### **Результаты.**

Показано, что амплитуда компонента N40 слухового ВП в ответ и на первый (С1), и на второй стимул в паре (С2) значительно меньше у мышей нокаутных по гену TAAR1. Двухфакторный дисперсионный анализ показал достоверное отличие обоих факторов. Фактор «группа» (TAAR1\_KO и WT)  $F(1, 10) = 11,282$ ,  $p=0,007$ . Фактор «стимул» (С1 и С2)  $F(1, 10) = 21,016$ ,  $p<0,001$ . Кроме того было выявлено достоверное взаимодействие факторов «группа» (TAAR1\_KO и WT) и «стимул» (С1 и С2)  $F(1, 10) = 7,284$ ,  $p=0,02$ . В связи с выявлением достоверного взаимодействия факторов было проведено попарное сравнение показателей амплитуд компонента N40 полученных в ответах на первый С1 и второй С2 стимул в паре. Данное сравнение показало значимое отличие амплитуды компонента N40 полученного в ответ на первый стимул в паре (С1) у нокаутных животных и животных дикого типа  $p=0,009$  и значимое отличие амплитуды компонента N40 полученного в ответ

на второй стимул в паре (C2) у нокаутных животных и животных дикого типа  $p=0,02$ . Абсолютный показатель СГ, который определялся путём вычитания амплитуды компонента N40, полученного на второй стимул (C2) в паре из амплитуды компонента N40 полученного на первый стимул в паре (C1) достоверно снижался у мышей нокаутных по TAAR1 —  $F(1, 10) = 7,3, p=0,02$ . Относительный показатель СГ подсчитанный путем деления амплитуды компонента N40 в ответ на C2 на амплитуду компонента N40 полученного в ответ на C1 достоверно не отличался между изученными группами животных  $F(1, 10) = 0,08, p=0,78$ .

### **Обсуждение.**

Результаты настоящего исследования продемонстрировали значительное ослабление компонента N40 слухового ВП у мышей нокаутных по гену TAAR1, по сравнению с мышами дикого типа. Показано снижение амплитуды N40 в ответ как на первый (C1), так и на второй (C2) стимул в паре, что приводит к снижению абсолютных значений СГ в группе мышей нокаутных по гену TAAR1. Ранее, нами было выявлено, что агонист TAAR1 рецептора (RO 5263397) в дозировке 1 мг/кг способствует улучшению СГ [7]. Наши данные указывают на значительное снижение электрогенеза у мышей нокаутных по гену TAAR1, напоминающее обнаруживаемые изменения ВП при шизофрении.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, номер проекта 22—25—00006.*

### **Список литературы:**

1. Revel F.G., Moreau J.L., Gainetdinov R.R., Bradaia A., Sotnikova T.D., Mory R., Durkin S., Zbinden K.G., Norcross R., Meyer C.A., Metzler V., Chaboz S., Ozmen L., Trube G., Pouzet B., Bettler B., Caron M.G., Wettstein J.G., Hoener M.C. TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108 (20): 8485—8490. 2011. DOI:10.1073/pnas.1103029108
2. Espinoza S., Lignani G., Caffino L., Maggi S., Sukhanov I., Leo D., Mus L., Emanuele M., Ronzitti G., Harmeier A., Medrihan L., Sotnikova T.D., Chieriegatti E., Hoener M.C., Benfenati F., Tucci V., Fumagalli F., Gainetdinov R.R. TAAR1 Modulates Cortical Glutamate NMDA Receptor Function. Neuropsychopharmacology. 40 (9): 2217—2227. 2015. DOI:10.1038/npp.2015.65

3. Sukhanov I., Caffino L., Efimova E. V., Espinoza S., Sotnikova T. D., Cervo L., Fumagalli F., Gainetdinov R. R. Increased context-dependent conditioning to amphetamine in mice lacking TAAR1. *Pharmacol. Res.* 103:206—214. 2016. DOI:10.1016/j.phrs.2015.11.002
4. John J., Kukshal P., Bhatia T., Chowdari K. V., Nimgaonkar V. L., Deshpande S. N., Thelma B. K. Possible role of rare variants in Trace amine associated receptor 1 in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 189:190—195. 2017. DOI:10.1016/j.schres.2017.02.020
5. Rutigliano G., Accorroni A., Zucchi R. The case for TAAR1 as a modulator of central nervous system function. *Front. Pharmacol.* 8:987. 2018. DOI:10.3389/fphar.2017.00987
6. Javitt D. C., Freedman R. Sensory processing dysfunction in the personal experience and neuronal machinery of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry.* 172 (1): 17—31. 2015. DOI:10.1176/appi.ajp.2014.13121691
7. Aleksandrov A. A., Dmitrieva E. S., Volnova A. B., Knyazeva V. M., Polyakova N. V., Ptukha M. A., Gainetdinov R. R. Effect of alpha-NE-TA on auditory event related potentials in sensory gating study paradigm in mice. *Neurosci. Lett.* 712:134470. 2019. DOI:10.1016/j.neulet.2019.134470

## SENSORY GATING IN TAAR1 KNOCKOUT MICE

Simon Y. A., Dmitrieva E. S., Aleksandrov A. Y.

St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: ysimon@sbpu.ru*

**Abstract:** Trace amines (TA) are compounds structurally similar to traditional CNS catecholamines and monoamines presented in extremely low concentrations. A family of so-called trace amine-associate receptors (TAARs) has been identified, but so far, the functional role remains unclear. The aim of present study was to investigate the sensory gating (SG) in a freely moving TAAR1 knockout mice in a chronic experiment.

**Keywords:** trace amine-associate receptors; TAAR1; sensory gating; N40; auditory ERPs

# СТИМУЛЯЦИЯ ЕДИНИЧНЫХ НЕЙРОНОВ ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ МЫШИ ПРИВОДИТ К ИЗМЕНЕНИЮ ХАРАКТЕРИСТИК СЕНСОРНЫХ ОТВЕТОВ НЕЙРОНОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-286-289

Смирнов И. В., Малышев А. Ю.

Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
*e-mail: ivan.vas.smirnov@gmail.com*

**Аннотация:** В нашей работе мы исследовали возможность индукции динамических модификаций зрительных ответов кортикальных нейронов путем их селективной стимуляции. В ходе исследования мы обнаружили, что оптогенетическая стимуляция единичных нейронов пятого слоя области V1 мыши, сочетанная с предъявлением зрительных стимулов, приводит к долговременным изменениям ориентационной настройки исследуемых нейронов. В пилотных экспериментах, используя метод пэтч кламп, мы обнаружили, что внутриклеточная тетанизация, которая, как было найдено на срезах мозга, вызывает массивные гетеросинаптические перестройки большого количества входов на нейрон, *in vivo* приводит к изменению зрительных ответов нейронов 2/3 слоя в виде увеличения ширины их рецептивных полей в одном из направлений.

**Ключевые слова:** синаптическая пластичность, зрительная кора, оптогенетика.

Согласно одной из центральных гипотез нейробиологии синаптическая пластичность обеспечивает адаптивное функционирование кортикальных сетей в процессах развития, перцепции, обучении и памяти. Однако, поскольку клеточные и молекулярные механизмы синаптической пластичности исследуются главным образом на упрощенных препаратах, таких как культура нейронов или переживающие срезы мозга, представление о роли синаптической пластичности в механизмах работы корковых сетей является в значительной степени коррелятивным. В ходе нашей работы мы исследовали влияние сочетанной и несочетанной со зрительной стимуляцией (процедура, аналогичная STDP на срезах мозга) на сенсорные ответы единичных нейронов первичной зрительной коры

мышь *in vivo*. Сочетанная стимуляция вызывает Хеббовскую ассоциативную пластичность, в то время как несочетанная стимуляция, как неоднократно было показано ранее, приводит к формированию гетеросинаптических изменений в работе нейронных сетей.

Первая часть работы была выполнена на первичной зрительной коре трансгенных мышей, у которых под промотором *Thy1* экспрессировался ген светоактивируемого белка канального родопсина 2 (ChR2). В зрительной коре мышей данной линии экспрессия ChR2 наблюдается преимущественно в пирамидных нейронах 5-го слоя. Регистрация активности нейронов производилась методом юкстраклеточной регистрации при помощи стеклянного микроэлектрода, вставленного в специализированный холдер-Оптопетчер, который обеспечивал возможность введения внутрь электрода оптоволокна, через которое осуществлялась оптогенетическая стимуляция регистрируемого нейрона. В течение первых 10 минут регистрации животному демонстрировались движущиеся полосы вертикальной и горизонтальной ориентации в ответ на которые в нейроне генерировались потенциалы действия. Затем определялась более оптимальная ориентация стимула для данного нейрона, и выполнялась оптогенетическая стимуляция, сочетанная во времени с предъявлением зрительного стимула неоптимальной ориентацией. Всего для каждого нейрона производилось от 100 до 200 таких сочетаний, после чего, продолжалось дальнейшее тестирование зрительными стимулами в течение еще, по крайней мере, 40 минут. Было найдено, что после сочетанной стимуляции происходит смещение ориентационной настройки нейрона в сторону подкрепляемого стимула, что выражалось в виде увеличения ответов на неоптимальный (подкрепляемый) стимул по сравнению с ответом на изначально оптимальный стимул. Полученные изменения сохранялись более одного часа после сочетанной стимуляции. В то же время в контрольной группе, в которой проводилась оптогенетическая стимуляция нейронов эксплицитно несочетанная с демонстрацией неоптимально ориентированного стимула, не было обнаружено никаких значимых изменений индекса ориентационной селективности. Нормированные к начальным коэффициенты ориентационной селективности в группе с сочетанной и несочетанной стимуляцией составляли  $1.85 \pm 0.3$  и  $0.95 \pm 0.09$  соответственно ( $p < 0.05$ , критерий Уилкоксона).

Кроме того, мы провели пилотные эксперименты по изучению роли гетеросинаптической пластичности в динамических модифи-

кациях зрительных ответов нейронов неокортекса. В этих опытах нейроны зрительной коры наркотизированной мыши *in vivo* регистрировались внутриклеточно методом whole-cell patch clamp. Для исследования влияния гетеросинаптической пластичности на зрительные ответы, в нашей работе использовался протокол внутриклеточной тетанизации. Во время тетанизации в регистрируемом нейроне вызывались серии из 10 пачек по 5 потенциалов действия с частотой 100 Герц каждую секунду; всего было пять таких серий с интервалом 60 секунд. В многочисленных экспериментах на срезах мозга было показано, что подобный протокол вызывает массивные пластические изменения синаптических входов на данный нейрон: часть входов потенцируется, часть депрессируется, часть остается без изменений. В качестве зрительных стимулов, как и в предыдущей серии экспериментов, мы использовали движущиеся полосы двух взаимно перпендикулярных ориентаций различных направлений. Было найдено, что после внутриклеточной тетанизации в некоторых клетках произошло значительно увеличение длительности ответа на один из зрительных стимулов, что может быть вызвано уширением зрительного поля в одном из направлений.

Таким образом, воздействие на отдельные нейроны 5-го слоя первичной зрительной коры может приводить к изменению функциональных свойств этих клеток. Поскольку в 5 м слое первичной зрительной коры мыши расположены в основном сложные клетки, то остается открытым вопрос какие изменения может вызывать подобная стимуляция в простых нейронах, которые преимущественно расположены в 4-ом и 2/3 слоях первичной зрительной коры грызунов. Также интересно, насколько долго подобные изменения сохраняются во времени и могут ли они оказать значимое влияние на поведение целого животного.

Таким образом, в нашей работе мы продемонстрировали роль ассоциативной и неассоциативной пластичности в динамической организации рецептивных полей нейронов зрительной коры.

