

ISSN 0044-4677

Том 73, Номер 4

Июль - Август 2023



ЖУРНАЛ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

имени И.П. Павлова



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 73, номер 4, 2023

Обзоры и теоретические статьи

Показатели нейропластических и функциональных перестроек при восстановлении двигательной функции в ходе реабилитации после инсульта

И. Р. Федотова, П. Д. Бобров, А. А. Кондур 435

Нейровоспаление и иммунные нарушения в механизмах развития болезни Паркинсона

Г. В. Идова, Е. Л. Альперина, С. Я. Жанаева 454

Физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека

Динамика теменно-затылочного альфа-ритма головного мозга при сравнении длительностей временных интервалов

А. О. Рогачёв, О. В. Сысоева 479

Динамика сенсомоторного ритма ЭЭГ при мысленном повторении за наблюдаемым движением

А. Н. Васильев, А. Е. Маковская, А. Я. Каплан 490

Анализ мозговой и мышечной активности при управлении кортико-спинальным нейроинтерфейсом

*Е. В. Боброва, В. В. Решетникова, А. А. Гришин, Е. А. Вершинина,
М. Р. Исаев, Д. Р. Пляченко, П. Д. Бобров, Ю. П. Герасименко* 510

Физиологические механизмы поведения животных: восприятие внешних стимулов, двигательная активность, обучение и память

Обратные тормозные связи через ГАМК-В-рецепторы синхронизируют интериктальные разряды в коре

В. Г. Марченко, М. И. Зайченко 524

Экспериментальная патология высшей нервной деятельности

Салифен предотвращает вызванные перинатальной гипоксией нарушения способности к обучению и изменения экспрессии ГАМК_B-рецепторов в неокортексе крыс

*В. И. Миронова, А. В. Притворова, В. К. Акулова, В. А. Михайленко,
В. А. Отеллин, Л. И. Хожай, Н. Э. Ордян* 537

Возрастные и половые особенности поведения пренатально стрессированных крыс в черно-белой модификации поведенческой модели "Суок-тест"

О. Н. Кулешова 550

Методика

Способ обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, регистрирующей уровень внеклеточного дофамина

*В. В. Сизов, А. А. Лебедев, С. С. Пюрвеев, Е. Р. Бычков,
В. Н. Мухин, А. В. Дробленков, П. Д. Шабанов* 563

Contents

Vol. 73, No. 4, 2023

Reviews and theoretical articles

- Indices of neuroplasticity and functional reorganization in motor function recovery after stroke
I. R. Fedotova, P. D. Bobrov, and A. A. Kondur 435
- Neuroinflammation and immune dysfunction in the pathogenesis of Parkinson's disease
G. V. Idova, E. L. Alperina, and S. Ya. Zhanaeva 454
-

Physiology of higher nervous (mental) activity in humans

- Dynamics of the parietal-occipital alpha rhythm activity during comparison of visual stimuli durations
A. O. Rogachev and O. V. Sysoeva 479
- Dynamics of the EEG sensorimotor rhythm during mental repetition of the observed movement
A. N. Vasilyev, A. E. Makovskaya, and A. Ya. Kaplan 490
- Analysis of brain and muscle activity during control of brain-spine neurointerface
E. V. Bobrova, V. V. Reshetnikova, A. A. Grishin, E. A. Vershinina, M. R. Isaev, D. R. Plyachenko, P. D. Bobrov, and Yu. P. Gerasimenko 510
-

Physiology of behavior: perception, locomotion, learning and memory

- Reverse inhibitory connections through GABA B-receptors synchronize interictal discharges in the cortex
V. G. Marchenko and M. I. Zaichenko 524
-

Experimental pathology of higher nervous activity

- Salifen prevents perinatal hypoxia-induced cognitive impairments and changes in GABA_B receptor expression in the rat neocortex
V. I. Mironova, A. V. Pritvorova, V. K. Akulova, V. A. Mikhailenko, V. A. Otellin, L. I. Khozhai, and N. E. Ordyan 537
- Age and sex characteristics of the behavior of prenatally stressed rats in a black-and-white modification of the behavioral model "Suok-test"
O. N. Kuleshova 550
-

Methods

- Method for training electrical self-stimulation in response to head elevation in rats by a telemetry system that registers extracellular dopamine levels
V. V. Sizov, A. A. Lebedev, S. S. Pyurveev, E. R. Bychkov, V. N. Mukhin, A. V. Drobenkov, and P. D. Shabanov 563
-
-

УДК 612.821

ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОПЛАСТИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ В ХОДЕ РЕАБИЛИТАЦИИ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА

© 2023 г. И. Р. Федотова¹, П. Д. Бобров^{1, 2, *}, А. А. Кондур³

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

²Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

*e-mail: bobrov.pavel@ihna.ru

Поступила в редакцию 25.01.2023 г.

После доработки 27.02.2023 г.

Принята к публикации 27.02.2023 г.

В статье представлены обзорные данные по изменению показателей, полученных из многоканальной ЭЭГ, МРТ, фМРТ и диффузионной тензорной трактографии у больных после инсульта в процессе двигательного восстановления. Рассмотрены основные показатели, которые чаще всего анализируются в литературе, посвященной изменениям в головном мозге, происходящим как в ходе традиционной двигательной реабилитации, так и при применении реабилитационных процедур, использующих технологию “интерфейс мозг—компьютер”. Изменение обсуждаемых показателей отражает динамику вовлеченности полушарий, отдельных областей мозга и связей между ними в решение двигательной задачи и является проявлением как мгновенных функциональных перестроек работы сети, так и реальных нейропластических (структурных) изменений в мозге. Обсуждается функциональная роль полушарий, отдельных областей и связей между областями в процессе двигательной реабилитации после инсульта.

Ключевые слова: инсульт, двигательная реабилитация, ЭЭГ, МРТ, фМРТ, диффузионная тензорная трактография, коэффициент латеральности, функциональная и эффективная связность

DOI: 10.31857/S0044467723040044, EDN: VZBVCC

ВВЕДЕНИЕ

Изучение изменений работы мозга при восстановлении движения парализованной конечности у больных после инсульта связано с определенными трудностями. Известно, что инсульты являются гетерогенным синдромом, различаются между собой по патогенезу, локализации, обширности поражения, картинам разрушений и клинической картине, а следовательно, и путям двигательного восстановления, которые фактически являются уникальными для каждого больного. Кроме того, наличие сопутствующей патологии и индивидуальные особенности когнитивной и психической сфер непосредственно влияют на ход восстановления движения у пациентов после инсульта. Как будет показано ниже, учет некоторых из перечисленных

особенностей инсульта может позволить исследовать общую картину хода восстановления для той или иной группы больных и, возможно, сделать прогнозы об успешности восстановления уже на начальном этапе реабилитации. К настоящему времени накоплено достаточное количество исследований для того, чтобы составить представление о ходе восстановления движения парализованной конечности после инсульта, оценить вклад пораженного и условно сохранного полушария и отдельных областей мозга в реализацию компенсаторных возможностей как в ходе обычной реабилитации с использованием базовых методов воздействия (индивидуальные занятия ЛФК, физиотерапевтическое лечение), так и реабилитации с применением специальных высокотехнологических методов реабилитации, таких как интерфейс

мозг-компьютер (ИМК) или транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС).

Раннее восстановление после инсульта связано с улучшением перфузии ткани головного мозга, снятием отека и уменьшением каскада местных воспалительных реакций (Клинические рекомендации МЗ РФ 2020 г. (Stinear, Byblow, 2014)), в то время как более позднее восстановление связано, главным образом, с растормаживанием дублирующих нейронных цепей, вовлечением функционально гомологичных путей и созданием нейронных связей для восполнения функций поврежденных нейронов (Ackerley, Stinear et al., 2011; Murphy, Corbett, 2009; Rossini, Altamura et al., 2007). Вероятно, это может находить отражение в дополнительной активации областей мозга, участвующих в движении, вовлечении новых областей, а также усилении или ослаблении связей внутри областей и между областями.

В исследованиях на животных описаны свидетельства реальных структурных изменений в мозге в процессе восстановления после инсульта. Так, модели инсульта у приматов (белых обезьян) показали, что после очагового повреждения области преддвигательной кисти в первичной моторной коре корковое преддвигательство пальца может распространиться на неповрежденную кору, которая ранее была занята преддвигательством плеча и локтя (Nudo, Wise et al., 1996). Кроме того, у таких обезьян было выявлено существенное увеличение преддвигательства кисти в вентральной премоторной коре (Frost, Barbay et al., 2003), пропорциональное разрушению в первичной моторной коре. Также у приматов после очагового повреждения области преддвигательства кисти в первичной моторной коре нейроны вентральной премоторной коры по прошествии времени формировали новые терминалы с выжившими нейронами в околоочаговой зоне (Dancause, Barbay et al., 2005).

Целостность трактов белого вещества количественно оценивается, как правило, с помощью метода диффузионной тензорной трактографии (Koch, Schulz et al., 2016). При этом мерой целостности белого вещества является фракционная анизотропия, более низкая в поврежденных участках белого вещества (Chen, Ni et al., 2008; Mori, Zhang, 2006). Результаты, рассмотренные в обзоре (Koch, Schulz et al., 2016), показывают, что в процессе реабилитации, например, в помощь разрушенному кортикоспинальному тракту

приходят кортико-руброспинальная и кортико-ретикулоспинальная системы, частично берущие на себя его функцию при восстановлении, о чем судили по увеличению белого вещества в этих трактах.

В последние годы существенным прорывом в нейрореабилитации явились ментальные тренировки на кинестетическое воображение собственного движения пациентом, контролируемые специальным высокотехнологичным устройством ИМК (Ang, Chua et al., 2015; Ang, Guan et al., 2011; Ang, Guan et al., 2014; Frolov, Mokienko et al., 2017; Ono, Shindo et al., 2014; Ramos-Murguialday, Broetz et al., 2013). Применение данной методики основывается на ряде нейрофизиологических исследований, доказывающих существенное влияние тренировок на нейропластичность головного мозга при сосудистой катастрофе у пациента. Так, в работе (Young, Stamm et al., 2016) было показано, что улучшение моторики после тренировки с ИМК у пациентов с инсультом коррелировало с изменениями кортикоспинальных и транскаллозальных волокон, оцениваемыми с помощью диффузионной тензорной трактографии по увеличению анизотропии белого вещества.

Основными критериями оценки моторного восстановления паретичной руки у больных после инсульта в большинстве исследовательских работ являются шкалы Фугл-Мейера (FMMA) и тест Action Research Arm Test (ARAT), при применении как традиционных методов восстановления, так и основанных на использовании ИМК (Kruse, Suica et al., 2020). Анализ показателей FMMA и ARAT, проведенный в обзоре (Cervera, Soekadar et al., 2018), позволил авторам сделать вывод, что нейрореабилитация, дополненная ментальными тренировками на кинестетическое воображение, контролируемое через ИМК, имеет достоверный положительный эффект на двигательную функцию верхних конечностей, причем показатели улучшения двигательной функции были выше, чем при использовании традиционных методов реабилитации.

Отсюда представляется интересным обобщить данные, указывающие на процессы изменения нейропластичности в результате реабилитации, и выявить механизмы, лежащие в основе восстановления после инсульта как традиционными методами, так и с использованием нейротехнологии ИМК. До сих пор остается неясным, какие реальные изменения в мозге приводят к клиническому улуч-

шению при восстановлении после инсульта, как происходит восстановление утраченной функции на языке изменения работы полушарий мозга, отдельных областей и связей между ними.

1. РОЛЬ ПОРАЖЕННОГО И СОХРАННОГО ПОЛУШАРИЙ В ВОССТАНОВЛЕНИИ ДВИЖЕНИЯ ПАРАЛИЗОВАННОЙ КОНЕЧНОСТИ. ИНДЕКС ЛАТЕРАЛЬНОСТИ

Как известно, у здоровых испытуемых при выполнении или кинестетическом воображении движения конечности происходит десинхронизация ритма диапазона альфа (мю-ритма) в первичной сенсомоторной области полушария, противоположного стороне движения (Pfurtscheller, Da Silva, 1999). Десинхронизация мю-ритма считается ключевым ЭЭГ-маркером совершения или воображения движения, однако кроме активации первичных сенсорных и моторных областей происходит активация и ряда других областей мозга, связанных с движением (Héту, Grégoire et al., 2013). Инсульт, приведший к парализации конечности, сопровождается изменением картины активации мозга. В частности, известно, что уровень десинхронизации мю-ритма у пациентов с инсультом на стороне, противоположной парализованной конечности, ниже, чем у здоровых людей при попытке движения этой конечностью или воображении движения (Kasashima, Fujiwara et al., 2012). При этом также может наблюдаться десинхронизация мю-ритма, на стороне, контралатеральной поражению и ипсилатеральной к поврежденной конечности, для движений, при которых у здоровых испытуемых она не наблюдается. Эта картина не является неизменной. Как будет показано ниже, в процессе реабилитации степень вовлеченности того или иного полушария в решение двигательной задачи меняется и при хорошем восстановлении первоначальная картина после инсульта сменяется картиной более близкой к норме.

Об изменении вовлечения того или иного полушария в решение поставленной задачи часто судят по изменению индекса латеральности — количественной оценки степени, в которой конкретная задача или функция латеральна между двумя полушариями. Далее будут рассматриваться изменения индекса латеральности в задачах на совершение или

воображение движения пораженной конечности. В этом случае при оценке латерализации с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) этот показатель рассчитывается как нормализованная разница между количеством всех активных вокселей в ипсилатеральной поражению и контралатеральной поражению областях. При его расчете по ЭЭГ вычисляется разница в степени десинхронизации мю-ритма на стороне поражения и на стороне, противоположной поражению.

Существует достаточно много работ, посвященных динамике индекса латеральности при инсульте и последующем восстановлении движения. Полученные данные порой сильно разнятся между собой. Так, например, при использовании ИМК для восстановления движения после инсульта было получено смещение показателя латеральности активности первичных сенсомоторных областей в процессе реабилитации как в сторону пораженного полушария (Caria, Weber et al., 2011; Ramos-Murguialday, Broetz et al., 2013; Yuan, Wang et al., 2020), так и непораженного полушария (Young, Nigogosyan et al., 2014), что в обоих случаях коррелировало с успешностью восстановления движения. Авторы (Young, Nigogosyan et al., 2014) пытались объяснить отличие результатов своей работы тем, что данные (Ramos-Murguialday, Broetz et al., 2013) и (Caria, Weber et al., 2011) были получены на больных, которые перенесли подкорковые инсульты и которые имели минимальное или полное отсутствие коркового повреждения. Напротив, участники исследования (Young, Nigogosyan et al., 2014) состояли в основном из пациентов с корковым инсультом и часто с большими участками инфаркта коры. Это ключевое отличие по мнению авторов и явилось причиной сильного вовлечения сохранного полушария, что может быть необходимо для облегчения функционального восстановления после инсульта при наличии более обширного повреждения коры (Di Pino, Pellegrino et al., 2014; Schlaug, Marchina et al., 2011; Stinear, Barber et al., 2007). Однако, как будет показано ниже, результаты (Young, Nigogosyan et al., 2014) все же являются нетипичными на общем фоне работ. Во-первых, у пациентов с более тяжелыми разрушениями сильное вовлечение полушария, противоположного повреждению, может наблюдаться и в случае подкоркового инсульта (Lotze, Markert et al., 2006). Во-вторых, сильная активация сохранного полушария после коркового ин-

сульта в процессе успешного выздоровления в большинстве работ сопровождается смещением индекса латеральности в сторону поврежденного полушария, см. обзор (Dodd, Nair et al., 2017), в отличие от результатов работы (Young, Nigogosyan et al., 2014). Единственной известной нам работой, в которой получен результат, схожий с (Young, Nigogosyan et al., 2014), является статья (Sebastián-Romagosa, Uchina et al., 2020), где была установлена отрицательная корреляция показателя латеральности и показателей восстановления двигательной функции после терапии с использованием ИМК. Однако авторы (Sebastián-Romagosa, Uchina et al., 2020) не обсуждают полученный результат.