*Данное исследование было поддержано Российским Научным Фондом (грант № #20—15—00398).*



# STIMULATION OF SINGLE NEURONS IN MOUSE V1 LEADS TO CHANGES IN THEIR S ENSORY RESPONSES

Smirnov I. V., Malyshev A. Yu

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia

**Annotation:** In our work, we investigated the possibility of inducing dynamic modifications of visual responses of cortical neurons by their selective stimulation. In this study, we found that optogenetic stimulation of single neurons of the 5th layer of the mouse V1 region, combined with the presentation of visual stimuli, leads to long-term changes in the orientation settings of these neurons. In pilot experiments using patch clamps, we found that intracellular tetanization in vivo leads to a change in the visual responses of 2/3 layer neurons in the form of an increase in the width of their receptive fields in one direction.

**Keywords:** synaptic plasticity, visual cortex, optogenetics

# ЗАТУХАНИЕ НЕЙРОННЫХ РЕАКЦИЙ В СУБТАЛАМИЧЕСКОМ ЯДРЕ ВО ВРЕМЯ САМОИНИЦИИРУЕМЫХ ДВИЖЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-290-295

Филюшкина В. И.<sup>1</sup>, Белова Е. М.<sup>1</sup>, Усова С.В.<sup>1</sup>,  
Томский А. А.<sup>2</sup>, Седов А. С.<sup>1</sup>

1 ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н. Н. Семенова РАН, Москва, Россия

2 ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко” Минздрава России, Москва, Россия  
*E-mail: filyushkina.veronika@gmail.com*

**Аннотация:** Существующие модели сегрегированных функциональных петель описывают организацию моторного контроля над внешне вызванными (ВВ) и самоинициируемыми (СИ) движениями. Считается, что дефицит дофамина при болезни Паркинсона (БП) вызывает нарушение функциональной петли, регулирующей СИ движения. При этом нейронные механизмы пространственного разделения нейронных сетей и их нарушения при БП до сих пор остаются неясными. Ожидалось обнаружить в субталамическом ядре (STN) сенситивные нейроны, которые избирательны к типу движения. Мы проанализировали 26 сенситивных нейронов у 12 пациентов с БП, которые подверглись операции по вживлению электродов для глубокой стимуляции мозга. Также мы проанализировали локальные потенциалы STN 6 пациентов в послеоперационном периоде. Мы выявили неоднородность нейронных реакций и не обнаружили сенситивные нейроны, связанных только с одним типом движения. При этом мы заметили, что реакции при выполнении СИ движений затухали, в отличие от стабильных реакций при выполнении ВВ движений. В локальных потенциалах мы также обнаружили снижение десинхронизации в бета диапазоне при выполнении СИ движений.

**Ключевые слова:** субталамическое ядро, моторный контроль, одиночная активность, локальные потенциалы, болезнь Паркинсона.

## Методика.

В исследование активности сенситивных нейронов STN вошло 12 пациентов с БП в состоянии OFF. Данные активности нейро-

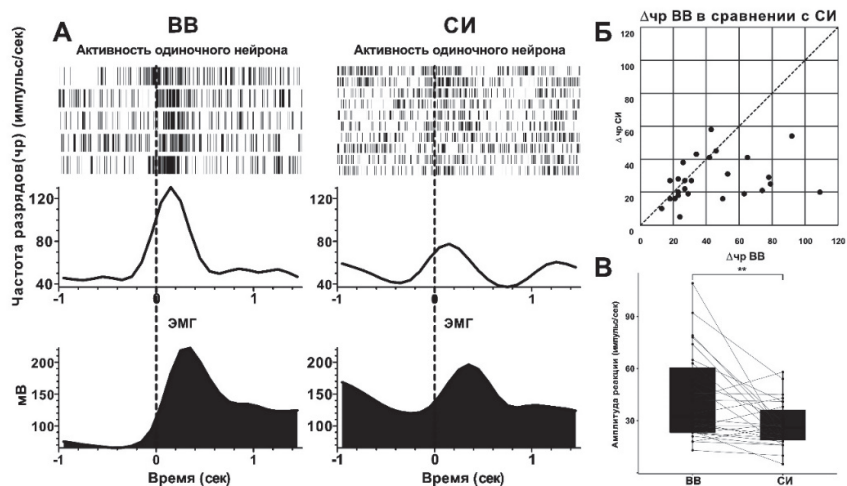
нов STN были получены методом микроэлектродной регистрации во время плановых стереотаксических операций в Центре нейрохирургии им. Бурденко. Параллельно с нейронными записями регистрировали электромиографические (ЭМГ) сигналы от мышц предплечья правой и левой руки с помощью игольчатых электродов, а также фонограмму словесных команд с помощью усилителя биопотенциалов. Сначала регистрировалась спонтанная нейронная активность длительностью не менее 10 секунд, после чего пациентам предъявлялись внешние стимулы — команды “правую/левую руку в кулак сожмите/разожмите”. Длительность удержания руки в кулак составляла 3—5 секунд, количество повторений от 5 до 10 раз. Также пациентов просили сжимать правую/левую руку в кулак самостоятельно в собственном темпе, длительность теста составляла не менее 10 секунд, количество повторений от 5 до 10 раз. Запись популяционной нейрофизиологической активности проводилась у 6 пациентов в послеоперационном периоде одновременно с 16 каналов локальных потенциалов субталамического ядра (по 8 в каждом полушарии). Пациенты выполняли такие же моторные тесты, как и во время операции.

Реакции нейронов оценивались методом построения перистимульных растров и перистимульных гистограмм спайков в сопоставлении с периивентными гистограммами ректифицированных ЭМГ сигналов. Для каждого сенситивного нейрона оценивалась амплитуда реакций, длительность реакций и латентный период. Анализ реакций производили с помощью построения перистимульных гистограмм локальных потенциалов (LFP) и ректифицированного ЭМГ сигнала. Оценивалась амплитуда и длительность десинхронизации бета активности при выполнении ВВ и СИ движений. Статистический анализ проводился с применением непараметрического парного теста Вилкоксона.

### **Результаты.**

Активность нейронов мы разделили на 2 группы в соответствии с типами реакций: активация (76,9 %) или торможение (23,1 %) импульсной активности в ответ на движение. В 90 % случаев активация опережала движение на 0,1—0,3 секунд, амплитуда ответов варьировала от 16 до 109 импульсов в секунду (имп/сек). Пятьдесят три и восемь десятых процента реакций были тоническими (длились на протяжении всего двигательного акта от сжимания до разжимания руки), в то время как 46,2 % оказались фазическими — это короткие реакции, связанные с определенной фазой движения, для-

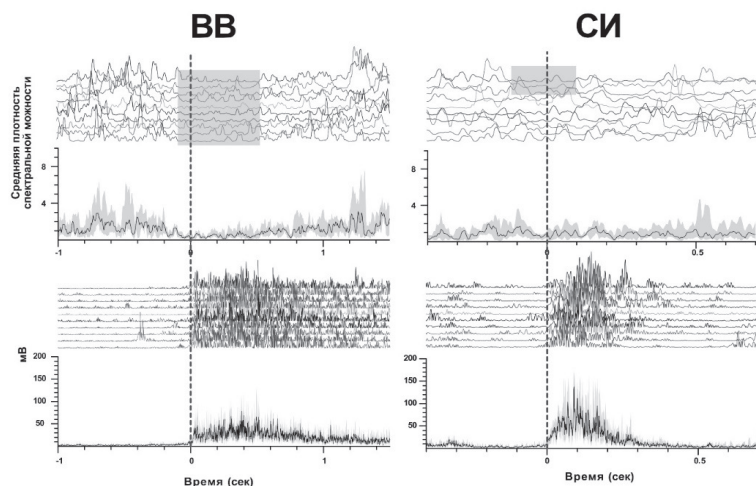
щиеся 0,1—0,5 секунды. В 15,4% случаев нейроны активировались после начала движения с латентностью от 0,05 до 0,2 секунд и амплитудой реакции от 22 до 38 имп/сек. Шестьдесят шесть и семь десятых процента тормозных нейронов характеризовались опережающими реакциями с латентностью от 0,2 до 0,3 секунд и амплитудой от 10 до 31 имп/сек. 33,3% тормозных нейронов реагировали с латентностью от 0,1 с до 0,2 с от начала движения и амплитудой от 40 до 60 имп/сек. 83,3% тормозных нейронов характеризовались тоническими реакциями, а 16,7% — фазическими реакциями. Все фазические реакции были опережающими. Все исследуемые нейроны реагировали как на движения, вызванные внешним стимулом, так и на самоинициированные движения. В отличие от более выраженных и стабильных реакций при ВВ движениях, амплитуда реакций на СИ движения была снижена, а в ряде случаев затухала по мере многократного повторения теста. (медианное значение (Me)  $\Delta$ fr ВВ = 33, Me $\Delta$ fr СИ = 26,  $p = 0,003$  — критерий Уилкоксона для связанных выборок, Рисунок 1).



**Рис. 1.** Реакции одиночных нейронов STN на ВВ и СИ движения у пациентов с БП. А: пример растровых событийно-связанных графиков, периивентная гистограмма нейронных реакций и периивентные ректифицированные ЭМГ для ВВ и СИ движений. Б: точечный график амплитуды реакции (дельта частоты разрядов), ВВ движения (ось X) и СИ движения (ось Y). Каждая точка отображает данные реакции одного нейрона на каждое движение. В: бокс-плоты с парными измерениями реакций нейронов на ВВ и СИ движения.

Спектральный анализ LFP субталамического ядра в послеоперационном периоде показал стабильную во времени десинхронизацию бета активности при ВВ движениях (ERD — event-related desynchronization) продолжительностью 0,5—1 сек, которая предшествовала началу движения на 0,1—0,4 секунды. Также наблюдалась связанная с движением синхронизация бета осцилляций (ERS — event-related synchronization) после разжатия кулака, длившегося 1—1,2 секунды.

При выполнении самоинициированных движений мы наблюдали бета-ERD, предшествующую началу движения на 0,3—0,1 секунды. После завершения движений, наоборот, наблюдали бета-ERS, длящуюся в течение 0,4—1,0 секунды. Амплитуда ERD при СИ была меньше по сравнению с ВВ движениями ( $Me \Delta\beta$  ВВ = 0,42,  $Me \Delta\beta$  СИ = 0,22,  $p = 0,006$  — критерий Уилкоксона для связанных выборок, Рисунок 24). Мы также заметили, что в некоторых случаях реакция ERD на СИ движение постепенно исчезала после первых 2—3 попыток сжать кулак, в отличие от стабильной во времени ERD реакции на ВВ движение (Рисунок 2).



**Рис. 2.** Затухание бета-десинхронизации при повторных СИ движениях у пациентов с БП. Примеры периивентных растровых графиков и периивентных гистограмм спектральной мощности в бета диапазоне и ректифицированной ЭМГ во время СИ и ВВ движений. Ось X: время (сек); ось Y: средняя плотность спектральной мощности (отн.ед.) и ректифицированная ЭМГ (мВ). Черная линия на гистограммах событий отображает медианное значение со стандартным отклонением (показано серым), эпизоды бета-ERD выделены серым прямоугольником.

В некоторых случаях мы также наблюдали тоническую десинхронизацию бета активности во время всего блока повторяющихся СИ движений, которая по мере предъявления тестов восстанавливалась до уровня фоновой бета активности. Кроме того, мы наблюдали заметную бета-ERS после окончания блока двигательных тестов как для ВВ движений, так и для СИ движений.