Активация в сохранном полушарии во время движения пораженной руки максимальна в подострой стадии после инсульта и уменьшается со временем (Marshall, Perera et al., 2000), возвращаясь почти к исходному уровню в ходе эффективного выздоровления (Ward, Brown et al., 2003). Но часто она сохраняется до некоторой степени в течение многих лет после инсульта (Carey, Kimberley et al., 2002; Gerloff, Bushara et al., 2006).

В согласии с этим, авторы (Platz, Kim et al., 2000; Serrien, Strens et al., 2004) обнаружили значительно уменьшенную десинхронизацию в первичных сенсомоторных областях поврежденного полушария для движений верхней конечности у пациентов с плохим восстановлением, тогда как у пациентов с хорошим восстановлением наблюдалось более активное вовлечение поврежденного полушария, сравнимое с тем, что наблюдается у здоровых людей.

В (Stepień, Conradi et al., 2011) были исследованы различия в степени десинхронизации мю-ритма у пациентов с острыми подкорковыми и корковыми инсультами во время движений пальцев. Пациенты с подкорковым инсультом показали симметричную десинхронизацию между обоими полушариями. Пациенты с корковым инсультом показали межполушарную асимметрию десинхронизации мю-ритма, в отличие от пациентов с подкорковым инсультом. При попытках движения пальцами парализованной руки подавление мю-ритма в сохранном полушарии у них было сильнее, чем в пораженном. Точно так же у большинства пациентов в (Li, Liu et al., 2014) с инсультом подкоркового типа наблюдалась симметричная десинхронизация мю-ритма между полушариями. Но, в

отличие от предыдущего исследования, пациенты получали 8 недель реабилитационного лечения, в результате чего после тренировки степень подавления мю-ритма в пораженном полушарии при воображении движения пораженной руки оказалась выше, чем в сохранном.

Таким образом, после инсульта, приведшего к парализации конечности, в двигательных задачах для этой конечности полушария активируются двусторонне. При двигательном восстановлении активация смещается обратно в пораженное полушарие. Этот вывод может не учитывать все типы инсульта и все случаи восстановления. Однако вклад реактивации пораженного полушария в восстановление двигательной функции для двух типов инсульта стал общепризнанным (Gerloff, Bushara et al., 2006; Murase, Duque et al., 2004; Sharma, Simmons et al., 2009). Из приведенных работ следует невозможность выводов о ходе и путях восстановления для постинсультных больных в целом. Существуют факторы, обуславливающие тот или иной ход восстановления движения у больных, в том числе локализация и обширность повреждения, возможно, возраст больных, а также, вероятно, специфика реабилитационных работ, проводимых с пациентами. Так, результаты работы (Young, Nigogosyan et al., 2014) относительно смещения индекса латеральности в сторону сохранного полушария при хорошем восстановлении движения у больных с корковым инсультом, являясь нетипичными, возможно, могут отражать специфический дизайн восстановительных ИМК-процедур, который не всегда полностью понятен из статьи.

2. НАРУШЕНИЕ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЕЖПОЛУШАРНОГО БАЛАНСА ПРИ КОРКОВОМ ИНСУЛЬТЕ

Активация полушария, контралатерально повреждению, обеспечивает вовлечение дополнительных нейронных ресурсов в помощь поврежденной моторной системе пораженного полушария (Riecker, Gröschel et al., 2010). Однако показано, что тренировка неповрежденной конечности, приводящая к дополнительной активации сохранного полушария, может приводить к затруднению восстановления поврежденной конечности (Dodd, Nair et al., 2017). Большинство пациентов с повреждением моторики после инсульта первоначально демонстрируют увели-

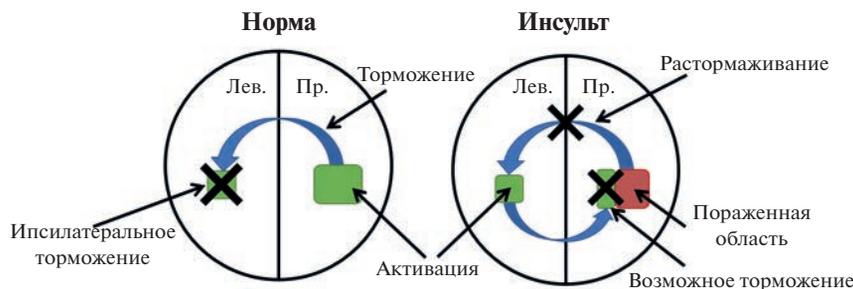


Рис. 1. Взаимодействие полушарий у здоровых и больных после инсульта. Пример для движения левой руки и очагового поражения в правом полушарии. Рисунок взят из (Dodd, Nair et al., 2017) и переведен.

Fig. 1. Interhemispheric disbalance after stroke. Case of left arm movement and focal lesion in right hemisphere is shown. The figure is taken from (Dodd, Nair et al., 2017). Copyright © 2017 Dodd, Nair and Prabhakaran, permitted for reproduction.

ченную активацию первичной моторной коры на стороне, противоположной повреждению (Murase, Duque et al., 2004), и, возможно, эта активация предполагает облегчение моторной функции в подострой стадии, но может мешать дальнейшему восстановлению (Fregni, Boggio et al., 2006; Mansur, Fregni et al., 2005).

Какие нейронные процессы могут происходить при восстановлении движения после инсульта как в пораженном, так и в сохранном полушарии, не до конца понятно (Buete-fisch, 2015; Hoyer, Celnik, 2011). Поэтому связь между моторной корой двух полушарий после инсульта является темой для исследования. Контралатеральная движущейся конечности моторная кора обычно тормозит ипсилатеральную во время моторных задач (Ocklenburg, Ball et al., 2015). Поэтому пациент после коркового инсульта, затронувшего моторную область, показывает межполушарный дисбаланс, при котором первичная моторная кора на стороне поражения при попытке движения пораженной конечностью уже не тормозит противоположное полушарие, и поэтому оно, в свою очередь, еще больше тормозит первичную моторную кору поврежденного полушария (Baron, Cohen et al., 2004), возможно, через транскаллозальные волокна (Murase, Duque et al., 2004). На рис. 1 в обзорной статье (Dodd, Nair et al., 2017) показано, как это межполушарное взаимодействие происходит у здоровых и как — у больных.

Согласно (Hoyer, Celnik, 2011) роль моторной коры сохранного полушария, вероятно, определена временем с момента инсульта, степенью повреждения двигательной системы и сложностью моторной задачи. Из схемы на рис. 1 видно, что чрезмерное использова-

ние здорового полушария и недостаточное использование поврежденного приводит к усилению угнетения поврежденного полушария сохранным. Считается, что это торможение мешает реорганизации интактных областей поврежденного полушария и восстановлению пораженной двигательной системы (Ward, Cohen, 2004).

Оказывается, мощность межполушарного дисбаланса после инсульта положительно коррелирует со степенью моторного нарушения (Murase, Duque et al., 2004). При этом терапия, обеспечивающая тренировки пассивных и активных движений поврежденной конечности, может обратить вспять прогрессирующее подавление моторной активности (Lindberg, Schmitz et al., 2007), так же как транскраниальная магнитная стимуляция, направленная на активацию поврежденного полушария для облегчения моторного восстановления (Buete-fisch, 2015; Hoyer, Celnik, 2011; Sanes, Suner et al., 1990).

Известно, что транскраниальная магнитная и электростимуляция может тормозить или возбуждать целевые области мозга и применение этой техники в реабилитации может стимулировать восстановление после инсульта (Fregni, Boggio et al., 2005; Hallett, 2000). Так, было показано, что торможение первичной моторной коры сохранного полушария с помощью ТМС (Grefkes, Nowak et al., 2010; Kobayashi, Hutchinson et al., 2004) и возбуждение первичной моторной коры поврежденного (Ameli, Grefkes et al., 2009; Talelli, Greenwood et al., 2007) может помочь восстановлению парализованной конечности.

Таким образом, показана динамика межполушарных взаимодействий в процессе

восстановления движения парализованной конечности после инсульта на примере взаимодействия моторных областей поврежденного и сохранного полушарий, ее зависимость от локализации и обширности поражения и связь со степенью двигательного восстановления. Можно предположить, что аналогичная динамика может наблюдаться и между другими гомогенными областями обоих полушарий в случае, например, если области, участвующие в движении, повреждены. Поэтому при интерпретации данных, полученных на больных, необходимо обратить внимание на возможную активацию областей, контралатеральных областям, обычно вовлекающимся при выполнении или воображении движения у здоровых испытуемых. Эти области так же, как и первичная моторная область, могут быть расторможены и, вероятно, могут брать на себя временную, компенсаторную функцию, утраченную областями поврежденного полушария. Теперь ожидаемая динамика активации областей в процессе реабилитации после инсульта может быть объяснена по аналогии с динамикой активации гомогенных моторных областей, более подробно изученной в литературе и описанной выше.

3. АКТИВАЦИЯ ОБЛАСТЕЙ МОЗГА ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА И В ПРОЦЕССЕ РЕАБИЛИТАЦИИ

Вопросы активации областей мозга у больных, перенесших инсульт при выполнении двигательных задач, рассмотрены в обобщающей работе с применением метаанализа (Rehme, Eickhoff et al., 2012).

Было показано, что у пациентов после инсульта, по сравнению со здоровыми испытуемыми, помимо увеличения активации контралатеральной пораженной первичной моторной коры, увеличивается активация вентральной премоторной коры и дополнительной моторной области как в пораженном, так и в сохранном полушарии.

Авторы пришли к выводу, что контралатеральная первичная моторная кора и билатеральные области вентральной премоторной коры особенно связаны с реорганизацией кортикальных моторных сетей у пациентов с инсультом с различной степенью двигательных нарушений. Правда, большинство пациентов имели чисто подкорковые поражения, и это означает, что результаты метаанализа в

основном представляют пациентов со слабо поврежденной или неповрежденной корой. При этом наилучшее выполнение моторной задачи пораженной рукой коррелировало с более высокой вероятностью активации первичной моторной коры и пре-SMA поврежденного и вентральной премоторной коры и мозжечка сохранного полушария.

Исследования показали, что активность в билатеральных вентральных премоторных областях и контралатеральной поврежденной первичной моторной области коррелирует с более тяжелыми нарушениями моторики (Loubinoux, Dechaumont-Palacin et al., 2007; Marshall, Zarahn et al., 2009; Ward, Brown et al., 2003).

Как отмечалось выше, роль первичной моторной области сохранного полушария в восстановлении после инсульта является предметом споров. Как исследования на людях, так и исследования на животных позволяют предположить, что первичная моторная область сохранного полушария способствует функциональной реорганизации либо через существующие пути (Rouiller, Babalian et al., 1994), либо путем прорастания аксонов в кору поврежденного полушария (Li, Wang et al., 2016).

Далее, дополнительная моторная область и латеральные премоторные области, включая вентральную и дорсальную, имеют проекции на первичную моторную кору, а также на кортикоспинальный тракт и участвуют в подготовке движения (Dum, Strick, 2002). Например, доля аксонов, исходящих из нейронов дополнительной моторной области, по оценкам, составляет не менее 10% всего кортикоспинального тракта (Nachev, Kennard et al., 2008). Такие пути могут, по крайней мере, частично компенсировать повреждение нейронов первичной моторной области и их аксонов соответственно. Чем сильнее повреждены волокна, идущие от первичной моторной области, тем меньше вероятность успешного восстановления моторики и тем сильнее вовлечение высших двигательных областей, таких как дополнительная моторная область или премоторные области, для компенсации дефицита (Newton, Ward et al., 2006; Stinear, Barber et al., 2007; Ward, Newton et al., 2006).

Нейроны в вентральной премоторной области преимущественно обрабатывают вход из передней части внутримышечной борозды

для преобразования визуальной информации об объекте в команды действия (Hoshi, Tanji, 2007; Schubotz, von Cramon, 2002), этим путем осуществляется запуск движения внешними стимулами. Нейроны дополнительной моторной области вовлечены, в частности, в произвольный запуск движения, а также в составление и стыковку последовательности двигательных актов (Nachev, Kennard et al., 2008).

Пациенты с лучшими показателями также демонстрируют более высокую вероятность активации во вторичной соматосенсорной области (париетальный оперкулум) сохранного полушария (Rehme, Eickhoff et al., 2012), которая принадлежит соматосенсорной сети и тесно связана с теменными областями, участвующими в интеграции сенсорной информации различных модальностей (Eickhoff, Jbabdi et al., 2010). Как активные, так и пассивные движения обычно связаны с билатеральной активностью в этой области (Weiller, Juptner et al., 1996). Следовательно, ее вовлечение может улучшить движения на основе сенсорной обработки более высокого порядка у пациентов с лучшими показателями.

Пре-SMA, большая вероятность активации которой, как отмечалось выше, коррелирует с лучшим выполнением моторной задачи пораженной рукой, не имеет прямых проекций на кортикоспинальный тракт или первичную моторную область, но связана с префронтальной корой и играет важную роль в когнитивных аспектах движений, включая установление и извлечение соматомоторных ассоциаций (Picard, Strick, 2001).

Далее, в работе (Li, Liu et al., 2014) было показано, что более сильная активация сомоторной коры и теменной долики на стороне поражения коррелирует с лучшим моторным восстановлением верхней конечности при применении ИМК.

В работе (Lotze, Markert et al., 2006) дорзальная премоторная кора, верхняя теменная доля и первичная моторная кора сохранного полушария прямо определяют как области в качестве основных кандидатов на компенсаторную роль после инсульта и отмечается, что повышенная их активность нужна для контроля восстанавливаемых моторных функций, поскольку после инсульта при нарушении нормального движения требуется повышенная корректировка пространственно-временной точности. В работе отмечается, что

поражение эфферентного тракта первичной моторной коры может привести к увеличению ошибок, вызывающих нестабильность в сомоторной системе. Это может быть компенсировано улучшенной работой перчисленных областей.

Эти выводы также согласуются с данными, указывающими на то, что дорзальная премоторная кора важна для временного контроля сложных движений (Halsband, Ito et al., 1993). Верхняя теменная доля, так же как дорзальная премоторная кора, участвует в выполнении последовательностей выученных движений (Seitz, Canavan et al., 1997) и играет роль в реализации сложных сомоторных задач (например, выбор движения на основе интеграции визуальной и соматосенсорной информации) (Catalan, Honda et al., 1998; Sakai, Hikosaka et al., 1998). По сравнению со здоровыми испытуемыми (Desmurget, Epstein et al., 1999) у пациентов после инсульта ипсилатеральные поражение верхняя теменная доля и дорзальная премоторная кора, по-видимому, приобретают дополнительную значимость для правильного выполнения более простых, но на данном этапе трудно выполнимых заданий. При этом соответствующие сохранные области начинают играть повышенную роль при выполнении даже несложных задач.

Торможение активности дорзальной премоторной коры сохранного полушария с помощью ТМС приводило к ухудшению двигательной функции пораженной руки у пациентов с инсультом (Johansen-Berg, Rushworth et al., 2002; Lotze, Markert et al., 2006; Werhahn, Conforto et al., 2003). При этом ухудшение коррелировало со степенью двигательных нарушений (Johansen-Berg, Rushworth et al., 2002), что согласуется с упомянутым выше большим вовлечением сохранного полушария у больных с большими двигательными нарушениями. Аналогично было показано, что двигательную активность поврежденной руки ухудшает торможение ипсилатеральной повреждению дорзальной премоторной коры у больных после инсульта, а также что такое торможение никак не влияет на движение руки у здоровых испытуемых (Fridman, Hanakawa et al., 2004). Было также показано, что индуцированное с помощью ТМС нарушение активности дорзальной премоторной области в одном полушарии (моделирующее поражение, вызванное инсультом) связано с увеличением активности дорзальной пре-

торной области в противоположном полушарии (O'Shea, Johansen-Berg et al., 2007).