### **Заключение.**

Гетерогенность нейронных реакций свидетельствует о более сложной функциональной роли STN, чем блокирование движений, предсказываемое классической моделью базальных ганглиев. Большинство клеток характеризовались опережающими реакциями, что указывает на то, что STN играет важную роль в инициации движения. Мы показали снижение амплитуды нейронных ответов STN на повторяющиеся движения СИ, а также снижение и постепенное затухание бета-десинхронизации при выполнении самоиницируемых движений у пациентов с БП по сравнению со стабильными нейронными ответами и бета-ERD при выполнении ВВ движений. Вероятным объяснением этого явления может быть следующее. По-видимому, каждое движение, вызванное внешним сигналом, можно рассматривать как отдельную и законченную двигательную программу, которая каждый раз перезапускается посредством словесной команды и влечет за собой бета-десинхронизацию-синхронизацию. В то же время при самоиницируемых движениях двигательная программа запускается однократно и при нарушении обратной афферентации, наблюдаемом при БП, нейронные ответы в базальных ганглиях постепенно угасают.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ  
(грант 22—15—00344).*

## **ATTENUATION OF NEURAL RESPONSES IN SUBTHALAMIC NUCLEUS DURING INTERNALLY GUIDED VOLUNTARY MOVEMENTS IN PARKINSON'S DISEASE**

Filyushkina V. I.<sup>1</sup>, Belova E. M.<sup>1</sup>, Usova S. V.<sup>1</sup>,  
Tomskiy A. A.<sup>2</sup>, Sedov A. S.<sup>1</sup>

1N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, RAS, Moscow, Russia  
2 Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Ministry of Health,  
Moscow, Russia

**Abstract:** The proposed models of segregated functional loops describe the organization of motor control over externally triggered (ET) and internally guided (IG) movements. The dopamine deficiency in Parkinson's disease (PD) is considered to cause a disturbance in the functional loop regulating IG movements. At the same time, the neural mechanisms of movement performance and the role of basal ganglia in motor control remain unclear. We found and analyzed 26 sensitive neurons in 12 PD patients who underwent surgery for implantation of electrodes for deep brain stimulation. We also analyzed the local field potentials (LFP) of the STN of six patients during the postoperative period. We showed heterogeneity of neuronal responses and did not find sensitive neurons associated with only one type of movement. At the same time, we found attenuation of motor responses during IG movement vs. stable responses during ET movements. LFP analysis also showed attenuation of beta desynchronization during multiple IG movements.

**Keywords:** subthalamic nucleus, motor control, single unit activity, local field potentials, Parkinson's disease

# КОНЦЕПЦИЯ ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ СБОРА И ОБРАБОТКИ ДАННЫХ О РАЗВИТИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА НА ПРЕНАТАЛЬНОМ ЭТАПЕ ОНТОГЕНЕЗА

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-296-300

Харламова А. С.<sup>1</sup>, Прощина А. Е.<sup>1</sup>, Отлыга Д. А.<sup>1</sup>,  
Дремин Е. М.<sup>2</sup>, Савельев С. В.<sup>1</sup>

1 Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А. П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского» Москва, Россия

2 Веб-студия Евгения Дремينا, Новосибирск, Россия

*e-mail: brainmicroscopy@yandex.ru*

**Аннотация:** Атласы мозга широко используются для определения локализации структур мозга, их формы и целого ряда других параметров. Новейшая страница в истории атласов головного мозга — создание мультимодальных цифровых атласов. Но даже наиболее представительные современные проекты на сегодняшний день являются далеко не полными в части данных о внутриутробном созревании мозга человека. Цель нашего проекта создать общедоступную информационную систему и интегрированную базу данных по развитию головного мозга человека. Уже с самого начала база данных должна включать в себя данные по основным структурам головного мозга на разных сроках внутриутробного развития. Такое представление требует создания масштабируемой иерархической системы горизонтальных и вертикальных связей. Разрабатываемая информационная система будет полезна для практической медицины, фундаментальной нейронауки и обучения специалистов медико-биологического направления.

**Ключевые слова:** атлас мозга человека, пренатальное развитие

Атласы мозга широко используются для определения относительной локализации структур мозга, их формы и целого ряда других параметров. Новейшая страница в истории атласов головного мозга — создание так называемых мультимодальных цифровых атласов, которые совмещают в себе изображения целого мозга как на макроморфологическом (в том числе, с применением методов прижизненной визуализации), так и на тканевом, и даже на клеточ-



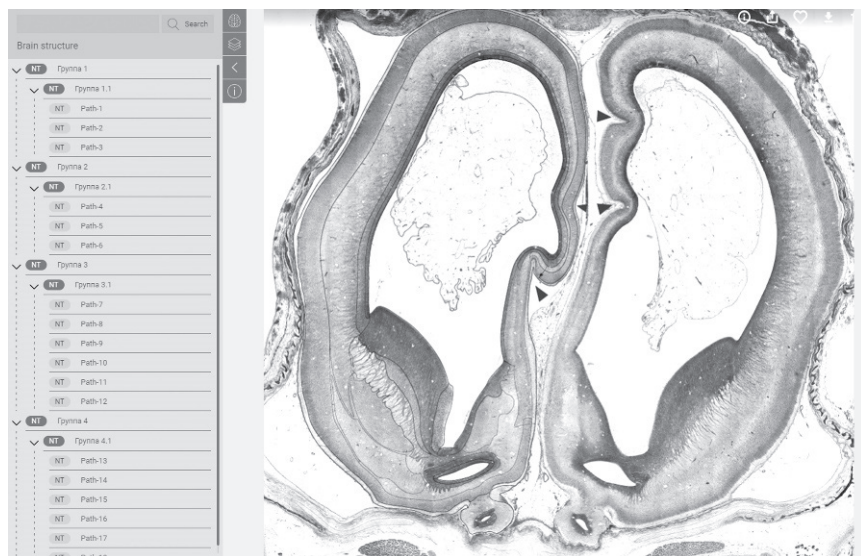
ном уровнях, включают данные гистологических и иммуногистохимических исследований, гибридизации *in situ* и результаты других методов. Развитие мозга человека на пренатальном этапе онтогенеза на сегодняшний день можно считать «terra incognita» современной нейробиологии человека. Большая часть современных атласов, посвященных развитию головного мозга человека, основана на материалах неинвазивных исследований, предоставляющих информацию в основном на макроморфологическом уровне. Исследования мозга эмбрионов и плодов человека на уровне ниже макроморфологического достаточно редки, что связано с целым рядом объективных обстоятельств, связанных как с практикой забора материала, так и с ограничениями законодательного и этического характера. На сегодняшний день даже наиболее представительные современные международные проекты являются далеко не полными в части данных о внутриутробном созревании мозга человека [1].

Цель нашего проекта создать общедоступную информационную систему и интегрированную базу данных по пренатальному развитию головного мозга человека. Полученные результаты будут финализированы в виде Интернет-ресурса с цифровым атласом пренатального морфогенеза головного мозга человека. В центре нашего внимания находятся принципы автоматизации, масштабируемости, конфигурирования и простоты для конечных пользователей. При размещении данных в четко определенных коллекциях по срокам развития обеспечиваются точки доступа к огромному массиву данных; при этом меню фильтрации позволят пользователям просматривать и уточнять данные на основе множества интересующих переменных. Кроме этого, в информационную систему будут интегрированы аннотации к метаданным, чтобы предоставить информацию об образцах и стимулировать внедрение стандартизированной номенклатуры. Основная информация на сайте будет представлена в виде макрофотографий с морфологическим описанием головного мозга на разных сроках развития и виртуальных серий срезов с реализацией технологии создания цифровых образов препаратов для удаленного просмотра без потери качества и разрешения. Атлас будет состоять из аннотированных карт развивающегося мозга человека, полученных с помощью сканирования серийных срезов аутопсий мозга плодов человека на разных стадиях пренатального онтогенеза (от 8 до 40 недель гестационного развития), окрашенных при помощи гистологических методов (гематоксилином и эозином, по Нисслию и по Маллори). Эта базовая рефе-

ренская часть Атласа будет дополнена сериями микрофотографий, иллюстрирующими пространственно-временные изменения региональных профилей иммунофенотипов переднего мозга. Протоколы обработки материала будут представлены в открытом доступе. Мы планируем, что пользователь сможет осуществлять навигацию как по сроку развития плодов, так и по отдельным структурам головного мозга или определенным ключевым методам и маркерам. Информационная система будет функционировать в различных режимах: обзор, запрос и поиск. Режим обзора предназначен для навигации по иерархическому дереву при выборе структуры из базы данных. Режим запроса позволит выбрать структуру с помощью динамических SQL-запросов. Режим поиска обеспечит полнотекстовый контекстный поиск в базе данных структур головного мозга.

Таким образом одной из важнейших задач проекта является разработка адаптируемой структуры для картирования головного мозга человека на разных стадиях пренатального развития. Первый аннотированный цифровой атлас человеческого мозга, включающий изображения целого мозга взрослой женщины, содержит подробные аннотации для 862 структур [2]. В развивающемся мозге плодов человека, с одной стороны, могут быть выделены не все структуры, описанные для взрослого человека, особенно на ранних этапах развития. С другой стороны, на эмбриональном и фетальном этапах развития существуют временные или провизорные структуры. При этом уже с самого начала интегрированная база данных должна включать в себя информацию об основных структурах головного мозга на разных сроках онтогенеза. Для описания каждой структуры должна быть принята общая концептуальная модель представления данных: латинское название, а также общепринятые русское и английское название и наиболее распространенные синонимы, указание принадлежности к определенному отделу головного мозга и (или) группе структур, эволюционное происхождение, общность функции и т.д. Такое предоставление требует создания непротиворечивой масштабируемой иерархической системы горизонтальных и вертикальных связей для аннотирования тех или иных структур развивающегося мозга человека. В ряде случаев потребуются отдельные разъяснения об иных точках зрения на иерархическую принадлежность, онтогенетическое происхождение и функциональные особенности той или иной структуры. Отдельной задачей является разметка оцифрованных препаратов для каждого срока развития с последующим наложением аннотированных схем (рис. 1).

Как и другие базы данных с возможностью пополнения в течении времени, разрабатываемый нами атлас предоставит ключевые наборы данных, на которые можно ссылаться и/или повторно анализировать благодаря их подробным аннотациям к метаданным. Разрабатываемая информационная система будет полезна для практической медицины (особенно в областях неонатологии), фундаментальной нейронауки и во время обучения специалистов медико-биологического направления.



*Рис. 1. Макет страницы атласа с первичной разметкой среза плода 11 недель гестационного развития.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 22—15—00172 «Иммунофенотипическая карта нейрогенеза коры головного мозга человека»*

### **Список литературы:**

1. Ding SL, Royall JJ, Lesnar P, Facer BAC, Smith KA, Wei Y et al. Cellular resolution anatomical and molecular atlases for prenatal human brains. *J Comp Neurol.* 2022;530 (1):6—503. DOI: 10.1002/cne.25243.
2. Ding, s.-l., royall, j. J., sunkin, s. M., ng, l., facer, b. A. c., lesnar, p., guillozet-bongaarts, a., mcmurray, b., szafer, a., dolbeare, t. A., stevens, a., tirrell, l., benner, t., caldejon, s., dalley, r. A., dee, n., lau, c., nyhus, j.,

reding, m., riley, z.L., sandman, d., shen, e., van der kouwe, a., varjabedian, a., write, m., zollei, l., dang, c., knowles, j.A., koch, c., philips, j. W., sestan, n., wohnoutka, p., zielke, h. R., hohmann, j. G., jones, a. R., bernard, a., hawrylycz, m.J., hof, p. R., fischl, b. And lein, e.S. (2016), comprehensive cellular-resolution atlas of the adult human brain. *J. Comp. Neurol.*, 524: 3127—3481. Doi:10.1002/cne.24080

## COLLECTION AND PROCESSING OF DATA ON THE HUMAN BRAIN DEVELOPMENT DURING THE PRENATAL ONTOGENESIS

A. S. Kharlamova<sup>1</sup>, Proshchina A. E.<sup>1</sup>, OtlygaD. A.<sup>1</sup>,  
Dremin E. M.<sup>2</sup>, S. V. Saveliev<sup>1</sup>

1 Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”, Moscow, Russia

2 Dremin web Studio, Novosibirsk, Russia

**Abstract:** The Human Brain Atlases are widely used for structure localization, its definitions, comparative purposes and so on. The recent tendency of the brain mapping is development of the multimodal interactive digital atlases. Nevertheless, even the most worldwide modern projects on the human brain are restricted in the part of the brain prenatal development and maturation. The main goal of our project is creation of the online data source with integrated database on the human brain development. Already early in the project, such source should include data on the main brain structure on the all periods of the prenatal ontogenesis from early fetal stages to postnatal ones. Such representation of the atlas data requires development of the scalable hierarchical system with horizontal and vertical network for each structure. This source will be useful for the medicine practice, also as for fundamental neuroscience and education of the biomedicine specialists.