Тренировка при помощи ИМК воображения движения поврежденной конечности также меняет картину активации областей коры. Так, сдвиг индекса латеральности после восстановительных тренировок с использованием ИМК при попытке движения парализованной конечностью или воображении этого движения происходит в сторону пораженного полушария не только для первичной моторной коры (см. выше), но и для премоторных областей (Caria, Weber et al., 2011; Mihara, Hattori et al., 2013; Ramos-Murguialday, Broetz et al., 2013) и дополнительной моторной области (Ono, Tomita et al., 2015).

Согласно обзорной работе (Rehme, Eickhoff et al., 2012), во время движения верхних конечностей у пациентов, перенесших инсульт, наблюдалась активация области нижней лобной извилины. Интересно, что эта область активировалась во время движения пораженных и здоровых верхних конечностей у пациентов с инсультом, но не активировалась во время движения у здоровых людей. Она является частью вентральной системы внимания и включена в сеть внимания (Bledowski, Prvulovic et al., 2004; Corbetta, Patel et al., 2008). Видимо, активация этой области объясняется тем, что пациенты испытывают трудности выполнения движения и должны уделять больше внимания при его осуществлении по сравнению со здоровыми людьми.

4. ИЗМЕНЕНИЕ СВЯЗНОСТИ ВНУТРИ ОБЛАСТЕЙ И МЕЖДУ ОБЛАСТЯМИ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА И ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ДВИЖЕНИЯ ПАРАЛИЗОВАННОЙ КОНЕЧНОСТИ

4.1. Методы оценки связности.

Виды связности и способы подсчета связности

Как уже отмечалось, методом визуализации последствий инсульта является структурная МРТ. Однако последствия не ограничиваются разрушением областей. В результате инсульта нарушаются также связи между областями. Уже отмечалось выше, что нарушение анатомических связей (поражение волокон белого вещества между парами областей мозга) исследуется с помощью диффузионной тензорной трактографии. Помимо анатомических связей изучаются также функциональные связи между областями мозга.

Функциональную связь между областями можно описать, например, с помощью либо функциональной связности, либо эффективной связности (Grefkes, Fink, 2011). При расчете функциональной связности оцениваются временные корреляции BOLD-сигналов между удаленными областями интереса на частотах от 0.01 до 0.08 Гц (Grefkes, Fink, 2011; James, Lu et al., 2009; Wang, Yu et al., 2010; Westlake, Nagarajan, 2011). Эффективная связность описывает прямое или косвенное влияние, которое одна область может оказывать на другую (Grefkes, Fink, 2011; James, Lu et al., 2009; Wang, Yu et al., 2010; Westlake, Nagarajan, 2011). Как будет показано ниже, очаговое поражение головного мозга вызывает специфические изменения связности за пределами места повреждения, коррелирующие с двигательными нарушениями. И по мере восстановления движения восстанавливается паттерн связности, характерный для здоровых людей.

МРТ можно записывать как в состоянии покоя (МРТ покоя), так и при выполнении двигательной или какой-либо другой задачи (функциональная МРТ, фМРТ). Следует отметить, что запись МРТ покоя можно организовать практически у любых больных, даже у тяжелых — сразу после инсульта, фМРТ же требует определенной мобилизации и способности выполнять задачу. Однако фМРТ важна для локализации областей мозга, участвующих в выполнении определенных задач, и связей между ними.

Исследования связности при использовании МРТ покоя показывают, что человеческий мозг организован в так называемые сети покоя, определяемые через функциональную связность, т.е. временную корреляцию спонтанной BOLD-активности на частотах от 0.01 до 0.08 Гц между различными областями. Предполагается, что такая совместная активация в состоянии покоя отражает функциональные взаимосвязи, лежащие в основе поддержания готовности головного мозга к реакции на поступающие внешние стимулы (Пирадов, Супонева и др., 2016). В настоящее время стабильно выделяют 8 сетей покоя (Пирадов, Супонева и др., 2016).

Изучение функциональной связности на основании данных, полученных при помощи МРТ, может осуществляться несколькими методами, которые могут быть разделены на два типа (van den Heuvel, Hulshoff Pol, 2010). Одни исследуют связность между заранее вы-

бранными областями интереса, в то время как другие используют весь МРТ-сигнал для автоматического поиска синхронно активных областей мозга.

Ниже коротко будут приведены данные по изменению связности внутри областей и между областями мозга у больных после инсульта, а также в процессе реабилитации больных.

4.2. Изменение связей между структурами после инсульта и в процессе восстановления.

Поскольку основная часть результатов получена на основе исследования сетей покоя, то по умолчанию речь будет идти о функциональной связности в состоянии покоя.

Было показано, что после инсульта с нарушением двигательной функции верхней конечности внутри первичной сенсомоторной области пораженного полушария связность уменьшается (Almeida, Vicentini et al., 2017), а внутри первичной сенсомоторной области противоположного полушария – увеличивается (Almeida, Vicentini et al., 2017; Hong, Lin et al., 2019). И чем сильнее парализована рука, тем выше связность в сенсомоторной коре противоположного полушария (Hong, Lin et al., 2019).

В (Corbet, Leeb et al., 2016) показали увеличение эффективной связности в состоянии покоя между участками поврежденной первичной моторной коры у пациентов, прошедших процедуры со стимуляцией мышц под управлением ИМК, по сравнению с контрольной группой. При этом увеличение связности внутри поврежденной моторной коры значимо коррелировало с улучшением двигательной функции.

Исследования пациентов с острым инсультом и двигательными нарушениями показали снижение межполушарной функциональной связности в покое для первичной моторной коры по сравнению со здоровыми испытуемыми (Carter, Astafiev et al., 2010; Golestani, Tymchuk et al., 2013; Tang, Zhao et al., 2016; Xu, Qin et al., 2014) с постепенным ее восстановлением до нормы через год (Xu, Qin et al., 2014). Увеличение межполушарной функциональной связности в покое между гомогенными областями первичной сенсомоторной коры коррелировало со степенью восстановления двигательной функции в течение первого года выздоровления (Xu, Qin et al., 2014). Был показан возврат к нормальной межполушарной

связности первичных сенсомоторных областей через 3 месяца после инсульта (Golestani, Tymchuk et al., 2013), через 6–12 месяцев после инсульта (Park, Chang et al., 2011; Rehme, Eickhoff et al., 2011). Увеличение межполушарной связности для первичной моторной коры было показано при реабилитации с помощью робота под управлением ИМК в (Fan, Wu et al., 2015; Yuan, Wang et al., 2020). Кроме того, было показано, что межполушарная связность первичной моторной коры имеет прогностическое значение для восстановления моторики рук при реабилитации после инсульта (Min, Park et al., 2020).

В работе (Li, Wang et al., 2016) было показано, что восстановление межполушарной функциональной связности в первичных сенсомоторных областях в покое после лечения сопровождалось восстановлением межполушарной структурной связи, что было оценено при помощи диффузионной тензорной трактографии. Были выявлены значимые корреляции между показателями связности и клиническими показателями. Эти корреляции также были показаны в работах (Desowska, Turner, 2019; Lu, Huang et al., 2019).

В работе (Tang, Zhao et al., 2016) исследовалась функциональная связность для гомогенных областей всего мозга в состоянии покоя у пациентов с левосторонним подкорковым хроническим инсультом и двигательным дефицитом. По сравнению со здоровыми испытуемыми группа пациентов показала более низкую связность между гомогенными областями прецентральной извилины, постцентральной извилины, нижней лобной извилины, средней височной извилины, шпорной борозды, таламуса, передней и задней долей мозжечка. Выявлена положительная корреляция между показателем связности для задней доли мозжечка и баллами FMMA и отрицательная связь между этим показателем и длительностью заболевания.

В работе (Khan, Chen et al., 2021) при исследовании эффективности роботизированной тренировки рук под управлением ИМК у пациентов после инсульта было показано восстановление межполушарной связности в покое для совокупности из четырех областей: первичная моторная кора – дополнительная моторная область – дорзальная премоторная кора – верхняя теменная доля. При этом изменение связности положительно коррелировало с показателями FMMA. Корреляция степени восстановления функциональной связности в покое с

показателями FMMA при использовании ИМК для реабилитации была получена ранее в исследовании (Várkuti, Guan et al., 2013).

В работе (Young, Nigogosyan et al., 2014) у пациентов с инсультом и нарушением двигательной функции верхней конечности было показано увеличение функциональной связности в покое между ипсилатеральным и контрлатеральным повреждению таламусом (генератором ритмов диапазона альфа) и рядом корковых областей (в частности, с прекунеусом, мозжечком, передней поясной корой, парацентральной долькой, верхней и средней лобными извилинами) в процессе двигательной реабилитации.

В ранней обзорной работе (Grefkes, Fink, 2011) авторы рассмотрели изменения связности между областями с использованием показателей функциональной и эффективной связности, чтобы изучить, как инсульт влияет на взаимодействие между двигательными областями и как изменения связности коррелируют с нарушением двигательного поведения и функциональным восстановлением. Изменения коснулись связей между все теми же областями, изменение активации которых после инсульта было описано в предыдущем разделе, а именно: первичной моторной корой, премоторной (вентральной и дорзальной) корой, дополнительной моторной областью, теменной и префронтальной корой.

В исследованиях (Lau, Yuan et al., 2021; Yuan, Wang et al., 2020) для реабилитации поврежденной руки использовалось роботизированное устройство под управлением ИМК. Значительное увеличение функциональной связности покоя в результате тренировок было обнаружено между первичной моторной корой поврежденного полушария и премоторной корой, а также частью дополнительной моторной коры сохранного полушария и, кроме того, между дополнительной моторной корой поврежденного полушария и билатеральными областями верхней теменной дольки. Эта связность достоверно коррелировала с улучшением двигательной функции в процессе восстановления и сохранялась в течение 6 месяцев.

В (Sinha, Nair et al., 2021) исследовалось влияние ИМК вместе с функциональной электрической стимуляцией на восстановление моторики верхних конечностей после инсульта. При этом изучались изменения функциональной связности в покое. Наблю-

далось значительное увеличение межполушарных и внутрислошарных показателей связности. Изменения межполушарной функциональной связности после вмешательства и через один месяц после вмешательства положительно коррелировали с улучшением моторики.

В работе (Lee, Park et al., 2018) было показано снижение межполушарной функциональной связности в покое (через 2 недели после инсульта) с последующим восстановлением со временем (через 3 месяца после инсульта). Межполушарная связность в основном касалась связности первичных и вторичных двигательных областей (в данном исследовании как гомогенных, так и негомогенных). Межполушарная связность также положительно коррелировала с остаточной двигательной функцией и с улучшением двигательной функции в период восстановления. В то же время не было такого сильного изменения внутрислошарной связности в двигательной сети при восстановлении, хотя она, как и межполушарная, тоже уменьшилась после инсульта. То, что изменения межполушарной связи были более существенны по сравнению с внутрислошарной связью, сообщалось и в более ранних исследованиях (Carey, Seitz et al., 2013; Rehme, Grefkes, 2013; Siegel, Ramsey et al., 2016).

При этом внутрислошарные связи нижней лобной коры с областями двигательной сети показали противоположные изменения (Lee, Park et al., 2018). Они увеличились сразу после инсульта, и затем по мере восстановления наблюдалось ослабление связей нижней лобной коры пораженного и сохранного полушария с областями, связанными с движением, у всех групп больных с легкими и тяжелыми нарушениями. Как было отмечено ранее, нижняя лобная кора является частью сети внимания, и в подострой фазе после инсульта, когда работа двигательной сети нарушена максимально, требуется гораздо больше внимания для осуществления даже самых простых движений. Далее, в хронической фазе после инсульта при восстановлении работы двигательной сети, связи нижней лобной извилины с областями двигательной сети ослабевают за ненадобностью чрезмерного контроля.

Это согласуется с полученными ранее данными о том, что люди с инсультом полагаются на префронтальные области во время двигательной практики (Calautti, Baron, 2003;

Meehan, Randhawa et al., 2011; Wadden, Woodward et al., 2015).

Было также обнаружено значительное увеличение функциональной связности в покое между передней частью внутритеменной борозды и первичной моторной корой поврежденного полушария у пациентов с тяжелым инсультом (Backhaus, Braass et al., 2021), а также между нижней теменной корой и первичной моторной корой пораженного полушария у пациентов с инсультом в хронической стадии (Zhang, Liu et al., 2016). У пациентов с повышенной парието-фронтальной связью в острой стадии наблюдался более высокий уровень двигательного дефицита в поздней подострой стадии выздоровления (Backhaus, Braass et al., 2021). Эта повышенная функциональная связность, особенно у пациентов с тяжелыми нарушениями, возможно, также отражает попытку мозга дополнительно задействовать теменные области для компенсаций нарушения в двигательной сети. В согласии с этим недавнее исследование также свидетельствует о том, что по сравнению со здоровыми испытуемыми пациенты, перенесшие инсульт, демонстрируют более сильное возбуждающее влияние уже верхней теменной доли на первичную моторную кору пораженного полушария при осуществлении движения (Pool, Leimbach et al., 2018). В подтверждение сказанному также было показано, что у тех пациентов, у которых отмечалось поражение в первичной моторной и дополнительной моторной областях (то есть у которых эти области не могут вносить большого вклада в восстановление моторики), другие области, такие как верхняя теменная доля, начинают играть важную роль в восстановлении (Khan, Chen et al., 2021).

В работе (Hordacre, Lotze et al., 2021) исследовались пациенты после инсульта, приведшего к сильному нарушению нисходящего моторного тракта, что проверялось по вызванным ответам. Было показано уменьшение функциональной связности моторной сети пораженного полушария, увеличение связности фронто-париетальной сети пораженного полушария и увеличение связности моторной сети с фронто-париетальной.

Итак, компенсаторные изменения, помогающие восстановлению моторики, особенно в более сложных случаях сильного разрушения сенсомоторного тракта, происходят и в других сетях, помогающих движению.

Таким образом, было показано усиление уменьшенной после инсульта связности внутри поврежденной моторной коры в процессе реабилитации больных после инсульта, которое коррелировало с улучшением двигательной функции.

После инсульта, приведшего к двигательному повреждению верхней конечности, показано падение межполушарной связности между гомогенными областями первичной моторной коры с последующим ее восстановлением в процессе реабилитации. Увеличение межполушарной связности также коррелировало с моторным восстановлением.

Показано усиление связности в процессе двигательной реабилитации между таламусом и широким рядом областей коры, участвующих в движении.

Межполушарная связность в двигательной сети как между ее гомогенными областями, так и между негомогенными уменьшается после инсульта и восстанавливается в процессе реабилитации. Таким же изменениям, но в меньшей степени подвергаются внутриволновые связи между областями двигательной сети. При этом чаще всего речь идет об областях первичной моторной, дополнительной моторной и премоторной коры.

При этом влияние на пострадавшую двигательную сеть со стороны фронтальных и теменных областей усиливается сразу после инсульта с целью поддержания ее работы за счет усиления пространственного внимания и контроля. При восстановлении двигательной сети эти влияния возвращаются к состоянию до инсульта.

В процессе реабилитации с течением времени и при применении ИМК картина связности до инсульта восстанавливается. Восстановление отдельных связей коррелирует с показателями восстановления движения.

4.3. Пластичность мозга после инсульта, формирование белого вещества

В дополнение к уже описанным выше структурным исследованиям с использованием фракционной анизотропии, полученной с помощью диффузионной тензорной трактографии, у пациентов после инсульта, приведшего к нарушению движения верхней конечности, было обнаружено уменьшение микроструктурной целостности белого вещества в кортикоспинальном тракте (Vuch,

Rizk et al., 2016; Guggisberg, Nicolo et al., 2017) и ее восстановление в процессе реабилитации больных (Schaechter, Fricker et al., 2009). Была показана корреляция между повышенными значениями фракционной анизотропии в кортикоспинальном тракте и улучшением двигательной функции в течение 3 месяцев после инсульта (Lu, Huang et al., 2019).

Фракционная анизотропия кортико-рubro-спинального тракта обратно пропорциональна связности кортикоспинального тракта, что может указывать на то, что чем больше повреждений было нанесено последнему, тем сильнее компенсаторная связь в дополнительно задействованном тракте (Ruber, Schlaug et al., 2012). Эта корреляция возникает только через 3 месяца, что подтверждает мнение, что изменения действительно являются адаптацией структурной связи (Takenobu, Hayashi et al., 2014).

У пациентов с хроническим инсультом способность ходить коррелировала с объемом кортико-ретикулярного пути в непораженном полушарии, и этот объем был выше у пациентов, у которых восстановилась способность ходить, чем у тех, у кого она не восстановилась, и даже выше, чем в контрольной группе (Jang, Chang et al., 2013). Таким образом, непораженное полушарие действительно может быть компенсаторным.

В недавней статье (Xia, Huang et al., 2021) был продемонстрирован различный временной ход восстановления межполушарной функциональной связности покоя внутри сенсомоторной сети и структурного восстановления поврежденного кортикоспинального тракта. Восстановление межполушарной функциональной связности в основном происходило в течение 4 недель после инсульта, а восстановление фракционной анизотропии в сохранной части пораженного кортикоспинального тракта — в течение 12 недель. Это показывает, что пластичность межполушарных связей и кортикоспинального тракта имеет разные временные протяженности.

В подтверждение этого (Lin, Ramsey et al., 2018) сообщили об аналогичной разнице во времени реорганизации кортикоспинального тракта и межполушарной связности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подытоживая сказанное выше, можно сделать следующие выводы.

В простейшем случае одностороннего инсульта с поражением как подкорковых структур, так и участков коры, приведшем к парализации конечности, происходит временная перестройка работы двигательной сети. В задачах, связанных с движением парализованной конечности, происходит вовлечение полушария, противоположного стороне повреждения, что выражается в активации как первичной моторной области в нем, так и других гомогенных областей двигательной сети, если соответствующие области повреждены в пораженном полушарии при инсульте. Впоследствии при хорошем ходе восстановления (как при применении традиционной терапии, так и ее дополнении тренировками с ИМК) картина активации областей полностью или частично возвращается к норме в направлении активации областей поврежденного полушария. К такому же выводу пришли авторы обзора (Tavazzi, Bergsland et al., 2022), посвященного анализу МРТ-маркеров функциональных и структурных изменений в результате реабилитации после инсульта.

У пациентов после коркового и подкоркового инсульта картина вовлеченности сохранного полушария отличается. В случае коркового инсульта непораженное полушарие вовлекается сильнее, чем в случае подкоркового. Помимо характера инсульта (корковый или подкорковый) на степень вовлеченности противоположного полушария, ход и успешность восстановления, по-видимому, могут влиять такие факторы, как локализация и обширность разрушений, возраст пациентов. Очевидно, что в случае более сложного — двустороннего поражения при инсульте картина реорганизации двигательной сети будет более сложной, но в ее основе будут лежать все те же описанные выше процессы.

В задачах, связанных с движением, контралатеральная первичная моторная кора и билатеральные премоторная кора (вентральная и дорзальная) и дополнительная моторная область, а также верхняя теменная доля и нижняя фронтальная кора имеют повышенную активацию при выполнении задач, связанных с движением парализованной руки, у больных после инсульта по сравнению с выполнением этих задач здоровыми испытуемыми. Считается, что эти области берут на себя компенсаторную роль в процессе выполнения двигательных задач.

Как следует из вышесказанного, компенсаторная роль вентральной премоторной коры и дополнительной моторной области заключается, в том числе, в повышенном вовлечении нисходящих связей, дублирующих претерпевший разрушение кортико-спинальный тракт за счет повышения активации этих структур при попытке совершить движение вначале, сразу после инсульта и впоследствии за счет увеличения силы этих связей, вероятно, за счет роста объема белого вещества в них. При изменении силы связей через несколько месяцев после инсульта активация этих структур во время движения становится близкой к активации у здоровых людей. В процессе реабилитации в течение нескольких месяцев также может происходить перестройка работы внутри самих областей. Например, сдвиг представительства конечностей в них, как это было показано для первичной моторной и вентральной премоторной коры, в те участки этих областей, которые не подверглись разрушению. Это сопровождается формированием анатомических связей этих участков с соответствующими структурами мозга за счет роста белого вещества.

Компенсаторная роль другой части областей – таких как дорзальная премоторная кора, верхняя теменная доля, фронтальная кора, а также, возможно, пре-SMA и вторичная моторная область, заключается в помощи работе областям, участвующим в непосредственном выполнении движения, в направлении повышенного контроля точности его выполнения, пространственно-временной оценки выполнения, коррекции, повышенного внимания. Впоследствии при нормализации работы сети, ответственной за непосредственное выполнение движения, активность этих структур возвращается к активности до инсульта.

Динамика повреждения и восстановления связей между структурами после инсульта подтверждает картину, описанную выше. При инсульте изменяются связи между теми же структурами, как то первичная моторная, дополнительная моторная и премоторная кора (структурами исполнительной двигательной сети), и связи структур фронтальной и теменной коры с двигательной сетью. Отмечается разная направленность изменения связей. После инсульта ослабевают межполушарные и внутривполушарные связи двигательной сети и, как компенсация, усиливаются связи от фронтальной и парietаль-

ной коры с целью усиленного контроля над движением. При реабилитации с применением как традиционных методов, так и ИМК связи восстанавливаются почти до нормы. Связи внутри двигательной сети, как межполушарные, так и внутривполушарные – усиливаются за счет увеличения белого вещества в них, а связи, отражающие влияние префронтальных отделов коры и парietальных областей, ослабевают за ненужностью чрезмерного контроля, по-видимому, просто за счет уменьшения активации фронтальной и парietальной областей. Помощь работе исполнительной двигательной сети других областей мозга, принадлежащих к различным сетям покоя и выполняющих различные функции, видимо, не ограничивается перечисленными парietальными и фронтальными областями.

Из сказанного выше следует, что существуют быстрые, функциональные компенсаторные изменения в работе двигательной сети (подключение контралатерального разрушению полушария, активация фронтальных и парietальных областей, а также повышенная активация некоторых областей двигательной сети) при попытке осуществления движения в начальной фазе после инсульта и пластические, структурные изменения, связанные с формированием дублирующих зон, взамен поврежденных, увеличением и формированием белого вещества в старых поврежденных и новых связях, что занимает месяцы. При кратковременной двигательной практике, когда больной учится осуществлять движение сразу после инсульта, например, в (Kraeutner, Rubino et al., 2021) на основе обучения игре, формируются немедленные компенсаторные механизмы, в частности, более четкая активация областей и, как следствие, еще большее увеличение силы связей от сетей, контролирующих движение. Это функциональная перестройка и адаптация. При восстановлении в течение достаточно большого промежутка времени длиной в несколько месяцев улучшения могут быть связаны непосредственно с пластичностью, основанной на структурных изменениях в областях и связях между ними.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021–2023 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Пирадов М.А., Супонева Н.А., Селиверстов Ю.А., Лагода Д.Ю., Сергеев Д.В., Кремнева Е.И., Пойдашева А.Г. Возможности современных методов нейровизуализации в изучении спонтанной активности головного мозга в состоянии покоя. *Неврологический журн.* 2016. 21 (1): 4–12.
- Ackerley S.J., Stinear C.M., Byblow W.D. Promoting use-dependent plasticity with externally-paced training. *Clin Neurophysiol.* 2011. 122 (12): 2462–2468.
- Almeida S.R., Vicentini J., Bonilha L., De Campos B.M., Casseb R.F., Min L.L. Brain Connectivity and Functional Recovery in Patients With Ischemic Stroke. *J. Neuroimaging.* 2017. 27 (1): 65–70.
- Ameli M., Grefkes C., Kemper F., Riegg F.P., Rehme A.K., Karbe H., Fink G.R., Nowak D.A. Differential effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over ipsilesional primary motor cortex in cortical and subcortical middle cerebral artery stroke. *Ann Neurol.* 2009. 66 (3): 298–309.
- Ang K.K., Chua K.S., Phua K.S., Wang C., Chin Z.Y., Kuah C.W., Low W., Guan C. A Randomized Controlled Trial of EEG-Based Motor Imagery Brain-Computer Interface Robotic Rehabilitation for Stroke. *Clin EEG Neurosci.* 2015. 46 (4): 310–320.
- Ang K.K., Guan C., Chua K.S.G., Ang B.T., Kuah C.W.K., Wang C., Phua K.S., Chin Z.Y., Zhang H. A large clinical study on the ability of stroke patients to use an EEG-based motor imagery brain-computer interface. *Clinical EEG and Neuroscience.* 2011. 42 (4): 253–258.
- Ang K.K., Guan C., Phua K.S., Wang C., Zhou L., Tang K.Y., Ephraim Joseph G.J., Kuah C.W., Chua K.S. Brain-computer interface-based robotic end effector system for wrist and hand rehabilitation: results of a three-armed randomized controlled trial for chronic stroke. *Front Neuroeng.* 2014. 7, 30.
- Backhaus W., Braass H., Higgen F.L., Gerloff C., Schulz R. Early parietofrontal network upregulation relates to future persistent deficits after severe stroke—a prospective cohort study. *Brain Commun.* 2021. 3 (2): fcab097.
- Baron J.C., Cohen L.G., Cramer S.C., Dobkin B.H., Johansen-Berg H., Loubinoux I., Marshall R.S., Ward N.S., First International Workshop on N., Stroke R. Neuroimaging in stroke recovery: a position paper from the First International Workshop on Neuroimaging and Stroke Recovery. *Cerebrovasc Dis.* 2004. 18 (3): 260–267.
- Bledowski C., Prvulovic D., Goebel R., Zanella F.E., Linden D.E. Attentional systems in target and distractor processing: a combined ERP and fMRI study. *Neuroimage.* 2004. 22 (2): 530–540.
- Buch E.R., Rizk S., Nicolo P., Cohen L.G., Schnider A., Guggisberg A.G. Predicting motor improvement after stroke with clinical assessment and diffusion tensor imaging. *Neurology.* 2016. 86 (20): 1924–1925.
- Buettfisch C.M. Role of the contralesional hemisphere in post-stroke recovery of upper extremity motor function. *Frontiers in neurology.* 2015. 6, 214.
- Calautti C., Baron J.-C. Functional neuroimaging studies of motor recovery after stroke in adults: a review. *Stroke.* 2003. 34 (6): 1553–1566.
- Carey J.R., Kimberley T.J., Lewis S.M., Auerbach E.J., Dorsey L., Rundquist P., Ugurbil K. Analysis of fMRI and finger tracking training in subjects with chronic stroke. *Brain.* 2002. 125 (Pt 4): 773–788.
- Carey L.M., Seitz R.J., Parsons M.W., Levi C.R., Farquharson S., Tournier J.D., Palmer S., Connelly A. Beyond the lesion: neuroimaging foundations for post-stroke recovery. *Future Neurology.* 2013. 8, 507–527.
- Caria A., Weber C., Brötz D., Ramos A., Ticini L.F., Gharabaghi A., Braun C., Birbaumer N. Chronic stroke recovery after combined BCI training and physiotherapy: a case report. *Psychophysiology.* 2011. 48 (4): 578–582.
- Carter A.R., Astafiev S.V., Lang C.E., Connor L.T., Rengachary J., Strube M.J., Pope D.L., Shulman G.L., Corbetta M. Resting interhemispheric functional magnetic resonance imaging connectivity predicts performance after stroke. *Annals of neurology.* 2010. 67 (3): 365–375.
- Catalan M.J., Honda M., Weeks R.A., Cohen L.G., Hallett M. The functional neuroanatomy of simple and complex sequential finger movements: a PET study. *Brain.* 1998. 121 (Pt 2): 253–264.
- Cervera M.A., Soekadar S.R., Ushiba J., Millán J.d.R., Liu M., Birbaumer N., Garipelli G. Brain-computer interfaces for post-stroke motor rehabilitation: a meta-analysis. *Annals of clinical and translational neurology.* 2018. 5 (5): 651–663.
- Chen Z., Ni P., Zhang J., Ye Y., Xiao H., Qian G., Xu S., Wang J., Yang X., Chen J., Zhang B., Zeng Y. Evaluating ischemic stroke with diffusion tensor imaging. *Neurol Res.* 2008. 30 (7): 720–726.
- Corbet T., Leeb R., Biasiucci A., Zhang H., Perdakis S., Millán J.D.R. (2016). BCI-NMES therapy enhances effective connectivity in the damaged hemisphere in stroke patients. Paper presented at the Proceedings of the 6th International Brain-Computer Interface Meeting.
- Corbetta M., Patel G., Shulman G.L. The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind. *Neuron.* 2008. 58 (3): 306–324.
- Dancause N., Barbay S., Frost S.B., Plautz E.J., Chen D., Zoubina E.V., Stowe A.M., Nudo R.J. Extensive cortical rewiring after brain injury. *J Neurosci.* 2005. 25 (44): 10167–10179.
- Desmurget M., Epstein C., Turner R., Prablanc C., Alexander G., Grafton S. Role of the posterior parietal cortex in updating reaching movements