**Keywords:** human brain atlas, prenatal development

## НАРУШЕНИЯ ПАМЯТИ В ОСТРОМ И ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-301-307

Шальнева Д. В.<sup>1</sup>, Комольцев И. Г.<sup>1,2</sup>, Франкевич С. О.<sup>1,2</sup>,  
Волкова А. А.<sup>1</sup>, Широбокова Н. И.<sup>1</sup>, Салып О. Ю.<sup>1</sup>,  
Башкатова Д. А.<sup>1</sup>, Костюнина О. В.<sup>1</sup>, Чижова О. А.<sup>1</sup>,  
Кострюков П. А.<sup>1</sup>, Беликова А. А.<sup>1,2</sup>, Балан С. И.<sup>1,2</sup>,  
Новикова М. Р.<sup>1</sup>, Гуляева Н. В.<sup>1,2</sup>

1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской  
Академии Наук», Москва, Россия

2 ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр  
им. З. П. Соловьёва ДЗМ, Москва, Россия  
*e-mail: dariashal1999@gmail.com*

**Аннотация:** Целью настоящего исследования является оценка изменения гиппокамп-зависимой пространственной рабочей памяти и эпизодической памяти у крыс в остром и отдаленном периоде черепно-мозговой травмы у крыс. Мы провели ряд поведенческих тестов и сравнили их результаты для трех группы самцов крыс линии Спрег-Доули (n=51): контроль (n=9), ложнооперированные (проведена краниотомия) (n=16), и ЧМТ (проведена краниотомия и нанесен латеральный гидродинамический удар) (n=26). Полученные данные позволяют судить о нарушении эпизодической памяти в остром периоде после ЧМТ (тест распознавания нового объекта) и нарушении пространственной памяти в отдалённом периоде ЧМТ (тест Барнес). Позднее развитие этих нарушений может являться следствием постепенно развивающегося дистантного повреждения гиппокампа, показанного нами в предыдущих исследованиях.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, поведение, память, гиппокамп.

### **Введение.**

Большинство пациентов, перенёсших черепно-мозговую травму, страдают от осложнений в отдалённом периоде, которые вклю-

чают в себя нарушения памяти. Ранее мы демонстрировали билатеральное повреждение гиппокампа в остром периоде ЧМТ у крыс [1]. Можно предположить, что такое повреждение гиппокампа ассоциировано с нарушениями гиппокамп-зависимой пространственной рабочей и долговременной памяти. В данной работе мы изучили поведенческие изменения в остром и отдаленном периодах на модели ЧМТ у крыс.

### **Материалы и методы.**

Эксперимент проведён на 51 самце крыс линии Спрег-Доули. Крыс разделили на группы: ЧМТ (n=26), ложнооперированные (ЛО, n=16), контроль (n=9). Операции проводили под ингаляционным изофлурановым наркозом (1—3 %). Краниотомное отверстие (AP = 3 мм, L = 3 мм, диаметр 3 мм) делали в правой теменной кости. ЧМТ моделировали при помощи латерального гидродинамического удара (жидкостно-перкусионной травмы мозга), силой 2,5—3,0 атм., после полного выхода крысы из наркоза. Для изучения поведенческих нарушений использовали тесты: открытое поле (ОП) [2], приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) [3], тест на распознавание нового положения объекта (РПО) [4], тест на распознавание нового объекта (РНО) [4], лабиринт Барнес [5]. Поведенческие тесты проводили в остром периоде (7 дней после ЧМТ), а также в отдалённом периоде (через 3 мес. после ЧМТ). Все тесты проводили в остром периоде ЧМТ (первая неделя после травмы) и через 3 месяца после ЧМТ. Тесты регистрировали на видеокамеру. Видеофайлы поведенческих тестов обрабатывали с помощью программы Noldus EthoVision XT.

Тест Барнес использован для оценки обучаемости и пространственной долговременной памяти у крыс. В основе теста лежит способность крыс ориентироваться в пространстве по визуальным ориентирам, а также их стремление исследовать окружающую территорию и искать укрытия. Тест проводили на круглой, светлой арене с большим числом «ложных» отверстий — углублений, окрашенных в черный цвет, — а также одним настоящим отверстием, ведущим в темную камеру. Вокруг арены расположены визуальные ориентиры — черные геометрические фигуры: треугольник, квадрат, круг и крест. Животное сажали в центр арены. Фиксировали время поиска крысой действительного отверстия, а также тип поисковой стратегии. Крыса обычно проявляет один из трех типов стратегии: хаотичную (проверка отверстий в случайном порядке), по-

следовательную (проверка отверстий по очереди по или против часовой стрелки) и целенаправленную (движение к действительному отверстию). Тест проводили в три этапа. Барнес-1 проводили до хирургических операций. Тест состоял из семидневной серии: один тест на первый день, по два обучающих теста со второго по шестой день, и один контрольный тест на седьмой день. Барнес-2 проводили в остром периоде ЧМТ, тест состоял из трехдневной серии по одному тесту в день. Барнес-3 проводили через 3 мес после ЧМТ, при этом изменяя условия проведения теста: арену поворачивали относительно визуальных ориентиров на 180 град. Тест представлял собой семидневную серию, по одному тесту в сутки. Длительность каждого теста — 5 минут.

ПКЛ представляет собой крестообразную арену, два противоположных рукава которой ограничены высокими бортиками с двух сторон, а два других имеют свободные края. В начале теста крысы помещают в центр арены. Фиксировали время пересечения крысой зоны центра, длительность нахождения ее в закрытых и открытых рукавах, ее среднюю скорость, частоту опускания головы за пределы поля и вставания на задние лапы, частоту переходов между зонами. О высоком уровне тревожности свидетельствуют такие показатели, как меньшая частота переходов между зонами, опусканий головы и вставания на задние лапы, более пролонгированный период первого ухода из центра. Длительность теста — 5 минут.

Тесты на распознавание нового положения объекта (РПО) и на распознавание нового объекта (РНО) позволяют выявить у крыс изменения состояния пространственной и эпизодической памяти. В первый день серии тестов проводили 10-минутное привыкание крыс к арене без объектов. Животное помещали в квадратную арену, ограниченную высокими бортами. Регистрировали среднюю скорость и пройденную дистанцию, что может свидетельствовать о степени активности животного. Сессии РПО и РНО проводили на следующий день, тест включал в себя 3 сессии по 5 минут с 20-минутными временными интервалами между ними. В 1-ю сессию (обучающую) на арену помещал 2 одинаковых предмета (объект А и объект В). Во вторую сессию (РПО) объект В переставляли в противоположный угол арены. В третью сессию (РНО) объект В заменяли на новый предмет, отличный по форме и цвету от объекта А. Регистрировали показатели, отражающие активность изучения животным объектов, а именно: частоту подходов к каждому предмету и длительность обнюхивания. Фиксировали также сред-

ную скорость, пройденную дистанцию и частоту пересечения зон. Считали дискриминационный индекс, как разницу времени обнюхивания объектов А и В, поделённую на суммарное время обнюхивания двух объектов.

Тест ОП использовали для оценки тревожности у крыс. В основе теста лежат противоположные тенденции в поведении грызунов — предпочтение укрытия открытому пространству с одной стороны и стремление исследовать свое окружение — с другой. Соотношение времени, проведенного на открытом пространстве со временем, проведенным в укрытии, говорит об уровне тревожности животного. Для теста использовали круглую арену, ограниченную высокими бортиками по краям, «мешенеобразно» разделённую на три сектора: центральный, внутренний кольцевой и периферический. Крысу помещали в центр арены. Фиксировали время, проведенное животным в каждом из секторов; последовательность и частоту переходов животного из сектора в сектор; скорость перемещения животного и общее пройденное расстояние; уровень активности животного, частоту проявлений исследовательского поведения (вставание на задние лапки — вертикализацию) отдельно в центре арены и на периферии с опорой на стену арены; частоту дефекаций и мочеиспускания. Длительность теста — 5 минут.

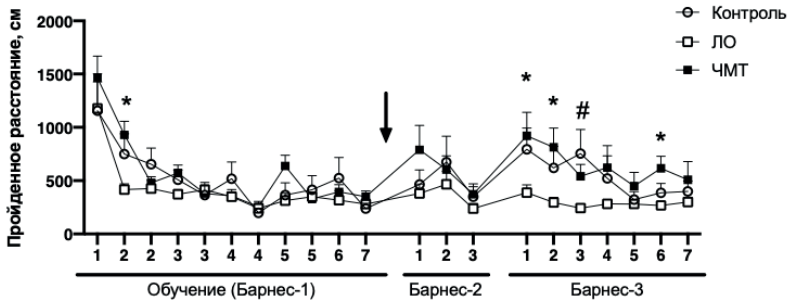
### **Результаты.**

В остром периоде ЧМТ мы не выявили когнитивных нарушений в тесте Барнес. Через 3 месяца после ЧМТ по сравнению с крысами группы ЛО наблюдали статистически значимое увеличение времени обнаружения истинного отверстия и входа в нору после обнаружения на 1 и 2 день тестирования, а так же увеличение пройденной дистанции на 1, 2 и 6 день теста.

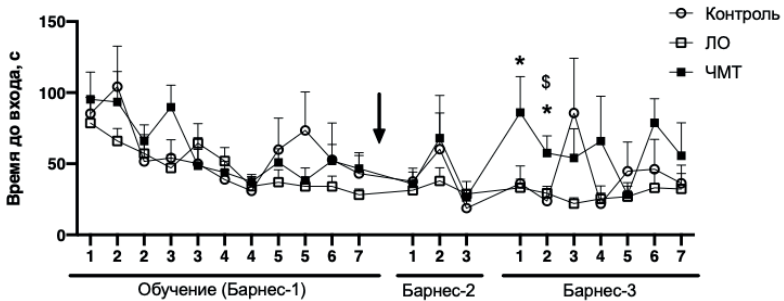
В остром периоде ЧМТ в тесте РНО была выявлена тенденция к различию времени изучения нового объекта между группами ЧМТ и ЛО ( $24.4 \pm 6.28$  с и  $47.7 \pm 7.78$  с,  $p=0.043$ ). Дискриминационный индекс так же отличался между группами ЧМТ, ЛО и контролем: ЧМТ  $-0.227 \pm 0.112$ , ЛО  $0.170 \pm 0.157$  ( $p=0.083$ ) и контроль  $0.187 \pm 0.190$  ( $p=0.094$ ), соответственно. Тест РПО не показал достоверных различий по показателю дискриминационного индекса, однако есть достоверное различие абсолютных значений времени изучения перемещенного объекта: ЧМТ  $67.4 \pm 14.1$  с, ЛО  $48.0 \pm 7.69$  с ( $p=0.022$ ), контроль  $67.4 \pm 14.1$  с ( $p=0.013$ ).



А



Б



**Рис. 1.** Нарушение пространственной памяти в тесте Барнес у крыс в отдалённом периоде ЧМТ. А — пройденное расстояние до истинной норки. Б — Время до входа в истинную норку. \* —  $p < 0.05$ , ЧМТ против ЛО (ANOVA, пост-хок тест Тьюки), \$ —  $p < 0.05$ , ЧМТ против контроля, (ANOVA, пост-хок тест Тьюки), # —  $p < 0.05$ , ЛО против контроля, (ANOVA, пост-хок тест Тьюки).

В отдаленном периоде ЧМТ в тесте РНО обнаружена тенденция к различию в частоте подходов к новому объекту, причем крысы группы ЧМТ проявляли интерес к новому объекту чаще, чем крысы группы ЛО ( $12.2 \pm 1.80$  и  $7.07 \pm 1.31$  подходов,  $p = 0.081$ ). Дискриминационный индекс и время изучения не показали достоверных отличий.

В тесте ПКЛ в остром периоде группа ЧМТ отличается от группы ЛО и контроля: преобладает время нахождения в светлых рукавах и частота переходов между этими зонами и центром. Через 3 месяца у всех крыс вне зависимости от группы уменьшается активность, число переходов, время и доля пребывания в открытых рукавах и увеличивается время и доля нахождения в закрытых. Наличие ЧМТ не оказывало влияния на эти изменения. В тесте

ОП статистически значимых различий между группами ЧМТ, ЛО и контроль выявлено не было.

### **Выводы.**

Полученные данные позволяют судить о нарушении эпизодической памяти в остром периоде после ЧМТ (тест распознавания нового объекта). Нарушения пространственной памяти в отдалённом периоде ЧМТ были выявлены в тесте Барнес. Позднее развитие этих нарушений может являться следствием постепенно развивающегося дистантного повреждения гиппокампа, показанного нами в предыдущих исследованиях.

*Поддержано грантом РФФ № 22—25—00713.*

### **Список литературы:**

1. Komoltsev IG, Frankevich SO, Shirobokova NI, Volkova AA, Onufriev MV, Moiseeva JV, Novikova MR, Gulyaeva NV. Neuroinflammation and Neuronal Loss in the Hippocampus Are Associated with Immediate Posttraumatic Seizures and Corticosterone Elevation in Rats. *Int J Mol Sci.* 2021 May 30;22 (11):5883. doi: 10.3390/ijms22115883.
2. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol Biol.* 2019;1916:99—103. doi: 10.1007/978—1-4939—8994—2\_9.
3. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. *Methods Mol Biol.* 2019;1916:69—74. doi: 10.1007/978—1-4939—8994—2\_4.
4. Denninger JK, Smith BM, Kirby ED. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. *J Vis Exp.* 2018 Nov 20; (141):10.3791/58593. doi: 10.3791/58593.
5. Pitts MW. Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. *Bio Protoc.* 2018 Mar 5;8 (5): e2744. doi: 10.21769/bio-protoc.2744.

# MEMORY IMPAIRMENT IN THE ACUTE AND LATE PERIOD AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY IN RATS

Shalneva D. V.<sup>1</sup> Komoltsev I. G.<sup>1,2</sup>, Kostryukov P. A.<sup>1</sup>,  
Frankevich S. O.<sup>1,2</sup>, Volkova A. A.<sup>1</sup>, Shirobokova N. I.<sup>1</sup>,  
Salyp O. Yu.<sup>1</sup>, Bashkatova D. A.<sup>1</sup>, Kostyunina O. V.<sup>1</sup>,  
Chizhova O. A.<sup>1</sup>, Belikova A. A.<sup>1,2</sup>, Balan S. I.<sup>1,2</sup>,  
Novikova M. R.<sup>1</sup>, Gulyaeva N. V.<sup>1,2</sup>

1 Dept. of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences

2 Moscow Research and Clinical Center for Neuropsychiatry

**Abstract:** The current study aims to examine hippocampal-dependent spatial working memory and object recognition memory in acute and delayed period after traumatic brain injury (TBI) in rats. We provided a set of behavioral tests and compared its results for 3 groups of Sprague-Dawley rats: control (n=9), Sham-operated (craniotomy was performed) (n=16) and TBI (craniotomy and lateral fluid percussion was performed) (n=26). According to the results we suggest that object recognition memory was damaged in early period after TBI (novel object recognition test) and spatial memory decreased in delayed period after TBI (Barnes maze test). Delayed progression of these harmful effects may be a result of gradual worsening of hippocampal damage, as demonstrated in our earlier studies.

**Keywords:** traumatic brain injury, behavior, memory, hippocampus

# УЧАСТИЕ МИКРО-РНК В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-308-310

Шамаева С. А.<sup>1</sup>, Ереско С. О.<sup>1,2</sup>, Айрапетов М. И.<sup>2,3</sup>

1 Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет  
2 Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет  
3 Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия  
*E-mail: shamaevasofy@gmail.com*

**Аннотация:** Проведён анализ исследований, в которых представлены сведения об изменениях в содержании различных микро-РНК (англ. miRNAs) в головном мозге в условиях длительной алкоголизации. Всё большее внимание исследователей привлекают изменения нейроиммунных механизмов, возникающих в мозге при длительной алкоголизации, которые приводят к развитию нейротоксичности и последующей нейродегенерации [1]. Однако точные механизмы активации нейродегенеративного процесса в ЦНС остаются малоизученными [2]. Особое внимание уделяется потенциалу miRNAs в объяснении полигенной природы алкоголизма. В данной работе рассматривается роль miRNAs в развитии нейродегенеративных процессов и приводятся примеры miRNAs, уровень содержания которых повышается при длительной алкоголизации.

**Ключевые слова:** мозг, нейровоспаление, алкоголь, miRNAs

## Цель работы.

Анализ исследований, в которых представлены сведения об изменениях в содержании miRNAs в головном мозге в условиях длительной алкоголизации.

## Материалы и методы.

Анализ научных статей выполнялся в PubMed по ключевым словам — brain neuroinflammation, alcohol, miRNAs. Было проанализировано 20 статей за 2009—2022 гг.

## Результаты.

Нами были проанализированы данные по исследованию тех miRNAs, изменения в которых наиболее специфично отражают изменения в ЦНС при длительном потреблении этанола. Выполненный

анализ литературы показал, что уровень содержания ряда miRNAs может изменяться в головном мозге в ответ на хроническое потребление алкоголя [3]. Так, miR-let-7 активирует TLR7 в клетках микроглии [4]. В одной из работ показано, что представитель этого же семейства — miR-let-7 индуцировал гибель нейрональных клеток посредством TLR7-зависимым путем, тем самым участвуя в активации путей гибели нейрональных клеток, а повышение уровня цитокина IL-6 в префронтальной коре головного мозга крыс имело положительную корреляцию с дефицитом miR-let-7 [5]. Важные роль в регуляции нейровоспаления в условиях длительной алкоголизации были показаны для miR-155 и miR-132, активация путей синтеза которых в мозжечке мышей приводила к опосредуемому TLR4 развитию нейровоспаления, что выражалось в повышении продукции провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и MCP1 [6,7]. Кроме того, имеются небольшие сведения, что помимо участия в активации системы врожденного иммунитета в ЦНС некоторые подтипы miRNAs могут принимать участие в патогенетических механизмах формирования аддикции к этанолу. Так, подавление miR-411 путем введения «AntagomiR-411» в префронтальную кору самок мышей снижало уровень добровольного потребления алкоголя в двухпоилочном тесте [8].

### **Выводы.**

Анализ выполненных исследований позволил нам выделить ряд miRNAs (miR-let7, miR-411, miR-155, miR-132), изменения в содержании которых имеет взаимосвязь с патогенетическими механизмами, наблюдаемыми в ЦНС в условиях длительного потребления алкоголя. Однако точное понимание путей этих молекулярных взаимодействий еще предстоит выяснить. Понимание этих взаимодействий на молекулярном уровне может послужить для разработки новых фармакологических средств, направленных на коррекцию тех патологических изменений в головном мозге, которые развиваются в условиях длительного потребления алкоголя.

### **Список литературы:**

1. George O, Sanders C, Freiling J, Grigoryan E, Vu S, Allen CD, Crawford E, Mandyam CD, Koob GF. Recruitment of medial prefrontal cortex neurons during alcohol withdrawal predicts cognitive impairment and excessive alcohol drinking. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:18156—18161.

2. Airapetov M, Eresko S, Lebedev A, Bychkov E, Shabanov P. The role of Toll-like receptors in neurobiology of alcoholism. *Biosci Trends*. 2021;15 (2):74—82.
3. Lim Y, Beane-Ebel JE, Tanaka Y, et al. Exploration of alcohol use disorder-associated brain miRNA-mRNA regulatory networks. *Transl Psychiatry*. 2021;11 (1):504.
4. Lehmann SM, Krüger C, Park B, et al. An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. *Nat Neurosci*. 2012;15 (6):827—835.
5. Wei YB, Liu JJ, Villaescusa JC, et al. Elevation of Il6 is associated with disturbed let-7 biogenesis in a genetic model of depression. *Transl Psychiatry*. 2016;6 (8): e869.
6. Tili E, Croce CM, Michaille JJ. miR-155: On the crosstalk between inflammation and cancer. *Int Rev Immunol*. 2009;28: 264—284.
7. Lippai D, Bala S, Csak T, Kurt-Jones EA, Szabo G. Chronic alcohol-induced microRNA-155 contributes to neuroinflammation in a TLR4-dependent manner in mice. *PLoS One*. 2013;8 (8): e70945.
8. Most D, Salem NA, Tiwari GR, Blednov YA, Mayfield RD, Harris RA. Silencing synaptic MicroRNA-411 reduces voluntary alcohol consumption in mice. *Addict Biol*. 2019;24 (4):604—616.

## PARTICIPATION OF MICRO-RNA IN THE DEVELOPMENT OF BRAIN PATHOLOGY UNDER PROLONGED ALCOHOLIZATION

Shamaeva S. A. <sup>1</sup>, Eresko S. O. <sup>1,2</sup>, Airapetov M. I. <sup>2,3</sup>

1 St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University

2 St. Petersburg State Pediatric Medical University

3 Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

**Abstract:** An analysis was made of studies that provide information on changes in the content of various miRNAs in the brain under conditions of prolonged alcohol abuse. The increasing attention of researchers is attracted by changes in neuroimmune mechanisms that occur in the brain during prolonged alcohol abuse, which lead to the development of neurotoxicity and subsequent neurodegeneration [1]. However, the exact mechanisms of activation of the neurodegenerative process in the CNS remain poorly understood [2]. Particular attention is paid to the potential of miRNAs in explaining the polygenic nature of alcoholism. This paper discusses the role of miRNAs in the development of neurodegenerative processes and provides examples of specific miRNAs, the level of which increases during prolonged alcoholization.

**Keywords:** brain, neuroinflammation, alcohol, miRNAs

# ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ БАЗОЛАТЕРАЛЬНОЙ МИНДАЛИНЫ КРОЛИКА ПРИ ПРЕДЪЯВЛЕНИИ ЗООСОЦИАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-311-317

Шамсиев И. Д.<sup>1</sup>, Крайнев В. Д.<sup>1</sup>, Жиганов Л. С.<sup>1,2</sup>,  
Бородачева Ю. В.<sup>1,2</sup>

1 ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия

2 Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

*e-mail: ildarshamsiev.al@gmail.com*

**Аннотация:** В данной работе предлагается экспериментальная парадигма для изучения нейрональных механизмов восприятия сложных зоосоциальных стимулов кролика, а также описываются пилотные результаты, полученные с ее помощью. Парадигма основана на наблюдении зафиксированным животным, имплантированным хроническими микроэлектродами для регистрации электрофизиологической активности, животного-демонстратора, которое выполняет инструментальный условный рефлекс, а также реализует другие поведенческие паттерны. Такой подход обеспечивает повторяющееся предъявление наблюдателю экологически адекватных и не адекватных визуальных стимулов. Из полученных пилотных результатов следует, что нейроны базолатеральной миндалины можно разделить по профилю поведенческих паттернов, которые вызывают у них ответ в виде изменения средней частоты разряда на время предъявления, кратковременных изменений частоты разряда в начале предъявления паттерна или изменения паттерна разряда.

**Ключевые слова:** экологически адекватные зоосоциальные стимулы, базолатеральная миндалины, хроническая микроэлектродная регистрация, кролики.