- to a visual target. *Nature neuroscience*. 1999. 2 (6): 563.
- Desowska A., Turner D.L.* Dynamics of brain connectivity after stroke. *Rev Neurosci*. 2019. 30 (6): 605–623.
- Di Pino G., Pellegrino G., Assenza G., Capone F., Ferreri F., Formica D., Ranieri F., Tombini M., Ziemann U., Rothwell J.C.* Modulation of brain plasticity in stroke: a novel model for neurorehabilitation. *Nature Reviews Neurology*. 2014. 10 (10): 597.
- Dodd K.C., Nair V.A., Prabhakaran V.* Role of the contralesional vs. ipsilesional hemisphere in stroke recovery. *Frontiers in human neuroscience*. 2017. 11: 469.
- Dum R.P., Strick P.L.* Motor areas in the frontal lobe of the primate. *Physiol Behav*. 2002. 77 (4–5): 677–682.
- Eickhoff S.B., Jbabdi S., Caspers S., Laird A.R., Fox P.T., Zilles K., Behrens T.E.* Anatomical and functional connectivity of cytoarchitectonic areas within the human parietal operculum. *J. Neuroscience*. 2010. 30 (18): 6409–6421.
- Fan Y.T., Wu C.Y., Liu H.L., Lin K.C., Wai Y.Y., Chen Y.L.* Neuroplastic changes in resting-state functional connectivity after stroke rehabilitation. *Front Hum Neurosci*. 2015. 9: 546.
- Fregni F., Boggio P.S., Mansur C.G., Wagner T., Ferreira M.J., Lima M.C., Rigonatti S.P., Marcolin M.A., Freedman S.D., Nitsche M.A.* Transcranial direct current stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Neuroreport*. 2005. 16 (14): 1551–1555.
- Fregni F., Boggio P.S., Valle A.C., Rocha R.R., Duarte J., Ferreira M.J., Wagner T., Fecteau S., Rigonatti S.P., Riberto M., Freedman S.D., Pascual-Leone A.* A sham-controlled trial of a 5-day course of repetitive transcranial magnetic stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Stroke*. 2006. 37 (8): 2115–2122.
- Fridman E.A., Hanakawa T., Chung M., Hummel F., Leiguarda R.C., Cohen L.G.* Reorganization of the human ipsilesional premotor cortex after stroke. *Brain*. 2004. 127 (Pt 4): 747–758.
- Frolov A.A., Mokienko O., Lyukmanov R., Biryukova E., Kotov S., Turbina L., Nadareyshvily G., Bushkova Y.* Post-stroke Rehabilitation Training with a Motor-Imagery-Based Brain-Computer Interface (BCI)-Controlled Hand Exoskeleton: A Randomized Controlled Multicenter Trial. *Front Neurosci*. 2017. 11: 400.
- Frost S., Barbay S., Friel K., Plautz E., Nudo R.* Reorganization of remote cortical regions after ischemic brain injury: a potential substrate for stroke recovery. *J. neurophysiology*. 2003. 89 (6): 3205–3214.
- Gerloff C., Bushara K., Sailer A., Wassermann E.M., Chen R., Matsuoka T., Waldvogel D., Wittenberg G.F., Ishii K., Cohen L.G., Hallett M.* Multimodal imaging of brain reorganization in motor areas of the contralateral hemisphere of well recovered patients after capsular stroke. *Brain*. 2006. 129 (Pt 3): 791–808.
- Golestani A.-M., Tymchuk S., Demchuk A., Goodyear B.G., Group V.-S.* Longitudinal evaluation of resting-state fMRI after acute stroke with hemiparesis. *Neurorehabilitation and neural repair*. 2013. 27 (2): 153–163.
- Grefkes C., Fink G.R.* Reorganization of cerebral networks after stroke: new insights from neuroimaging with connectivity approaches. *Brain*. 2011. 134 (Pt 5): 1264–1276.
- Grefkes C., Nowak D.A., Wang L.E., Dafotakis M., Eickhoff S.B., Fink G.R.* Modulating cortical connectivity in stroke patients by rTMS assessed with fMRI and dynamic causal modeling. *Neuroimage*. 2010. 50 (1): 233–242.
- Guggisberg A.G., Nicolo P., Cohen L.G., Schnider A., Buch E.R.* Longitudinal Structural and Functional Differences Between Proportional and Poor Motor Recovery After Stroke. *Neurorehabil Neural Repair*. 2017. 31 (12): 1029–1041.
- Hallett M.* Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature*. 2000. 406 (6792): 147–150.
- Halsband U., Ito N., Tanji J., Freund H.-J.* The role of premotor cortex and the supplementary motor area in the temporal control of movement in man. *Brain*. 1993. 116 (1): 243–266.
- Héту S., Grégoire M., Saimpont A., Coll M.-P., Eugène F., Michon P.-E., Jackson P.L.* The neural network of motor imagery: an ALE meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2013. 37 (5): 930–949.
- Hong W., Lin Q., Cui Z., Liu F., Xu R., Tang C.* Diverse functional connectivity patterns of resting-state brain networks associated with good and poor hand outcomes following stroke. *Neuroimage Clin*. 2019. 24: 102065.
- Hordacre B., Lotze M., Jenkinson M., Lazari A., Barras C.D., Boyd L., Hillier S.* Fronto-parietal involvement in chronic stroke motor performance when corticospinal tract integrity is compromised. *Neuroimage Clin*. 2021. 29: 102558.
- Hoshi E., Tanji J.* Distinctions between dorsal and ventral premotor areas: anatomical connectivity and functional properties. *Current opinion in neurobiology*. 2007. 17 (2): 234–242.
- Hoyer E.H., Celnik P.A.* Understanding and enhancing motor recovery after stroke using transcranial magnetic stimulation. *Restorative neurology and neuroscience*. 2011. 29 (6): 395–409.
- James G.A., Lu Z.L., VanMeter J.W., Sathian K., Hu X.P., Butler A.J.* Changes in resting state effective connectivity in the motor network following rehabilitation of upper extremity poststroke paresis. *Top Stroke Rehabil*. 2009. 16 (4): 270–281.
- Jang S.H., Chang C.H., Lee J., Kim C.S., Seo J.P., Yeo S.S.* Functional role of the corticoreticular

- pathway in chronic stroke patients. *Stroke*. 2013. 44 (4): 1099–1104.
- Johansen-Berg H., Rushworth M.F., Bogdanovic M.D., Kischka U., Wimalaratna S., Matthews P.M.* The role of ipsilateral premotor cortex in hand movement after stroke. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002. 99 (22): 14518–14523.
- Kasashima Y., Fujiwara T., Matsushika Y., Tsuji T., Hase K., Ushiyama J., Ushiba J., Liu M.* Modulation of event-related desynchronization during motor imagery with transcranial direct current stimulation (tDCS) in patients with chronic hemiparetic stroke. *Exp Brain Res*. 2012. 221 (3): 263–268.
- Khan A., Chen C., Yuan K., Wang X., Mehra P., Liu Y., Tong K.Y.* Changes in electroencephalography complexity and functional magnetic resonance imaging connectivity following robotic hand training in chronic stroke. *Top Stroke Rehabil*. 2021. 28 (4): 276–288.
- Kobayashi M., Hutchinson S., Theoret H., Schlaug G., Pascual-Leone A.* Repetitive TMS of the motor cortex improves ipsilateral sequential simple finger movements. *Neurology*. 2004. 62 (1): 91–98.
- Koch P., Schulz R., Hummel F.C.* Structural connectivity analyses in motor recovery research after stroke. *Ann Clin Transl Neurol*. 2016. 3 (3): 233–244.
- Kraeutner S.N., Rubino C., Rinat S., Lakhani B., Borich M.R., Wadden K.P., Boyd L.A.* Resting State Connectivity Is Modulated by Motor Learning in Individuals After Stroke. *Neurorehabil Neural Repair*. 2021. 35 (6): 513–524.
- Kruse A., Suica Z., Taeymans J., Schuster-Amft C.* Effect of brain-computer interface training based on non-invasive electroencephalography using motor imagery on functional recovery after stroke—a systematic review and meta-analysis. *BMC neurology*. 2020. 20 (1): 1–14.
- Lau C.C., Yuan K., Wong P., Chu W.C., Leung T.W., Wong W.-W., Tong R.K.* Modulation of Functional Connectivity and Low-Frequency Fluctuations After Brain-Computer Interface-Guided Robot Hand Training in Chronic Stroke: A 6-Month Follow-Up Study. *Frontiers in human neuroscience*. 2021. 614.
- Lee J., Park E., Lee A., Chang W.H., Kim D.S., Kim Y.H.* Alteration and Role of Interhemispheric and Intra-hemispheric Connectivity in Motor Network After Stroke. *Brain Topogr*. 2018. 31 (4): 708–719.
- Li M., Liu Y., Wu Y., Liu S., Jia J., Zhang L.* Neurophysiological substrates of stroke patients with motor imagery-based Brain-Computer Interface training. *Int. J. Neurosci*. 2014. 124 (6): 403–415.
- Li Y., Wang D., Zhang H., Wang Y., Wu P., Zhang H., Yang Y., Huang W.* Changes of Brain Connectivity in the Primary Motor Cortex After Subcortical Stroke: A Multimodal Magnetic Resonance Imaging Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016. 95 (6): e2579.
- Lin L.Y., Ramsey L., Metcalf N.V., Rengachary J., Shulman G.L., Shimony J.S., Corbetta M.* Stronger prediction of motor recovery and outcome post-stroke by cortico-spinal tract integrity than functional connectivity. *PloS one*. 2018. 13 (8): e0202504.
- Lindberg P.G., Schmitz C., Engardt M., Forssberg H., Borg J.* Use-dependent up- and down-regulation of sensorimotor brain circuits in stroke patients. *Neurorehabil Neural Repair*. 2007. 21 (4): 315–326.
- Lotze M., Markert J., Sauseng P., Hoppe J., Plewnia C., Gerloff C.* The role of multiple contralesional motor areas for complex hand movements after internal capsular lesion. *J Neurosci*. 2006. 26 (22): 6096–6102.
- Loubinoux I., Dechaumont-Palacin S., Castel-Lacanal E., De Boissezon X., Marque P., Pariente J., Albuher J.F., Berry I., Chollet F.* Prognostic value of FMRI in recovery of hand function in subcortical stroke patients. *Cereb Cortex*. 2007. 17 (12): 2980–2987.
- Lu Q., Huang G., Chen L., Li W., Liang Z.* Structural and functional reorganization following unilateral internal capsule infarction contribute to neurological function recovery. *Neuroradiology*. 2019. 61 (10): 1181–1190.
- Mansur C.G., Fregni F., Boggio P.S., Riberto M., Gallucci-Neto J., Santos C.M., Wagner T., Rigonatti S.P., Marcolin M.A., Pascual-Leone A.* A sham stimulation-controlled trial of rTMS of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Neurology*. 2005. 64 (10): 1802–1804.
- Marshall R.S., Perera G.M., Lazar R.M., Krakauer J.W., Constantine R.C., DeLaPaz R.L.* Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke*. 2000. 31 (3): 656–661.
- Marshall R.S., Zarahn E., Alon L., Minzer B., Lazar R.M., Krakauer J.W.* Early imaging correlates of subsequent motor recovery after stroke. *Ann Neurol*. 2009. 65 (5): 596–602.
- Meehan S.K., Randhawa B., Wessel B., Boyd L.A.* Implicit sequence-specific motor learning after subcortical stroke is associated with increased prefrontal brain activations: an fMRI study. *Hum Brain Mapp*. 2011. 32 (2): 290–303.
- Mihara M., Hattori N., Hatakenaka M., Yagura H., Kawano T., Hino T., Miyai I.* Near-infrared spectroscopy-mediated neurofeedback enhances efficacy of motor imagery-based training in post-stroke victims: a pilot study. *Stroke*. 2013. 44 (4): 1091–1098.
- Min Y.S., Park J.W., Park E., Kim A.R., Cha H., Gwak D.W., Jung S.H., Chang Y., Jung T.D.* Interhemispheric Functional Connectivity in the Primary Motor Cortex Assessed by Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging Aids Long-Term Recovery Prediction among Subacute Stroke Patients with Severe Hand Weakness. *J. Clin. Med*. 2020. 9 (4).

- Mori S., Zhang J.* Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*. 2006. 51 (5): 527–539.
- Murase N., Duque J., Mazzocchio R., Cohen L.G.* Influence of interhemispheric interactions on motor function in chronic stroke. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2004. 55 (3): 400–409.
- Murphy T.H., Corbett D.* Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*. 2009. 10 (12): 861.
- Nachev P., Kennard C., Husain M.* Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci*. 2008. 9 (11): 856–869.
- Newton J.M., Ward N.S., Parker G.J., Deichmann R., Alexander D.C., Friston K.J., Frackowiak R.S.* Non-invasive mapping of corticofugal fibres from multiple motor areas—relevance to stroke recovery. *Brain*. 2006. 129 (Pt 7): 1844–1858.
- Nudo R.J., Wise B.M., SiFuentes F., Milliken G.W.* Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *science*. 1996. 272 (5269): 1791–1794.
- O’Shea J., Johansen-Berg H., Trief D., Gobel S., Rushworth M.F.* Functionally specific reorganization in human premotor cortex. *Neuron*. 2007. 54 (3): 479–490.
- Ocklenburg S., Ball A., Wolf C.C., Genç E., Güntürkün O.* Functional cerebral lateralization and interhemispheric interaction in patients with callosal agenesis. *Neuropsychology*. 2015. 29 (5): 806–815.
- Ono T., Shindo K., Kawashima K., Ota N., Ito M., Ota T., Mukaino M., Fujiwara T., Kimura A., Liu M.* Brain-computer interface with somatosensory feedback improves functional recovery from severe hemiplegia due to chronic stroke. *Frontiers in neuroengineering*. 2014. 7: 19.
- Ono T., Tomita Y., Inose M., Ota T., Kimura A., Liu M., Ushiba J.* Multimodal sensory feedback associated with motor attempts alters BOLD responses to paralyzed hand movement in chronic stroke patients. *Brain Topogr*. 2015. 28 (2): 340–351.
- Park C.-h., Chang W.H., Ohn S.H., Kim S.T., Bang O.Y., Pascual-Leone A., Kim Y.-H.* Longitudinal changes of resting-state functional connectivity during motor recovery after stroke. *Stroke*. 2011. 42 (5): 1357–1362.
- Pfurtscheller G., Da Silva F.L.* Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clinical Neurophysiology*. 1999. 110 (11): 1842–1857.
- Picard N., Strick P.L.* Imaging the premotor areas. *Curr Opin Neurobiol*. 2001. 11 (6): 663–672.
- Platz T., Kim I.H., Pintschovius H., Winter T., Kieselbach A., Villringer K., Kurth R., Mauritz K.H.* Multimodal EEG analysis in man suggests impairment-specific changes in movement-related electric brain activity after stroke. *Brain*. 2000. 123 (Pt 12): 2475–2490.
- Pool E.M., Leimbach M., Binder E., Nettekoven C., Eickhoff S.B., Fink G.R., Grefkes C.* Network dynamics engaged in the modulation of motor behavior in stroke patients. *Hum Brain Mapp*. 2018. 39 (3): 1078–1092.
- Ramos-Murguialday A., Broetz D., Rea M., Laer L., Yilmaz O., Brasil F.L., Liberati G., Curado M.R., Garcia-Cossio E., Vyziotis A., Cho W., Agostini M., Soares E., Soekadar S., Caria A., Cohen L.G., Birbaumer N.* Brain-machine interface in chronic stroke rehabilitation: a controlled study. *Ann Neurol*. 2013. 74 (1): 100–108.
- Ramos-Murguialday A., Broetz D., Rea M., Læer L., Yilmaz Ö., Brasil F.L., Liberati G., Curado M.R., Garcia-Cossio E., Vyziotis A.* Brain-machine interface in chronic stroke rehabilitation: a controlled study. *Annals of neurology*. 2013. 74 (1): 100–108.
- Rehme A.K., Eickhoff S.B., Rottschy C., Fink G.R., Grefkes C.* Activation likelihood estimation meta-analysis of motor-related neural activity after stroke. *Neuroimage*. 2012. 59 (3): 2771–2782.
- Rehme A.K., Eickhoff S.B., Wang L.E., Fink G.R., Grefkes C.* Dynamic causal modeling of cortical activity from the acute to the chronic stage after stroke. *Neuroimage*. 2011. 55 (3): 1147–1158.
- Rehme A.K., Grefkes C.* Cerebral network disorders after stroke: evidence from imaging-based connectivity analyses of active and resting brain states in humans. *J Physiol*. 2013. 591 (1): 17–31.
- Riecker A., Gröschel K., Ackermann H., Schnaudigel S., Kassubek J., Kastrup A.* The role of the unaffected hemisphere in motor recovery after stroke. *Human brain mapping*. 2010. 31 (7): 1017–1029.
- Rossini P., Altamura C., Ferreri F., Melgari J., Tecchio F., Tombini M., Pasqualetti P., Vernieri F.* Neuroimaging experimental studies on brain plasticity in recovery from stroke. *Europa medicophysica*. 2007. 43 (2): 241.
- Rouiller E.M., Babalian A., Kazennikov O., Moret V., Yu X.-H., Wiesendanger M.* Transcallosal connections of the distal forelimb representations of the primary and supplementary motor cortical areas in macaque monkeys. *Experimental brain research*. 1994. 102 (2): 227–243.
- Ruber T., Schlaug G., Lindenberg R.* Compensatory role of the cortico-rubro-spinal tract in motor recovery after stroke. *Neurology*. 2012. 79 (6): 515–522.
- Sakai K., Hikosaka O., Miyauchi S., Takino R., Sasaki Y., Putz B.* Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuomotor sequence learning. *J. Neurosci*. 1998. 18 (5): 1827–1840.
- Sanes J.N., Suner S., Donoghue J.P.* Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. I. Long-term patterns of reorgani-