## **Введение:**

Изучение нейрональных механизмов зоосоциального взаимодействия является одним из ключевых направлений современной нейронауки. Выявление нейронных сетей, обеспечивающих эти взаимодействия, имеет как самостоятельно фундаментальное, так и непосредственно-практическое значение. Необходимым призна-

ком зоосоциального взаимодействия является контакт животного с конспецификом или группой конспецификов опосредованный какой-либо сенсорной модальностью. Таким образом, вопрос об идентификации нейронных сетей, реализующих распознавание и оценку зоосоциальных стимулов, является одним из ключевых для изучения зоосоциального поведения. Отдельный интерес для нас представляет зрительная модальность, во многом потому, что она является доминирующей у человека. Основными модельными животными в том числе для изучения восприятия зоосоциальных стимулов являются грызуны, но, учитывая экологические условия их обитания, их выбор не является вполне оптимальным. Напротив, экологические условия обитания кроликов предполагают гораздо большее участие зрительной модальности в зоосоциальном поведении. Многочисленные этологические исследования [2] позволяют предположить, что кролики активно используют зрительную систему для обеспечения внутригрупповой иерархии, и, что более важно, поддержания территориальности на открытой ровной местности. Среди структур, участвующих в обработке зоосоциальной информации, в последние годы проявляется особый интерес к миндалине: ее медиальные [1] и базолатеральные области [3] изучались в непосредственной связи с восприятием зоосоциальных стимулов, в том числе, в последнем случае, конкретных этологических событий («микроструктуры поведения»). В ходе эволюции миндалина стала полисенсорным центром, реализующим в первую очередь оценку субъективной значимости стимула [4]. Таким образом, базолатеральная миндалина кролика представляется нам наиболее перспективной областью для изучения нейрональных механизмов восприятия натуралистичных визуальных зоосоциальных стимулов.

### **Материалы и методы.**

Применяемая экспериментальная парадигма состояла в следующем: кролики были разделены на две группы: демонстраторов и наблюдателей. Демонстраторы были поэтапно обучены выполнению инструментальной условно-рефлекторной (ИУР) деятельности с пищевым подкреплением — выполнению нажатия на педаль в ответ на звук. Поведение демонстраторов в экспериментальной камере записывалось на видео. 3 кроликам-наблюдателям в правую базолатеральную миндалину по стереотаксическим координатам был имплантирован пучок из 32 микроэлектродов (NiCr проволока, диаметр 18 мкм).



В ходе эксперимента бодрствующий наблюдатель находился в ограничительном контейнере, его голова была неподвижно зафиксирована и ориентирована левым глазом к экспериментальной камере, в которой кролик-демонстратор выполнял ИУР и другие поведенческие паттерны. Регистрация электрофизиологической активности проводилась с помощью проводной системы IntanRHDи программы OpenEphys. Выделение спайков отдельных юнитов из электрофизиологического сигнала производилось вручную с помощью программы PlexonSorter. Поведение демонстратора стадировалось вручную по видеозаписи, выделялись различные типы поведенческих паттернов. Затем активность юнитов анализировалась относительно предъявления каждого типа поведенческого паттерна (ПП).

### **Результаты.**

В данной работе мы хотели бы остановиться на характеристике активности нейронов головного мозга при предъявлении сложных зоосоциальных стимулов (поведения демонстратора) в течение одного эксперимента, однако рассмотреть различные параметры этой активности с целью получить наиболее полное понимание нейрофизиологических процессов, протекающих в изучаемой структуре. В рамках рассматриваемого эксперимента с 32 каналов было выделено 34 различных юнита. ПП демонстратора были разделены на 4 группы: к первой группе мы отнесли пищевое поведение (поедание подкрепления из кормушки и пережевывание), ко второй — пассивное экологически адекватное поведение (расслабленная поза, сидение), к третьей — активное экологически адекватное поведение (стойки и обнюхивание), и, наконец, к четвертой группе — активное экологически не адекватное поведение, связанное непосредственно с выполнением ИУР деятельности (нажатие на педаль и повороты между педалью и кормушкой).

Первым параметром для рассмотрения было выбрано отношение частоты разряда отдельного юнита в течение периодов предъявления определенного ПП к средней частоте разряда этого юнита в течение всего эксперимента. Наш анализ показал, что выделенные юниты делятся на три типа в соответствии с паттерном изменения частоты их разряда во время различных ПП. К первому типу (21 ю., 61.76 %) были отнесены относительно стабильные юниты, максимальные изменения частоты разряда которых в ответ на отдельные ПП ограничивалось диапазоном от 0.75 до 1.5 р. от средней частоты юнита. Ко второму типу (9 ю., 26.47 %) были отнесены юниты,

продемонстрировавшие большую вариабельность частоты разряда (увеличение в 1.5—2 р. или уменьшение в 0.5—0.75 раз). К третьему типу (4 ю., 11.77 %) относятся юниты, наиболее интенсивно меняющие частоту разряда на отдельные ПП — более, чем в 2 раза, или менее, чем в 0.5 раз. В рамках типов наблюдалось разнообразие ответов: как группы юнитов, так и отдельные юниты отвечали изменением частоты разряда на различные стимулы, часто не связанные между собой во времени или в рамках предложенной выше классификации. Так, в первом, «стабильном» типе была выявлена группа юнитов (N=5), увеличивающая активность в ответ на «расслабленную позу» и «стойки», и снижающая в ответ на «сидение», а также группа юнитов (N=4), достаточно селективно увеличивающая частоту разряда на «сидение». Во втором типе была обнаружена интересная группа юнитов (N=3), вероятно, связанная с кодированием «спокойных» состояний конспецифика, так как ее юниты значительно увеличивали частоту разряда во время «сидения» (x1.75) и «спокойной позы» (x1.5), при этом снижая активность во время «поворотов» (x0.75) и «жевания» (x0.5). Помимо этих трех групп, остальные юниты имели индивидуальные профили изменения частоты в ответ на различные ПП. Основываясь на приведенной выше классификации групп поведенческих паттернов и изменениях активности юнитов на отдельные ПП, мы определили, что на активные экологически адекватные стимулы реагирует 17.64 % юнитов, на пассивные экологически адекватные — 35,29 %, на активные экологически не адекватные — 11,76 %, а на пищевые — 8,83 % юнитов. По причине сложного распределения изменений частоты мы также были вынуждены ввести две новых группы: смешанные экологически адекватные стимулы (включают пищевые ПП и ПП, относящиеся к экологически адекватным) — 20,59 % юнитов, и смешанные экологически не адекватные стимулы (состоят из пищевых ПП и поведение, связанное с ИУР) — 5,89 % юнитов. Интересно отметить, что юниты, реагирующие на смешанные экологически адекватные стимулы, были обнаружены только в первой, «стабильной» группе. Важными промежуточными выводами из полученных данных являются следующие: во-первых, юниты в базолатеральной миндалине, за редким исключением, модулируют свою активность в ответ на несколько стимулов различной экологической адекватности. Во-вторых, большинство обнаруженных юнитов меняют свою активность в ограниченном диапазоне (0.75 – 1.5 раз) и демонстрируют относительную стабильность частоты разряда в ответ на дру-

гие стимулы, а юнитов с ярко выраженным ответом меньшинство. В-третьих, неожиданное большое ответ среди юнитов вызывают пассивные ПП (35.29%), причем к этому типу относятся 2 юнита, демонстрирующие выраженный ответ, в то время как на наиболее экологически значимый тип стимулов — пищевые — меняют свой разряд только 8,83% юнитов.

Вторым параметром является ответ юнита непосредственно на появление стимула. Такие ответы были обнаружены у 38.23% (13) юнитов, причем в 92.3% случаях эти ответы были связаны со снижением, и только в 1 случае ответ был связан с увеличением частоты разряда. Интересно, что такие реакции вызывали практически исключительно ПП, связанные с выполнением ИУР: “нажатие на педаль” (3 юнита), “поворот” (3 юнита), “поедание подкрепления из кормушки” (4 юнита), “жевание” (5 юнитов), и (не связанные с ИУР) стойки (1 юнит). При этом ПП, предъявление которых запускало такую реакцию, не соответствовали ПП, вызывающим изменение средней частоты разряда этого же юнита. Этот результат позволяет предположить, что одни и те же юниты разными типами своей активности могут кодировать несколько типов информации, в том числе, такой сложной, как разные ПП, относящиеся к разным группам.

В качестве третьего параметра мы выбрали распределение межспайковых интервалов, отражающее паттерн активности юнита –его «тонический» или «фазический» компоненты. На основе общего анализа данных мы определили диапазон «фазических» межспайковых интервалов от 0 до 50 мс, а диапазон «тонических» от 50 до 200 мс. Сравнение проводилось между распределением межспайковых интервалов спайков, попавших в периоды предъявления определенного ПП, и распределением межспайковых интервалов юнита на всем протяжении эксперимента. Наиболее яркое проявление изменения паттерна разряда юнитов происходило во время предъявления «спокойной позы», которое неожиданно было связано с увеличением «фазического» компонента у 11 юнитов (32.35%), причем все эти юниты относились к первому, «стабильному» типу. Напротив, «потребление подкрепления» и «пережевывание» вызывали усиление «тонического» компонента (у 5 и 8 юнитов, соответственно). Более противоречивым ПП является «нажатие на педаль»– оно вызвало увеличение «фазического» компонента у 6 юнитов и увеличение «тонического» компонента у других 5 юнитов. Возникновение двух-модового распределения

межспайковых интервалов наиболее сильно проявилось при предъявлении ПП «поворота» у 5 юнитов. Такой результат может, с одной стороны, частично объяснить «стабильность» средней частоты разряда юнитов первого типа — они могут передавать информацию за счет изменения пропорции «фазических» и «тонических» компонентов в разряде юнитов. С другой стороны, такие изменения демонстрируют большую гибкость возможностей реакции юнитов на сложные зоосоциальные стимулы, которыми являются ПП.

### **Выводы и обсуждение.**

Предоставленных материалов безусловно недостаточно для формулирования каких-либо общих выводов, однако мы сформулируем некоторые частные. Во-первых, сумма полученных данных позволяет утверждать, что нейроны базолатеральной миндалины, реагируют на зрительные стимулы, так как модуляция частоты, ответы на начало предъявления и изменения пропорции «тонических» и «фазических» происходят в том числе в ответ на поведенческие паттерны, не сопряженные с какими-либо звуками. Во-вторых, обнаруженные нейроны различаются как по типу активности (большая «стабильность» или интенсивность ответа), так и по ПП, вызывающим изменения их активности, причем большинство нейронов реагируют на группу ПП, не всегда связанных таким признаком, как активность или экологическая адекватность. В-третьих, было обнаружено значительное разнообразие в способах реакции на сложные зоосоциальные стимулы (ПП): помимо изменения средней частоты были обнаружены не коррелирующие с ней кратковременные изменения частоты разряда после начала предъявления ПП и изменения паттерна активности нейрона, связанного со сдвигом пропорции между «фазическим» и «тоническим» компонентами частоты разряда. Наконец, необходимо отметить неожиданное количество реакций, которые вызывает «спокойная поза», как на уровне изменения средней частоты, так и на уровне изменения паттерна активности. Напротив, основные события, на начало которых нейроны реагируют кратковременным изменением активности (преимущественно вытормаживанием), относятся к выполнению инструментальной условно-рефлекторной реакции демонстратором. Таким образом, в данной работе мы предлагаем экспериментальную парадигму и метод анализа данных, которые могут позволить изучать широкий спектр нейрональных процессов, лежащих в основе восприятия зоосоциальных стимулов.

## Список литературы:

1. Li Y., Mathis A., Grewe B.F., Osterhout J.A., Ahanonu B., Schnitzer M.J., Murthy V.N., Dulac C. Neuronal Representation of Social Information in the Medial Amygdala of Awake Behaving Mice//Cell. 2017. V.17. № 5. P.1176—1190
2. Lockley R.M. Social structure and stress in the rabbit warren//Journal of Animal Ecology. 1961. V.30. № 2. P. 385—423
3. Mazuski C., O’Keefe J. Representation of ethological events by basolateral amygdala neurons//Cell. 2022. V. 39. № 10. 110921
4. Modi M. E., Sahin M. A unified circuit for social behavior.//Neurobiol Learn Mem. 2019. V.165. 106920

# CHARACTERISTICS OF THE ACTIVITY OF THE RABBIT BASOLATERAL AMYGDALA NEURONS WHEN PRESENTING ZOOSOCIAL STIMULES: A PILOT STUDY

Shamsiev I. D.<sup>1</sup>, Krainev V. D.<sup>1</sup>, Zhiganov L. S.<sup>1,2</sup>,  
Borodacheva Yu. B.<sup>1,2</sup>

1 IVND and NF RAS, Moscow, Russia

2 Moscow State University M. V. Lomonosov

**Abstract:** We propose an experimental paradigm for studying neural mechanisms of complex social stimuli perception in rabbit and present pilot data obtained using it. The paradigm consists in the following: one animal, chronically implanted with microelectrodes for electrophysiological recording, is observing another animal (presenter), which performs an instrumental conditioned task and also displays other behavioural patterns. Our approach thus provides the observing animal with repetitive ecologically adequate and inadequate social stimuli. Pilot data suggests that basolateral amygdala neurons can be divided on the basis of their responses to behavioural patterns consisting in mean burst frequency changes during pattern presentation, short-term changes in burst frequency immediately after pattern presentation onset or shifting bursting pattern and ‘phasic’-‘tonic’ components balance.

**Keywords:** ecologically adequate social stimuli, basolateral amygdala, recording using chronically implanted microelectrodes, rabbits

## ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА IGFBP2 В КОРЕ МОЗГА ГРЫЗУНОВ

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-318-321

Швадченко А. М., Баль Н. В., Иерусалимский В. Н.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
*e-mail: sckrat.belka@gmail.com*

**Аннотация:** В последнее время внимание нейробиологов привлечено к исследованию роли инсулин/инсулиноподобных факторов роста (insulin-like growth factors, IGFs), а также компонентов IGF-инсулиновой системы, так как имеются данные об участии некоторых этих компонентов в механизмах обучения и памяти. Например, существуют исследования, указывающие на роль таких генов как IGF2 [1] (инсулиноподобного фактора роста 2), Irs1 (субстрат инсулинового рецептора 1) [2], Irs2 (субстрат инсулинового рецептора 2) [3, 4], а также на роль белка IGFBP2 [5] в регуляции работы нервной системы, памяти и синаптической пластичности. Ранее в нашей работе, мы рассматривали экспрессию ряда генов и белков — компонентов IGF-инсулиновой системы, в ходе чего нами были получены данные о ядерной локализации белка IGFBP2 в коре мозга изучаемых нами животных (крыс и мышей), что может быть важно для дальнейшего изучения роли этой системы в обучении и памяти.

**Ключевые слова:** инсулиновая система, белки, ядерная фракция, кора мозга, Вестерн-блот.

IGFBP2 — белок 2, связывающий инсулиноподобные факторы роста, широко распространённый в разных отделах мозга и связанный с процессами формирования мозга. [5]

### **Цель.**

В текущем эксперименте изучалась локализация белка IGFBP2 в коре мозга взрослых крыс линии Wistar и мышей дико-го типа линии 5XFAD.

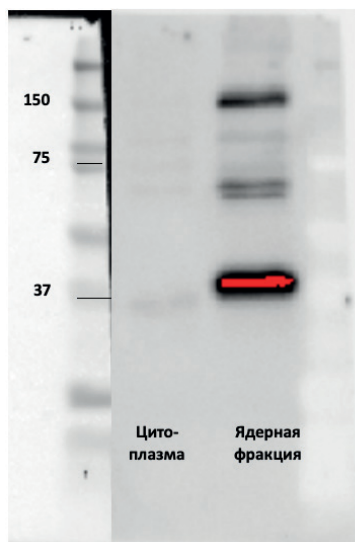
### **Методы.**

Для изучения локализации белка IGFBP2 суспензию, полученную из коры мозга животных, разделяли на ядерную и цитоплазматическую фракции методом последовательного центрифугирования

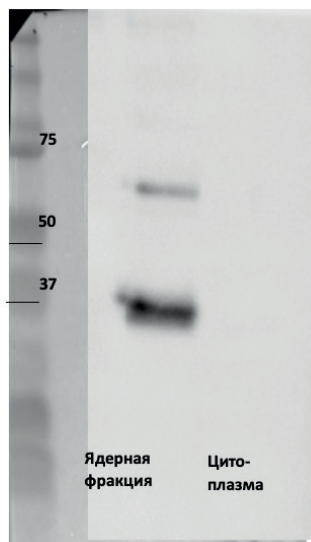
проб в растворах с разной концентрацией сахарозы. Для получения одного образца и последующего белкового анализа было взято одно животное при выделении коры из крыс и 2-е животных при выделении из мышей. Наличие белка в ядерной и цитоплазматической фракции оценивалось с помощью метода Western Blot. Также для оценки локализации исследуемого белка IGFBP2 проводилось иммуногистохимическое окрашивание срезов мозга на белок IGFBP2.

### Результаты.

В данном эксперименте при анализе полученных проб с помощью Western было обнаружено наличие нескольких изоформ белка IGFBP2 (длиной в ~70 кДа и 37 кДа) в ядерной фракции, в то время как в цитоплазматической фракции данные изоформы белка отсутствовали (Рис. 1 и Рис. 2).



*Рис.1.* Окрашивание ядерной и цитоплазматической фракции, полученной из коры мозга крысы антителами против IGFBP2. Данные получены с помощью метода Western Blot.



*Рис.2.* Окрашивание ядерной и цитоплазматической фракции, полученной из коры мозга мышей антителами против IGFBP2. Данные получены с помощью метода Western Blot.

Подобные результаты мы наблюдали как при анализе проб, полученных из коры мозга крысы, так и при анализе проб, полученных из коры мозга мышей. При иммуногистохимическом окрашивании

срезом мозга антителами против IGFBP2 была также определена ядерная, но не цитоплазматическая локализация исследуемого белка.

### **Выводы.**

Полученные данные указывают на ядерную локализацию белка IGFBP2 в коре мозга крыс и мышей, при этом масса полученных изоформ белка составляла ~70 и 35 кДа.

### **Список литературы:**

1. Chen, D. Y, Stern, S. A, Garcia-Osta, A., Saunier-Rebori, B., Polonini, G., et al. (2011) A critical role for IGF-II in memory consolidation and enhancement, *Nature*, 469, 491—497, doi: 10.1038/nature09667.5
2. Zhao, W.Q., Chen, H., Quon, M.J., and Alkon, D.L. (2004) Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory, *Eur.J. Pharmacol.*, 490, 71—81, doi: 10.1016/j.ejphar.2004.02.045.
3. Schubert, M., Brazil, D., Burks, D., Kushner, J., Ye, J., et al. (2003) Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes tau phosphorylation, *J. Neurosci.*, 23, 7084—7092, doi: 10.1523/JNEUROSCI.23—18—07084.2003.
4. Irvine, E.E., Drinkwater, L., Radwanska, K., Al-Qassab, H., Smith, M. A., et al. (2011) Insulin receptor substrate 2 is a negative regulator of memory formation, *Learn. Mem.*, 18, 375—383, doi: 10.1101/lm.2111311.
5. Khan, S. (2019) IGFBP-2 signaling in the brain: from brain development to higher order brain functions, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 10, 822, doi: 10.3389/fendo.2019.00822.

## **STUDYING OF IGFBP2 PROTEIN LOCALIZATION IN CEREBRAL CORTEX OF RODENTS**

**Shvadchenko A. M., Bal N. V., Ierusalimsky V. N.**

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS (IHNA&NPh RAS), Cellular Neurobiology of Learning Lab, Moscow, Russia

**Abstract:** Nowadays the neuroscientists are highly interested in studying the role of insulin/insulin-like growth factors (insulin-like growth factors, IGF) and other components of the IGF-insulin system, as there is a number of



evidences that emphasises the participation of these components in learning and memory formation. For example, some studies investigated the role of genes such as Igf2 [1] (insulin-like growth 2), Irs1 (insulin receptor substrate 1) [2], Irs2 (insulin receptor substrate 2) [3, 4], and the role of IGFBP2 protein in the nervous system regulation [5], memory formation and synaptic plasticity. Earlier during our research we explored the expression of some genes and proteins — the components of insulin-like growth system and we defined the nuclear localization of IGFBP2 protein in the cerebral cortex of studied animals (rats and mice). This investigation may be important for further studying of this system's role in learning and memory processes.

**Keywords:** insulin system, proteins, nuclear fraction, cerebral cortex, Western Blot

# ИЗМЕРЕНИЕ КИНЕТИКИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ОСНОВНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ОТВЕТ НА КОРОТКИЙ ЗРИТЕЛЬНЫЙ СТИМУЛ ПРИ ПОМОЩИ ПРОТОННОЙ МРС

DOI 10.24412/CL-36993-2022-1-322-328

Яковлев А. Н.<sup>1,2,3</sup>, Грицкова А. В.<sup>4</sup>, Ублинский М. В.<sup>1,2</sup>,  
Манжурцев А. В.<sup>1,2,4</sup>, Меньщиков П. Е.<sup>3</sup>, Ахадов Т. А.<sup>1,4</sup>,  
Семенова Н. А.<sup>1,2,3,4</sup>

1 Научно-исследовательский институт неотложной детской  
хирургии и травматологии

2 Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н. Н. Семенова РАН

3 Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН

4 Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова  
*e-mail: yakovlevalekcej@bk.ru*

**Аннотация:** В настоящей работе получены временные зависимости уровней ГАМК (GABA) и Glx (сумма глутамата и глутамина) после предъявления короткого трехсекундного зрительного стимула. Для определения уровней нейромедиаторов использовался метод магнитно-резонансной спектроскопии. Обнаружено увеличение уровня Glx на 1-ой секунде после предъявления стимула и быстрое снижение к исходному уровню. Уровень ГАМК так же увеличивается на 1—3 секундах, после чего снижается к исходному уровню. Использование короткого стимула позволило наблюдать быстрые изменения уровня нейромедиаторов, которые не могут быть связаны с метаболическими процессами. Поэтому обнаруженные изменения уровней этих нейромедиаторов в первые секунды после предъявления стимула, скорее всего, связаны с высвобождением нейромедиаторов из везикул и их последующим возвращением в них.

**Ключевые слова:** глутамат, ГАМК, МРС, зрительный стимул, фМРТ

## Введение.

Глутамат (Glu) и  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) являются основными нейромедиаторами (возбуждающим и тормозным, соответственно). В исследованиях с использованием единичного стимула изменение Glu в коротком периоде времени интерпретируют вы-

пуском нейромедиатора из везикул, так как метаболические процессы имеют низкую скорость для обнаруженных изменений концентраций порядка 0,5—1 мМ. В большинстве работ с использованием длительного стимула (от 30 с) изменения, в основном, связывают с метаболизмом. К настоящему времени, нет работ показывающих возвращение уровня Glu к исходному уровню, и нет работ, описывающих быстрое изменение концентрации ГАМК в ответ на короткую стимуляцию. Поскольку ГАМК также является нейромедиатором и упакован в везикулы, при вовлечении тормозных процессов в обработку зрительного стимула, ожидается увеличение интенсивности ЯМР сигнала ГАМК в коротком периоде. Последующая кинетика будет характеризовать возвращение ГАМК в везикулы. Целью данной работы является получение кинетики уровней нейромедиаторов в ответ на короткий зрительный стимул при помощи 1 H-MPC.