- zation following motor or mixed peripheral nerve lesions. *Exp. Brain Res.* 1990. 79 (3): 479–491.
- Schaechter J.D., Fricker Z.P., Perdue K.L., Helmer K.G., Vangel M.G., Greve D.N., Makris N.* Microstructural status of ipsilesional and contralesional corticospinal tract correlates with motor skill in chronic stroke patients. *Hum Brain Mapp.* 2009. 30 (11): 3461–3474.
- Schlaug G., Marchina S., Wan C.Y.* The use of non-invasive brain stimulation techniques to facilitate recovery from post-stroke aphasia. *Neuropsychology review.* 2011. 21 (3): 288.
- Schubotz R.I., von Cramon D.Y.* Predicting perceptual events activates corresponding motor schemes in lateral premotor cortex: an fMRI study. *Neuroimage.* 2002. 15 (4): 787–796.
- Sebastián-Romagos M., Udina E., Ortner R., Dinarès-Ferran J., Cho W., Murovec N., Matencio-Peralba C., Sieghartsleitner S., Allison B.Z., Guger C.* EEG biomarkers related with the functional state of stroke patients. *Frontiers in neuroscience.* 2020. 14: 582.
- Seitz R.J., Canavan A.G., Yaguez L., Herzog H., Tellmann L., Knorr U., Huang Y., Homberg V.* Representations of graphomotor trajectories in the human parietal cortex: evidence for controlled processing and automatic performance. *Eur. J. Neurosci.* 1997. 9 (2): 378–389.
- Serrien D.J., Strens L.H., Cassidy M.J., Thompson A.J., Brown P.* Functional significance of the ipsilateral hemisphere during movement of the affected hand after stroke. *Exp Neurol.* 2004. 190 (2): 425–432.
- Sharma N., Simmons L.H., Jones P.S., Day D.J., Carpenter T.A., Pomeroy V.M., Warburton E.A., Baron J.-C.* Motor imagery after subcortical stroke: a functional magnetic resonance imaging study. *Stroke.* 2009. 40 (4): 1315–1324.
- Siegel J.S., Ramsey L.E., Snyder A.Z., Metcalf N.V., Chacko R.V., Weinberger K., Baldassarre A., Hacker C.D., Shulman G.L., Corbetta M.* Disruptions of network connectivity predict impairment in multiple behavioral domains after stroke. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016. 113 (30): E4367–4376.
- Sinha A.M., Nair V.A., Prabhakaran V.* Brain-Computer Interface Training With Functional Electrical Stimulation: Facilitating Changes in Inter-hemispheric Functional Connectivity and Motor Outcomes Post-stroke. *Front Neurosci.* 2021. 15, 670953.
- Stepień M., Conradi J., Waterstraat G., Hohlefeld F.U., Curio G., Nikulin V.V.* Event-related desynchronization of sensorimotor EEG rhythms in hemiparetic patients with acute stroke. *Neuroscience letters.* 2011. 488 (1): 17–21.
- Stinear C.M., Barber P.A., Smale P.R., Coxon J.P., Fleming M.K., Byblow W.D.* Functional potential in chronic stroke patients depends on corticospinal tract integrity. *Brain.* 2007. 130 (Pt 1): 170–180.
- Stinear C.M., Byblow W.D.* Predicting and accelerating motor recovery after stroke. *Current opinion in neurology.* 2014. 27 (6): 624–630.
- Takenobu Y., Hayashi T., Moriwaki H., Nagatsuka K., Naritomi H., Fukuyama H.* Motor recovery and microstructural change in rubro-spinal tract in subcortical stroke. *Neuroimage Clin.* 2014. 4, 201–208.
- Talelli P., Greenwood R., Rothwell J.* Exploring Theta Burst Stimulation as an intervention to improve motor recovery in chronic stroke. *Clinical Neurophysiology.* 2007. 118 (2): 333–342.
- Tang C., Zhao Z., Chen C., Zheng X., Sun F., Zhang X., Tian J., Fan M., Wu Y., Jia J.* Decreased Functional Connectivity of Homotopic Brain Regions in Chronic Stroke Patients: A Resting State fMRI Study. *PLoS one.* 2016. 11 (4): e0152875.
- Tavazzi E., Bergsland N., Pirastru A., Cazzoli M., Blasi V., Baglio F.* MRI markers of functional connectivity and tissue microstructure in stroke-related motor rehabilitation: A systematic review. *NeuroImage: Clinical.* 2022. 33: 102931.
- van den Heuvel M.P., Hulshoff Pol H.E.* Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2010. 20 (8): 519–534.
- Várkuti B., Guan C., Pan Y., Phua K.S., Ang K.K., Kuah C.W.K., Chua K., Ang B.T., Birbaumer N., Sitaram R.* Resting state changes in functional connectivity correlate with movement recovery for BCI and robot-assisted upper-extremity training after stroke. *Neurorehabilitation and neural repair.* 2013. 27 (1): 53–62.
- Wadden K.P., Woodward T.S., Metzak P.D., Lavigne K.M., Lakhani B., Auriat A.M., Boyd L.A.* Compensatory motor network connectivity is associated with motor sequence learning after subcortical stroke. *Behav Brain Res.* 2015. 286: 136–145.
- Wang L., Yu C., Chen H., Qin W., He Y., Fan F., Zhang Y., Wang M., Li K., Zang Y.* Dynamic functional reorganization of the motor execution network after stroke. *Brain.* 2010. 133 (4): 1224–1238.
- Ward N.S., Brown M.M., Thompson A.J., Frackowiak R.S.* Neural correlates of motor recovery after stroke: a longitudinal fMRI study. *Brain.* 2003. 126 (Pt 11): 2476–2496.
- Ward N.S., Cohen L.G.* Mechanisms underlying recovery of motor function after stroke. *Arch Neurol.* 2004. 61 (12): 1844–1848.
- Ward N.S., Newton J.M., Swayne O.B., Lee L., Thompson A.J., Greenwood R.J., Rothwell J.C., Frackowiak R.S.* Motor system activation after subcortical stroke depends on corticospinal system integrity. *Brain.* 2006. 129 (Pt 3): 809–819.
- Weiller C., Juptner M., Fellows S., Rijntjes M., Leonhardt G., Kiebel S., Müller S., Diener H.C., Thil-*

- mann A.F.* Brain representation of active and passive movements. *Neuroimage*. 1996. 4 (2): 105–110.
- Werhahn K.J., Conforto A.B., Kadom N., Hallett M., Cohen L.G.* Contribution of the ipsilateral motor cortex to recovery after chronic stroke. *Ann Neurol*. 2003. 54 (4): 464–472.
- Westlake K.P., Nagarajan S.S.* Functional connectivity in relation to motor performance and recovery after stroke. *Front Syst Neurosci*. 2011. 5: 8.
- Xia Y., Huang G., Quan X., Qin Q., Li H., Xu C., Liang Z.* Dynamic Structural and Functional Reorganizations Following Motor Stroke. *Med Sci Monit*. 2021. 27: e929092.
- Xu H., Qin W., Chen H., Jiang L., Li K., Yu C.* Contribution of the resting-state functional connectivity of the contralesional primary sensorimotor cortex to motor recovery after subcortical stroke. *PLoS one*. 2014. 9 (1): e84729.
- Young B.M., Nigogosyan Z., Walton L.M., Song J., Nair V.A., Grogan S.W., Tyler M.E., Edwards D.F., Caldera K., Sattin J.A.* Changes in functional brain organization and behavioral correlations after rehabilitative therapy using a brain-computer interface. *Frontiers in neuroengineering*. 2014. 7: 26.
- Young B.M., Stamm J.M., Song J., Remsik A.B., Nair V.A., Tyler M.E., Edwards D.F., Caldera K., Sattin J.A., Williams J.C., Prabhakaran V.* Brain-Computer Interface Training after Stroke Affects Patterns of Brain-Behavior Relationships in Corticospinal Motor Fibers. *Front Hum Neurosci*. 2016. 10: 457.
- Yuan K., Wang X., Chen C., Lau C.C.-Y., Chu W.C.-W., Tong R.K.-Y.* Interhemispheric functional reorganization and its structural base after BCI-guided upper-limb training in chronic stroke. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*. 2020. 28 (11): 2525–2536.
- Zhang Y., Liu H., Wang L., Yang J., Yan R., Zhang J., Sang L., Li P., Wang J., Qiu M.* Relationship between functional connectivity and motor function assessment in stroke patients with hemiplegia: a resting-state functional MRI study. *Neuroradiology*. 2016. 58 (5): 503–511.

INDICES OF NEUROPLASTICITY AND FUNCTIONAL REORGANIZATION IN MOTOR FUNCTION RECOVERY AFTER STROKE

I. R. Fedotova^a, P. D. Bobrov^{a, b, #}, and A. A. Kondur^c

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*

^b*Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia*

^c*Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: bobrov.pavel@ihna.ru*

The paper reviews data on changes of various indices calculated from multi-channel EEG, MRI, fMRI, and DTI data obtained from post-stroke patients during motor function recovery. The indices are most frequently discussed in literature on the topic of both motor rehabilitation in general and using BCI-based procedures in particular. The dynamics of the indices considered reflects the changes in interhemispheric imbalance during movement, the contribution of different areas and their interaction during motor execution as well as structural reorganization. The role of damaged and intact hemispheres and particular areas in motor recovery is discussed.

Keywords: stroke, rehabilitation, EEG, MRI, fMRI, DTI, laterality index, functional connectivity

УДК 616-092

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ И ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

© 2023 г. Г. В. Идова¹ *, Е. Л. Альперина¹, С. Я. Жанаева¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины”, Новосибирск, Россия

*e-mail: galina-idova@mail.ru

Поступила в редакцию 26.12.2022 г.

После доработки 25.02.2023 г.

Принята к публикации 27.02.2023 г.

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее нейродегенеративное расстройство, проявляющееся гибелью дофаминовых нейронов, агрегацией α -синуклеина и выраженными моторными нарушениями. В обзоре рассматриваются современные данные о ключевой роли нейровоспаления и иммунной дисфункции в нейродегенерации и развитии заболевания. Приведены клинические и экспериментальные доказательства активации микроглии, участия в этом процессе Толл-подобных рецепторов, широкого спектра хемокинов и про- и противовоспалительных цитокинов в динамике течения заболевания. Особое внимание уделено роли врожденного и адаптивного иммунного ответа в механизмах системного воспаления в мозге и на периферии. Продемонстрировано включение в процесс нейровоспаления и нейродегенерации инфильтрирующих мозг иммунных клеток и их субпопуляций, изменение состава и фенотипа периферических иммунных клеток и их функциональных характеристик. Анализ подмножеств иммунных клеток и их соотношения позволяет выявить тонкие, специфичные для БП, изменения в клеточных популяциях, которые могут быть использованы в качестве надежных биомаркеров для диагностики, прогнозирования течения заболевания и разработки новых подходов к противовоспалительной и таргетной терапии БП.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, дофамин, α -синуклеин, нейровоспаление, микроглия, Толл-подобные рецепторы, хемокины, про- и противовоспалительные цитокины, моноциты, субпопуляции Т- и В-клеток

DOI: 10.31857/S0044467723040056, EDN: WCSJJOE

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) занимает второе место среди наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний, поражающих миллионы пациентов (Dauer, Przedborski, 2003; Kalia, Lang, 2015; Balestrino, Schapira, 2020). Наиболее часто БП встречается у людей пожилого возраста и, как правило, носит спорадический характер (70–90% от общего числа заболевших). Частота более редкой, семейной формы БП, вызываемой мутациями генов, кодирующих такие белки, как альфа-синуклеин (α -syn), PARK2, DJ1, LRRK2, PINK1 и ND5, составляет примерно 10–15% пациентов с БП (Blauwendraat et al., 2020; Tansey et al., 2022).

БП характеризуется прогрессирующей дегенерацией дофаминергических (DA) нейронов в компактной части черной субстанции (SNpc) и, как следствие, потерей окончаний их аксонов в nigrostriatной системе мозга (Kalia, Lang, 2015; Абдурасулова и др., 2019; Balestrino, Schapira, 2020). Независимо от формы БП, гибель DA-нейронов сопровождается образованием интранейрональных цитоплазматических включений агрегированного α -syn (тельца и нейриты Леви), наличие которых рассматривается как основной патоморфологический признак не только БП, но и других синуклеопатий (Sulzer, Edwards, 2019).

Возникающая в результате истощения DA дисфункция базальных ганглиев приводит к проявлению двигательных симптомов, таких

как брадикинезия, ригидность, тремор покоя, нестабильность позы. Патологические изменения, в частности накопление и агрегация α -syn, распространяются на другие отделы мозга (голубое пятно, гиппокамп, кортикальные структуры) и могут вызывать эмоциональные и когнитивные нарушения, которые часто предшествуют появлению классических признаков (Braak et al., 2003; Ugrumov, 2020; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Williams et al., 2021; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022). Хотя известно, что развитие БП обусловлено воздействием различных факторов (старение, пол, генетическая предрасположенность, влияние окружающей среды) (рис. 1), точная этиология заболевания остается неясной, а эффективные методы лечения отсутствуют и носят симптоматический характер.

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что важную роль в патофизиологии БП играют воспаление и дисрегуляция иммунной системы, чему посвящено значительное число статей (McGeer et al., 1988; Nagatsu et al., 2000; Gao et al., 2011; Grozdanov et al., 2014; Kustrimovic et al., 2018; Idova et al., 2021) и обзоров (Ugrumov, 2020; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Williams et al., 2021; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022).

Множество доказательств, подтверждающих вклад хронического воспалительного процесса в механизмы развития БП, было получено в исследованиях головного мозга, спинномозговой жидкости (СМЖ), сыворотки и плазмы крови пациентов, а также в различных экспериментальных моделях (McGeer et al., 1988; Nagatsu et al., 2000; Gao et al., 2011; Gerhard, 2016; Tan et al., 2020; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Tansey et al., 2022; Tian et al., 2022).

Эпидемиологические исследования показали наличие общих генетических вариантов, характерных для БП и некоторых аутоиммунных заболеваний, таких как диабет 1 типа, ревматизм, болезнь Крона, язвенный колит (Hirsch, Standaert, 2021; Lai et al., 2022; Tansey et al., 2022). Наряду с этим, длительное применение нестероидных противовоспалительных препаратов или кортикостероидов может отсрочить или предотвратить начало БП (Chen et al., 2003). Генетический анализ выявил более 90 локусов генов человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), кодируемых главным комплексом гистосовместимости класса II (MHC-II). Эти гены участвуют в

презентации антигена во время иммунного ответа, главным образом при спорадической БП (Tan et al., 2020; Hirsch, Standaert, 2021; Lai et al., 2022).

Согласно сложившимся за последние годы представлениям, иммунные нарушения при БП возникают на ранней стадии заболевания и динамически изменяются по мере его прогрессирования, способствуя дегенерации нейронов и проявлению новых клинических симптомов (Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Идова и др., 2022; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022). При этом признаки системного воспаления с участием факторов врожденного и адаптивного иммунитета обнаруживаются как в мозге, так и в периферической иммунной системе (McGeer et al., 1988; Nagatsu et al., 2000; Brochard et al., 2009; Gerhard, 2016; Terada et al., 2016; Boyko et al., 2017; Chen et al., 2018; Hickman et al., 2018; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022).

ВКЛАД НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗ БП

Нейровоспаление рассматривается как ключевой механизм развития БП, хотя является ли оно пусковым механизмом патологического процесса, или вносит вклад в его прогрессирование, остается до настоящего времени предметом дискуссий (McGeer et al., 1988; Nagatsu et al., 2000; Brochard et al., 2009; Gerhard, 2016; Terada et al., 2016; Boyko et al., 2017; Hickman et al., 2018; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Tian et al., 2022).

Связь воспаления с нейродегенерацией при БП показана в ранних исследованиях посмертных образцов мозга, обнаруживших наличие реактивного микроглиоза и свободного нейромеланина в областях скопления поврежденных нейронов, содержащих тельца Леви, инфильтрации CD4 и CD8 Т-лимфоцитов в базальных ганглиях, отложения на нейромеланин-положительных нейронах иммуноглобулина G (IgG), а также увеличение содержания провоспалительных цитокинов/хемокинов в паренхиме головного мозга (McGeer et al., 1988; Nagatsu et al., 2000; Orr et al., 2005; Brochard et al., 2009; Reale et al., 2009; Dзамко et al., 2017; Bhatia et al., 2021; Harms et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Williams et al., 2021).

Микроглия составляет примерно 5–12% клеток центральной нервной системы (ЦНС), которые образуют собственную им-

Этиология и патогенез болезни Паркинсона

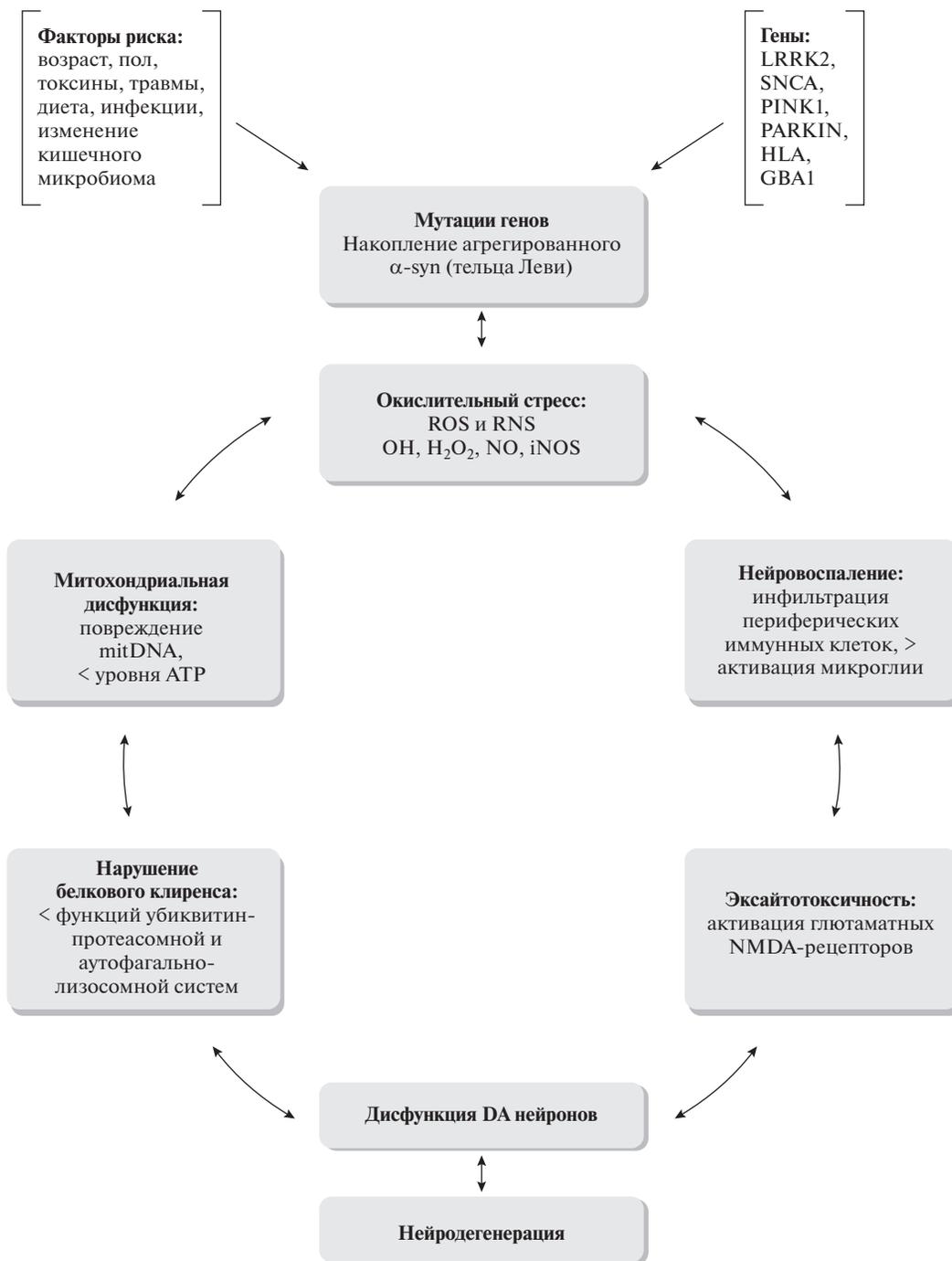


Рис. 1. Этиология болезни Паркинсона (БП) связана с комплексным воздействием внешних и генетических факторов. Патогенетические механизмы БП включают агрегацию альфа-синуклеина (α -syn), дисфункцию митохондрий с повреждением ДНК (mitDNA) и синтеза аденозинтрифосфата (АТФ), накопление активных форм кислорода (ROS) и азота (RNS), нарушение убиквитин-протеасомной и аутофагия-лизосомной систем, нейровоспаление, эксайтотоксичность.

Fig. 1. Schematic representation of the etiology and pathogenesis of Parkinson’s disease (PD). The PD etiology is linked to the complex environmental and genetic factors. Pathogenetic mechanisms of PD involve alpha-synuclein (α -syn) aggregation, mitochondrial dysfunction with damage of DNA and adenosine triphosphate (ATP) synthesis, accumulation of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species, impairment of the ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome systems, neuroinflammation, excitotoxicity.

мунную систему мозга, обеспечивающую функцию иммунной защиты в мозговых структурах (Hickman et al., 2018; Kam et al., 2020; Harms et al., 2021). В физиологических условиях микроглиальные клетки совместно с периваскулярными макрофагами осуществляют контроль над воспалением в ткани мозга, но на фоне первичной нейродегенерации, аксональной дегенерации и/или периферических воспалительных процессов чрезмерная активация микроглии может спровоцировать хроническое воспаление, приводящее к ускорению повреждения нейронов (Hickman et al., 2018; Harms et al., 2021). Изначально нейтропротекторная микроглия становится токсичной для DA-нейронов в результате накопления активных форм кислорода (ROS), связанных с нейровоспалительными ферментами, таких как циклооксигеназа (COX) и индуцируемая синтаза оксида азота (iNOS), и широко используемых в качестве маркеров воспаления цитокинов (Nagatsu et al., 2000; Fellner et al., 2013; Hirsch, Standaert, 2021).

Активированная микроглия существует в основном в двух поляризованных состояниях, известных как фенотип M1 или M2. Фенотип M1 характеризуется повышенным количеством молекул МНС-I и МНС-II и связан с высвобождением провоспалительных хемокинов и цитокинов, оказывающих токсическое действие на нейроны (Theodore et al., 2008; Chen et al., 2018; Kam et al., 2020; Tan et al., 2020; Harms et al., 2021; Lai et al., 2022). Более того, клетки микроглии M1 влияют на гомеостаз гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), вызывая инфильтрацию периферических иммунных клеток, усугубляющих патологический процесс (Iba et al., 2020; Cardinale A et al., 2021; Lai et al., 2022).

Фенотип M2, напротив, сопровождается продукцией противовоспалительных цитокинов и других эндогенных медиаторов (резолвины, протектины, марезины), действие которых направлено на подавление воспалительного ответа (Kam et al., 2020; Cardinale et al., 2021; Lai et al., 2022). Эти изменения могут происходить и при других нейродегенеративных заболеваниях, хотя в большинстве случаев микроглия демонстрирует смешанный фенотип с признаками, характерными как для повреждающего воспаления, так и для его разрешения (Harms et al., 2021; Tan et al., 2021) (рис. 2).

Важная роль в этих процессах отводится эндогенному α -syn, который является пато-

логическим маркером БП и широко экспрессируется в ядрах и синапсах нейронов (Burre, 2015; Wang et al., 2016; Sulzer, Edwards, 2019; Cardinale et al., 2021; La Vitola et al., 2021).

Физиологическая функция α -syn еще не до конца понятна, хотя известно, что он участвует в таких процессах, как высвобождение и рециркуляция синаптических пузырьков (Burre, 2015; Sulzer, Edwards, 2019; Harms et al., 2021), действует как молекулярный шаперон для образования белкового комплекса SNARE (Burre, 2015), вовлечен в связывание транспортеров DA и серотонина (Burre, 2015) и регуляцию некоторых форм синаптической пластичности (Sulzer, Edwards, 2019).

Существуют доказательства участия α -syn в нормальной/гомеостатической активации микроглии, которая обладает самой высокой скоростью деградации агрегатов α -syn в паренхиме мозга (Stefanis et al., 2019; Cardinale et al., 2021). С другой стороны, активация микроглии может сопровождаться высвобождением токсичных факторов, таких, например, как каспаза-1 и кальпайны, и приводить к усилению патологической агрегации нативного α -syn и его распространению в структурах мозга (Kim et al., 2013; Wang et al., 2019; Cardinale et al., 2021). Показано, что у мышей с нокаутом кодирующего α -syn гена (*SNCA*) микроглия имеет провоспалительный профиль и сниженную фагоцитарную активность, а введение синтетического α -syn PFF приводит к усилению высвобождения провоспалительных факторов из микроглии и инфильтрации периферических иммунных клеток в ЦНС (Kim et al., 2013; Cardinale et al., 2021). Накопление токсического α -syn оказывает влияние на синапсы, вызывая отсутствие долгосрочной экспрессии синаптической пластичности с последующим увеличением фосфорилирования глутаматных рецепторов и снижением соотношения субъединиц рецепторов GluN2A/GluN2B, что способствует дегенерации нейронов (Cardinale et al., 2021).

В настоящее время особое внимание уделяется изучению роли α -syn в иницировании или поддержании нейровоспалительных реакций через рецепторы клеток врожденного иммунитета – Толл-подобные рецепторы (TLR), которые присутствуют на нейронах, астроцитах и микроглии, а также на периферических иммунных клетках (Fellner et al., 2013; Dzamko et al., 2017; Heidari et al., 2022). У пациентов с БП обнаружено повышение экс-

прессии TLR2 и микроглиального маркера — ионизированной кальций-связывающей адапторной молекулы 1 (IBA1)⁺ по сравнению с контролем (Dzamko et al., 2017). Показано, что, мультимерные комплексы — инфламмосомы (NLRP1, NLRP3 и NLRP4), что приводит к дальнейшему неврологическому повреждению (Yan et al., 2015; Пирожков и др., 2018; Kam et al., 2020; Tan et al., 2020; Cardinale et al., 2021; Harms et al., 2021; Williams et al., 2021; Lai et al., 2022) (рис. 2).

DA негативно регулирует активацию NLRP3 в клетках первичной микроглии астроцитах (Yan et al., 2015). Мыши, нокаутные по гену *NLRP3*, не проявляют признаков паркинсонизма при введении 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (MPTP), превращающегося в нейротоксин MPP⁺, способный приводить к гибели DA-нейронов (Yan et al., 2015). Показано, что мыши, дефицитные по гену DA D1-рецептора, подвержены MPTP-индуцированному нейровоспалению, которое сопровождается активацией инфламмосомы NLRP3, в большей степени, чем контрольные животные (Yan et al., 2015; Пирожков и др., 2018). Связывание α -syn с TLR на микроглии индуцирует высвобождение провоспалительных цитокинов, способных вызывать мисфолдинг и агрегацию эндогенного α -syn (Gruden et al., 2012; Kim et al., 2013; King, Thomas, 2017). Агрегированный α -syn, в свою очередь, усиливает инфильтрацию периферических иммунных клеток (моноклеарные фагоциты, Т-клетки), активно продуцирующих провоспалительные цитокины, что поддерживает нейровоспаление в хроническом состоянии, приводящее к ускорению клеточного апоптоза и дегенерации DA-нейронов (Brochard et al., 2009; Liu et al., 2017; Sulzer, Edwards et al., 2017; Iba et al., 2020; Lai et al., 2022) (рис. 2).

Морфологические данные были подтверждены современными методами нейровизуализации, основанными на оценке связывания тканью мозга высокочувствительных радиофармпрепаратов, в первую очередь, белка-транслокатора (TSPO), периферического бензодиазепинового рецептора, широко экспрессируемого активированными миелоидными клетками и астроцитами, применяемого для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). Использование для визуализации ПЭТ различных лигандов, таких как ¹¹C-РК11195, ¹¹C-DPA713, ¹⁸F-FERPA и ¹⁸F-DPA714, позволило обнаружить признаки микроглиальной активации не только

в SNpc, но и в других областях мозга (мост, базальные ганглии, скорлупа, затылочная, височная, теменная и лобная кора) (Gerhard, 2016; Terada et al., 2016; Белова с соавт., 2020; Kouli et al., 2020; Harms et al., 2021; Lavisse et al., 2021; Williams et al., 2021; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022).

При этом признаки нейровоспаления обнаруживались у пациентов с БП независимо от сроков возникновения заболевания (Gerhard, 2016), что предполагает высокую активность микроглии на ранних стадиях заболевания до гибели DA-нейронов в SNpc, параллельно с нарастающей дисфункцией нейронов и потерей DA-окончаний. Подобное состояние делает микроглию готовой к более жесткому ответу на последующие стимулы (включая гибель нейронов), что может усилить вызванный воспалением окислительный стресс в уязвимых областях мозга (Gerhard, 2016).

Помимо патологии α -syn, существует вероятность вклада других механизмов, объясняющих характер моторных и немоторных симптомов у пациентов с БП, поскольку, по некоторым данным, накопление телец Леви необязательно коррелирует с тяжестью симптомов (Bengoa-Vergniory et al., 2017; Harms et al., 2021). Кроме того, описаны случаи высокой нагрузки телец Леви у здоровых людей, не проявляющих характерные для БП симптомы (Bengoa-Vergniory et al., 2017). Посмертные гистологические исследования мозга показали, что активация микроглии при БП сопровождается повышенной экспрессией специфических белков, таких как HLA-DR⁺ (компонент МНС-II), рассматриваемого в качестве раннего патологического признака заболевания (McGeer et al., 1988; Orr et al., 2005; Dzamko et al., 2017; Harms et al., 2021). Другим маркером провоспалительного фенотипа микроглии при БП является активация фагоцитарного рецептора CD68 (известного также как макросиалин и широко используемого в экспериментальных моделях БП). Хотя существует высокая вероятность, что некоторые из этих клеток могут быть макрофагами периферического происхождения (Orr et al., 2005; Doorn et al., 2014; Dzamko et al., 2017; Harms et al., 2021).