### **Материалы и методы**

Все данные фМРТ и протонной MPC получены при помощи 3 T томографа Philips Achieva Stream. В исследовании приняло участие 33 и 25 здоровых волонтера для измерения GABA и Glu, соответственно. Для зрительной активации использовалась мерцающая с частотой 8 Гц шахматная доска в блоках (3 с — стимуляция, 13.5/21s — черный экран (GABA/Glx); 15 раз для фМРТ и 40 — MPC). ФМРТ-изображения получены при помощи GE EPI со следующими параметрами TR/TE = 3000/40 мс, угол отклонения = 90°, разрешение = 2.4×2.4 мм, толщина среза = 4 мм, число срезов = 30 (83 накопления). Спектры для измерения GABA получены при помощи импульсной последовательности MEGA-PRESS (TR/TE = 1500/68 мс, NSA = 802, 30×40×25 мм), для Glx — PRESS (TR/TE = 2000/35 мс, NSA = 432, 20×30×20 мм) и локализованы в активированной области зрительной коры. Ширина линии и высота сигналов метаболитов определена из аппроксимации резонансных линий Cr (3 м. д.) и NAA (2 м. д.). Количественная обработка спектров выполнена при помощи LCmodel. После перераспределения данных и усреднения, получены 12/11 значений Glx/ГАМК в периоде ответа на зрительную стимуляцию (в том числе и сам период стимуляции), а для ГАМК получены значения «до» и «после» 10-минутного периода предъявления стимуляции. Уровни нейромедиаторов нормированы Cr, для исключения влияния BOLD-эффекта на уровни нейромедиаторов. Все значения Glx/Cr и GABA/Cr сравнивались со значением, наиболее отдаленным по времени от стимула при помощи параметрического метода Fishers LSD (для Glx) и непараметрического теста

Данна (для GABA). Множественные сравнения скорректированы методом Бенжамини-Хошберга (FDR-adjusted) [1] though, has faults, and we point out a few. A different approach to problems of multiple significance testing is presented. It calls for controlling the expected proportion of falsely rejected hypotheses- the false discovery rate. This error rate is equivalent to the FWER when all hypotheses are true but is smaller otherwise. Therefore, in problems where the control of the false discovery rate rather than that of the FWER is desired, there is potential for a gain in power. A simple sequential Bonferroni type procedure is proved to control the false discovery rate for independent test statistics, and a simulation study shows that the gain in power is substantial. The use of the new procedure and the appropriateness of the criterion are illustrated with examples.”;author”: [{"dropping-particle”:””;family”:”Benjamini”;given”:”Yoav”;non-dropping-particle”:””;parse-names”:false;suffix”:””}],{"dropping-particle”:””;family”:”Hochberg”;given”:”Yosef”;non-dropping-particle”:””;parse-names”:false;suffix”:””}],container-title”:”Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological), уровень значимости принять на уровне  $q < 0.05$ .

### **Результаты.**

Измерение ширин и высот резонансных линий Cr и NAA в динамике ответа на стимуляцию выявило изменение этих величин, причем максимальное изменение достигается к 6-ой секунде. Ширины линий этих метаболитов уменьшаются, а высоты — увеличиваются. Усредненные по группе значения хорошо коррелируют с функцией стандартного гемодинамического ответа. Спектры были уширены на среднее сужение резонансных линий в каждой временной точке. Не все кривые коррелировали с кривой стандартного гемодинамического ответа для некоторых испытуемых. Корреляций значений амплитуд изменений ширин и высот линий Cr и NAA (4 выборки) не наблюдается.

В результате предъявления стимуляции наблюдается статистически значимое увеличение Glx/Cr (Glu+Gln) на 1-ой (+14%,  $q = 0.006$ ) и 15-ой (+10%,  $q = 0.04$ ) секундах (рис. 1 а). Уровень ГАМК/Cr статистически значимо увеличивается на 1.6 (+3%,  $q = 0.03$ ) и 3.1 с (+5%,  $q = 0.047$ ) после предъявления стимула после чего постепенно возвращается к исходному уровню (рис. 1 б).

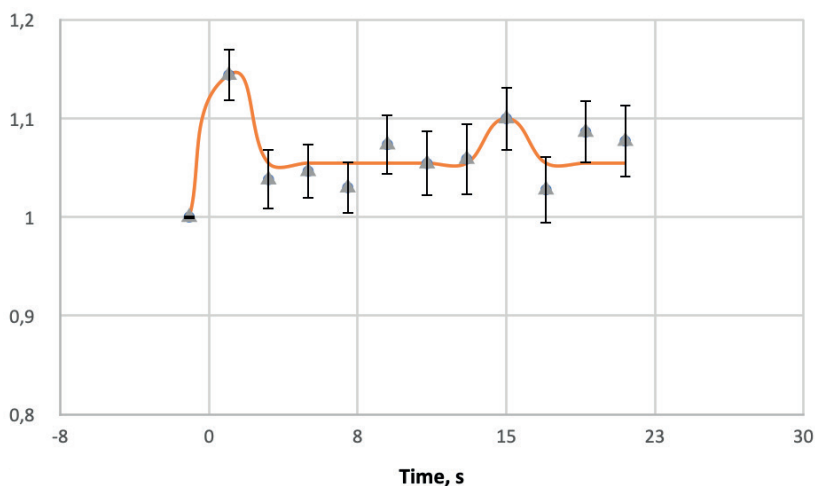
### **Обсуждение**

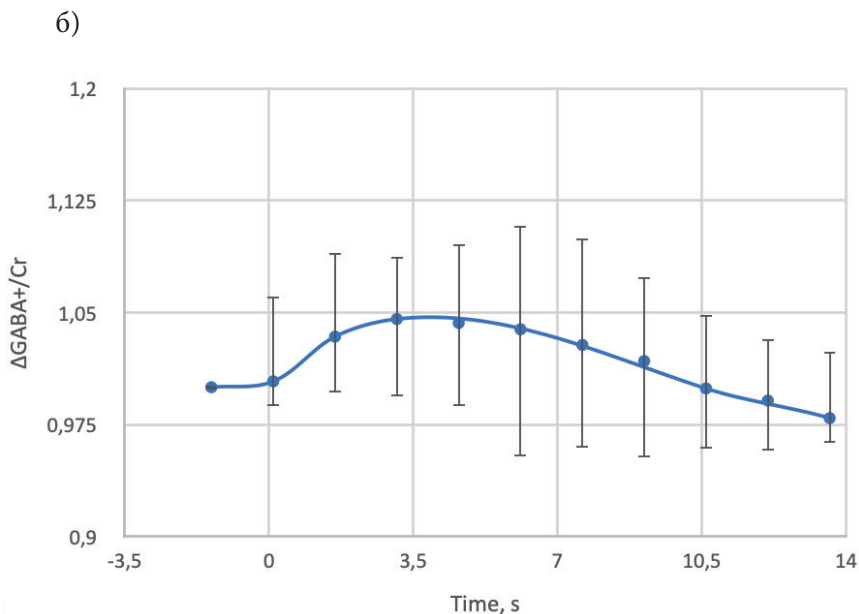
Изменение ширин линий и высот резонансных линий Cr и NAA повторяет кривую гемодинамического ответа, поэтому можно

считать, что эти изменения вызваны BOLD-эффектом. Таким образом, наше исследование демонстрирует применимость протонной МРС для измерения BOLD-ответа, в том числе и его временных характеристик, в группе испытуемых. К сожалению, на индивидуальном уровне определение BOLD-эффекта при помощи МРС в настоящий момент невозможно.

Полученные изменения уровней нейромедиаторов в первые секунды после применения стимула показывают, что они, скорее всего, связаны с высвобождением нейромедиаторов из везикул. Изначально (до стимула) нейромедиаторы в и вне везикул находятся в спектроскопическом вокселе, поэтому концентрация нейромедиаторов не изменяется в результате высвобождения из везикул. Однако существует предположение, что везикулярный нейромедиатор имеет значительно менее интенсивный сигнал для используемого времени эха (35—68 мс) из-за меньшего времени релаксации T<sub>2</sub>, поэтому данный пул называют «невидимым» [2]. Уменьшение уровня нейромедиаторов к исходному уровню после роста объясняется упаковкой нейромедиатора в везикулы. Обнаруженное нами увеличение Glx [3] также найдено и в других работах с использованием болевого и когнитивного стимулов [4], в то время как увеличение уровня GABA обнаружено впервые.

а)





**Рис. 1.** Зависимость усредненных по группе испытуемых  $Glx/Cr$  (а) и  $GABA/Cr$  (б), нормированных на последнее значение во временном ряду (на обоих рисунках оно показано с отрицательным значением времени). За нулевое значение времени  $t = 0$  с принято время начала предъявления стимула.

Сопоставление уровней нейромедиаторов (а также их изменений) с BOLD-эффектом, измеренным как по данным МРС, так и по данным фМРТ, не выявило каких-либо статистически значимых корреляций.

### **Обсуждение.**

Изменение ширины линий и высот резонансных линий  $S_{gr}$  НААповторяет кривую гемодинамического ответа, поэтому можно считать, что эти изменения вызваны BOLD-эффектом. Таким образом, наше исследование демонстрирует применимость протонной МРС для измерения BOLD-ответа, в том числе и его временных характеристик, в группе испытуемых. К сожалению, на индивидуальном уровне определение BOLD-эффекта при помощи МРС в настоящий момент невозможно.

Полученные изменения уровней нейромедиаторов в первые секунды после применения стимула показывают, что они, скорее всего, связаны с высвобождением нейромедиаторов из везикул. Из-

начально (до стимула) нейромедиаторы в и вне везикул находятся в спектроскопическом вокселе, поэтому концентрация нейромедиаторов не изменяется в результате высвобождения из везикул. Однако существует предположение, что везикулярный нейромедиатор имеет значительно менее интенсивный сигнал для используемого времени эха (35—68 мс) из-за меньшего времени релаксации T<sub>2</sub>, поэтому данный пул называют «невидимым» [2]. Уменьшение уровня нейромедиаторов к исходному уровню после роста объясняется упаковкой нейромедиатора в везикулы. Обнаруженное нами увеличение Glx [3] также найдено и в других работах с использованием болевого и когнитивного стимулов [4], в то время как увеличение уровня GABA обнаружено впервые.

### **Список литературы:**

1. Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J R Stat Soc Ser B Methodol* 57:289—300.
2. Kauppinen RA, Pirttila TRM, Auriola SOK, Williams SR (1994) Compartmentation of cerebral glutamate in situ as detected by <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C n. m. r. *Biochem J* 298:121—127.
3. Yakovlev A, Manzhurtsev A, Menshchikov P, Ublinskiy M, Melnikov I, Kupriyanov D, Akhadov T, Semenova N (2022) Functional Magnetic Resonance Spectroscopy Study of Total Glutamate and Glutamine in the Human Visual Cortex Activated by a Short Stimulus. *Biophysics* 67:265—273.
4. Mullins PG (2018) Towards a theory of functional magnetic resonance spectroscopy (fMRS): A meta-analysis and discussion of using MRS to measure changes in neurotransmitters in real time. *Scand J Psychol* 59:91—103.

## **MEASUREMENT OF THE KINETICS OF CONCENTRATIONS OF MAJOR NEUROTRANSMITTERS IN RESPONSE TO A SHORT VISUAL STIMULUS USING PROTON MRS**

**Yakovlev<sup>1,2,3</sup>, A. Gritskova<sup>4</sup>, A. Manzhurtsev<sup>1,3,4</sup>,  
M. Ublinskii<sup>1,3,4</sup>, P. Menszhsikov<sup>3</sup>, T. Akhadov<sup>1,4</sup>,  
N. Semenova<sup>1,2,3,4</sup>**

1 Clinical and Research Institute of Emergency Paediatric Surgery and Traumatology, Moscow, Russian Federation

2 Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

3 Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

4 Moscow State University, Moscow, Russian Federation

**Abstract:** In this work, the time dependences of GABA and Glx levels (the sum of glutamate and glutamine) were obtained after the presentation of a short three-second visual stimulus. To determine the levels of neurotransmitters, the method of magnetic resonance spectroscopy was used. An increase in the level of Glx was found at the 1st second after the presentation of the stimulus and a rapid decrease to the initial level. The level of GABA also increases for 1—3 seconds, after which it decreases to its original level. The use of a short stimulus made it possible to observe rapid changes in the level, which cannot be associated with metabolic processes. Therefore, the detected changes in the levels of these neurotransmitters in the first seconds after the presentation of the stimulus are most likely associated with the release of neurotransmitters from vesicles.

**Keywords:** glutamate, GABA, MRS, visual stimulus, fMRI





*Электронное научное издание*

## **СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

**XXVI НАУЧНОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ  
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО ФИЗИОЛОГИИ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ  
И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ  
(26-27 октября 2022 года)**

*Разработано с помощью программного обеспечения  
Microsoft Office Word, Adobe Acrobat Pro*

*Издано в авторской редакции.*

Компьютерная верстка *В.Р. Хованской*  
Дизайн обложки *В.Р. Хованской*

Подписано к использованию 15.12.2022. Объем издания 3,2 Мб.  
Гарнитура Minion Pro.

Издательство ООО «Квант Медиа»  
125475, г. Москва, ул. Дыбенко, д. 26, корп. 3, к. 80  
[www.kvantmedia.ru](http://www.kvantmedia.ru)