Результаты ПЭТ показали, что у пациентов с ранней стадией БП повышается активация астроцитов в коре и стволе головного мозга, участвующих в различных физиологических функциях, таких как поддержание

Взаимосвязь центральных и периферических иммуновоспалительных процессов в патогенезе болезни Паркинсона

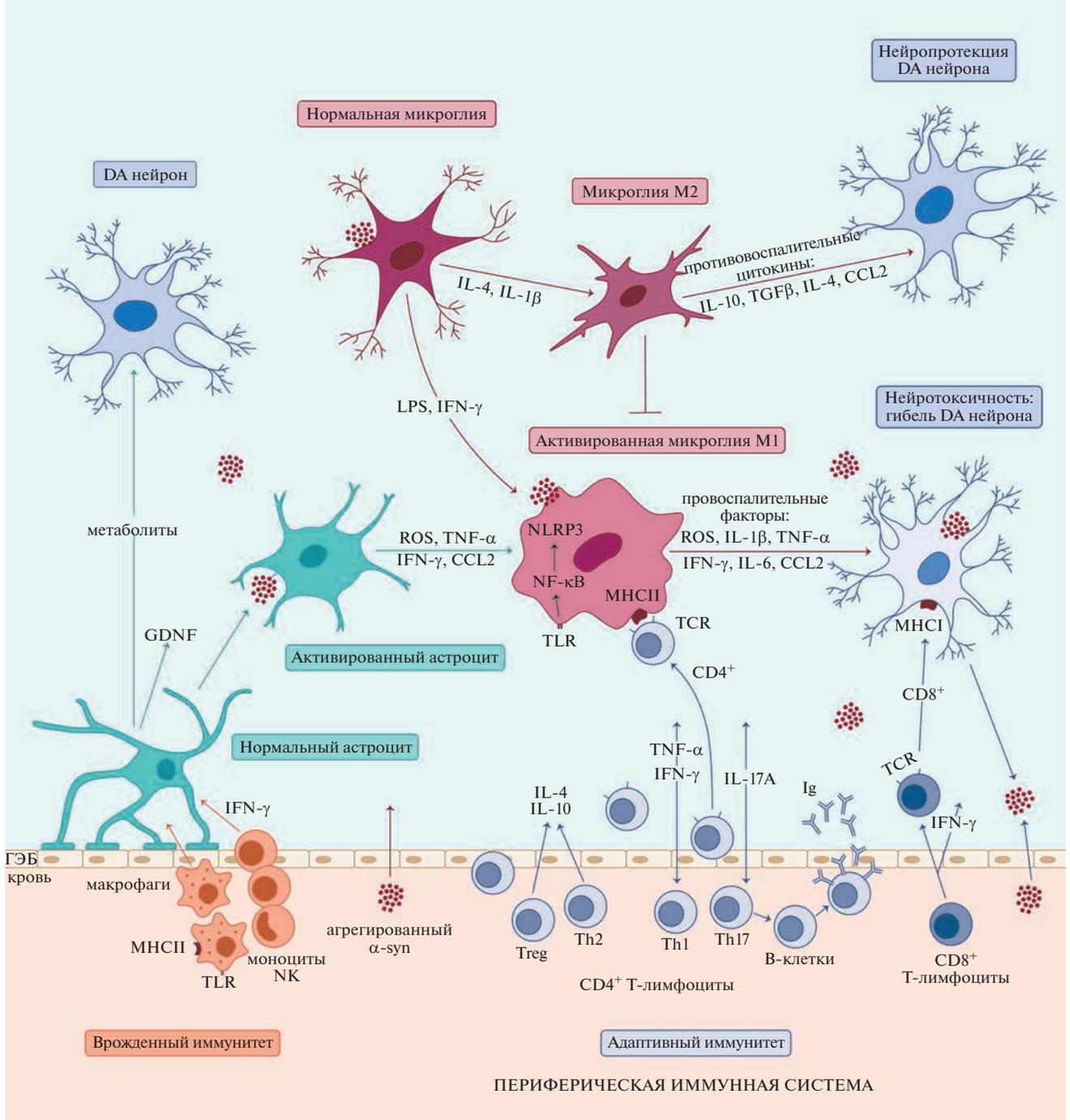


Рис. 2. Повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) при болезни Паркинсона (БП) позволяет провоспалительным молекулам с периферии проникать в мозг и вызывать длительную активацию глиальных клеток (микроглия, астроциты). В зависимости от эффекторного сигнала (патологически свернутый α -syn или бактериальные инфекции) микроглия поляризуется в провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) фенотип. Активированная микроглия M1 высвобождает свободные радикалы (ROS, NO) и провоспалительные цитокины – интерлейкин (IL-1 β), интерферон гамма (IFN- γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), которые приводят к нейродегенерации. Поврежденный нейрон выделяет α -syn, аденозинтрифосфат (АТФ) и другие молекулы, поддерживающие токсическую цепь воспалительного ответа. Нейропротекторная M2-микроглия секретирует противовоспалительные цитокины, такие как IL-10 или трансформирующий фактор роста бета (TGF β), которые, напротив, подавляют функции микроглии M1. Инфильтрация в мозг периферических CD4⁺ Т-хелперов (Th) клеток (Th1 и Th17), продуцирующих провоспалительные цитокины, усиливает воспаление и способствует потере нейронов, в то время как Th2 и регуляторные Т-клетки (Treg) оказывают противовоспалительный эффект. Th стимулируют В-клетки к продукции иммуноглобулинов (Ig), участвующих в нейровоспалении. CD8⁺ Т-лимфоциты распознают молекулы главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I), экспрессируемые на поверхности нейронов, и вызывают их гибель, выделяя цитолитические вещества или IFN- γ .

Fig. 2. Schematic representation of the interplay between central and peripheral immunoinflammatory processes in the pathogenesis of Parkinson's disease (PD). Disruption of the blood-brain barrier (BBB) in PD promotes pro-inflammatory molecules from the periphery to reach the brain and induce long-term activation of glial cells (microglia, astrocytes). Depending on the effector signal (abnormal α -syn or bacterial infections), microglia cells polarize into pro-inflammatory (M1) or anti-inflammatory (M2) phenotypes. Activated M1 microglia releases free radicals (ROS, NO) and pro-inflammatory cytokines – interleukin (IL-1 β), interferon gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) that contribute to neurodegeneration. The damaged neurons secrete α -syn, adenosine triphosphate (ATP), and other molecules, increasing the toxic-loop of inflammatory response. Anti-inflammatory cytokines such as IL-10 and transforming growth factor beta (TGF β), derived from neuroprotective M2 microglia, downregulate M1 functions. Infiltration into the brain of peripheral CD4⁺ T-helper (Th) cells (Th1 and Th17), secreting pro-inflammatory cytokines, enhances inflammation and contributes to neuronal loss, while Th2 and regulatory T cells (Treg) have an anti-inflammatory effect. Th stimulate B cells to produce immunoglobulins (Ig) involved in neuroinflammation. CD8⁺ T lymphocytes can recognize molecules of the Major Histocompatibility Complex I (MHC-I) expressed on the surface of neurons and cause their death by releasing cytolytic substances or IFN- γ .

нейронов, регуляция функций синапсов и ГЭБ (Khakh, Sofroniew, 2015; Cardinale et al., 2021).

ГЭБ представляет собой высокоспециализированную функциональную структуру, необходимую для защиты мозга от токсичных соединений и патогенов, присутствующих в циркулирующей крови (Daneman, Prat, 2015; Sweeney et al., 2019; Yang et al., 2022). Главным анатомическим субстратом ГЭБ являются эндотелиальные клетки капилляров головного мозга, которые, взаимодействуя со вспомогательными клетками (астроциты, перициты, микроглия, нейроны) образуют “нейроваскулярную единицу”, играющую ключевую роль в поддержании гомеостаза ЦНС (Daneman, Prat, 2015; Sweeney et al., 2019; Yang et al., 2022). Нарушение проницаемости ГЭБ лежит в основе патогенеза многих заболеваний, связанных с нейровоспалением и нейродегенерацией, включая БП (Cardinale et al., 2021; Yang et al., 2022). Хроническое воспаление при БП может вызывать ослабление или разрушение плотных контактов между эндотелиальными клетками, что позволяет медиаторам воспаления, таким как хемокины и цитокины, и периферическим иммунным клеткам (моно-

циты, Т-клетки) проходить через ГЭБ и усиливать нейровоспаление и процесс нейродегенерации (Cardinale et al., 2021; Lai et al., 2022; Yang et al., 2022). В результате между врожденной и адаптивной иммунной системой и хроническим нейровоспалением возникает порочный круг, вызывающий прогрессирование нейродегенерации.

РОЛЬ ХЕМОКИНОВ И ЦИТОКИНОВ В НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ БП

Хемокины являются хемотаксисными цитокинами, регулирующими направленную миграцию иммунных клеток в крови и тканях, которые в зависимости от положения в молекуле первых 2 цистеиновых остатков подразделяются на отдельные семейства – С, СС, СХС, СХХХС. Наряду с другими маркерами воспаления, такими как цитокины или С-реактивный белок (CRP), хемокины рассматриваются в качестве важных сигнальных молекул иммунной активации, проявляющих эффекты как в ЦНС, так и на периферии (Luo et al., 2019; Pawelec et al., 2020; Tan et al., 2020; Camacho-Hernández, Penga, 2023). Хе-

мокины широко экспрессируют рецепторы на нейронах, астроцитах, микроглиальных клетках и являются важными регуляторами межклеточных взаимодействий в норме и при различных заболеваниях головного мозга (Luo et al., 2019; Pawelec et al., 2020; Tan et al., 2020; Camacho-Hernández, Penga, 2023). Известно, что хемокины модулируют продукцию и высвобождение микроглией провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли альфа – TNF- α , IL-1 β , IL-6) и могут увеличивать проницаемость ГЭБ, облегчая проникновение иммунных клеток и белка в ЦНС, что вносит важный вклад в развитие нейровоспаления при многих неврологических расстройствах, включая БП (Luo et al., 2019; Pawelec et al., 2020; Tan et al., 2020; Camacho-Hernández, Penga, 2023).

Хемокины, относящиеся к СС-группе, моноцитарный хемотаксический белок 1 – MCP1 (или CCL2) и макрофагальный воспалительный белок 1 альфа (MIP1 α) обнаружены в полосатом теле и среднем мозге мышей с паркинсонизмом, вызванным введением нейротоксина MPTP (Tan et al., 2020). У животных с дефицитом микроглиального рецептора CX3CR1, наиболее высоко экспрессируемого в ЦНС хемокина CX3CL1 (известного также как фракталкин), потеря DA-нейронов была более выраженной после введения нейротоксинов MPTP или 6-OHDA (Luo et al., 2019). Кроме того, активация CX3CR1 предотвращала нейротоксичность микроглии и некроз нейронов в SNpc у мышей как после введения нейротоксинов, так и при нейродегенерации, обусловленной гиперэкспрессией α -syn (Nash et al., 2015; Thome et al., 2015; Camacho-Hernández, Penga, 2023).

Результаты клинических исследований свидетельствуют о наличии периферической воспалительной реакции (Pawelec et al., 2020; Tan et al., 2020; Harms et al., 2021; Qu et al., 2023). Несмотря на частые расхождения в оценке содержания циркулирующих хемокинов у пациентов с БП, данные, основанные на метаанализах последних лет, показали увеличение по сравнению с контрольными группами в сыворотке и плазме крови больных таких хемокинов, как CCL5 (RANTES), MCP-1, MIP1 α , IL-8, CXCL12 и его рецептора CXCR4, CX3CL1, рецептора растворимого фактора некроза опухоли (CTNFR) (Qu et al., 2023). При этом увеличение MCP-1 было в большей степени связано с двигательными симптомами и отмечалось не только в крови, но и в СМЖ (Qu et al., 2023).

Согласно большинству исследований, при БП в мозге происходит повышение уровней провоспалительных цитокинов (Harms et al., 2021; Hirsch EC, Standaert, 2021). Колебания уровней цитокинов, таких как TNF- α , интерферон γ (IFN γ), IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 (King, Thomas, 2017; Galiano-Landeira et al., 2020; Kouli et al., 2020; Воронина с соавт., 2021), могут зависеть от исследуемой структуры мозга. Так, показано, что, по сравнению с контрольной группой здоровых лиц, у пациентов с БП экспрессия провоспалительного цитокина IL-1 β повышается в SNpc и фронтальной коре, но не в других областях мозга (Kouli et al., 2020).

Прогрессирование нейродеградации при БП сопряжено не только с накоплением патологического α -syn в структурах мозга, но и со значительным повышением его уровня в сыворотке крови и СМЖ, что свидетельствует о развитии системного воспалительного ответа и тесной взаимосвязи регионарного нейровоспаления с периферическими иммунологическими процессами (Theodore et al., 2008; Sergeeva, Sergeev, 2011; Gruden et al., 2012; Boyko et al., 2017; Eidson et al., 2017; King, Thomas, 2017). Имеются данные о том, что увеличение титров циркулирующих антител к α -syn сопровождается накоплением эндогенного α -syn в DA-нейронах (Sergeeva, Sergeev, 2011), а также повышением в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов, усиливающих агрегацию эндогенного α -syn (Gruden et al., 2012; Kim et al., 2013; King, Thomas, 2017). Другими авторами установлена прямая зависимость уровней IFN γ и С-реактивного белка в СМЖ и в сыворотке крови от колебаний в содержании α -syn в СМЖ (Eidson et al., 2017).

Изменения в содержании про- и противовоспалительных цитокинов и других ассоциированных с иммунитетом молекул в СМЖ, в сыворотке или плазме крови у пациентов с БП подтверждены значительным числом исследований (Brodacki et al., 2008; Reale et al., 2009; Милюхина и др., 2015; Boyko et al., 2017; King, Thomas, 2017; Karpenko et al., 2018; Lai et al., 2022; Tian et al., 2022; Qu et al., 2023).

Продемонстрировано повышение уровней TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-4 в СМЖ пациентов с БП (Reale et al., 2009; Милюхина и др., 2015; King, Thomas, 2017; Karpenko et al., 2018; Lai et al., 2022; Qu et al., 2023), при этом колебания в содержании некоторых цитокинов зависели от особенностей течения забо-

левания, выраженности некоторых симптомов и в некоторых случаях от осложнений, связанных с применяемой терапией (Yu et al., 2014; Милюхина и др., 2015; Eidson et al., 2017; King, Thomas, 2017; Karpenko et al., 2018; Qu et al., 2023). В частности, показано, что уровень IL-6 в СМЖ пациентов с БП коррелирует с выраженностью когнитивных нарушений (Yu et al., 2014), а уровень TNF- α в СМЖ при умеренном и медленном темпе прогрессирования БП значительно выше, чем при быстром (Милюхина и др., 2015).

Сочетание IL-1 β , IL-2 и IL-6 предполагает наличие провоспалительной реакции, так как все три цитокина оказывают губительное воздействие на нейроны и другие типы клеток, участвующие в патогенезе воспалительных заболеваний (Filiano et al., 2017). Однако IL-4 включен в нейропротекторные и нейро-регенеративные процессы в ЦНС (Filiano et al., 2017) и развитие аллергических и аутоиммунных заболеваний (Gadani et al., 2012). Более поздние исследования обнаружили в СМЖ пациентов с БП увеличение продукции TNF- α и IFN- γ , обладающих выраженным иммуноактивирующим и нейротоксическим действием, а также противовоспалительного цитокина IL-10, участвующего преимущественно в модуляции врожденного иммунитета с участием Т-регуляторных клеток (Tregs) (Brodacki et al., 2008; Filiano et al., 2017).

Большинство исследований указывает на повышение ключевых воспалительных (TNF- α , IFN γ , IL-1 β , IL-2, IL-6, RANTES, С-реактивный белок) и противовоспалительных факторов (IL-10, IL-4) в сыворотке крови или плазме пациентов с БП (Brodacki et al., 2008; Reale et al., 2009; Gruden et al., 2012; Williams-Gray et al., 2016; Eidson et al., 2017; King, Thomas, 2017; Karpenko et al., 2018; Usenko et al., 2020; Lai et al., 2022; Qu et al., 2023). Однако полученные результаты о направленности изменений некоторых периферических маркеров воспаления при БП не всегда совпадают. У пациентов на разных стадиях БП сывороточный IFN γ может повышаться (Brodacki et al., 2008), снижаться или не меняться (Gruden et al., 2012; Eidson et al., 2017) по сравнению со здоровыми лицами того же возраста. Точно так же существуют данные как о повышении сывороточного уровня TNF- α у пациентов с БП (Brodacki et al., 2008; Gruden et al., 2012; Williams-Gray et al., 2016), так и его снижении (Gupta et al., 2016; Eidson et al., 2017). Получены подтверждения связи сывороточных

уровней IL-6 и IL-1 β с продолжительностью БП и темпом ее прогрессирования у пациентов (Милюхина и др., 2015; Karpenko et al., 2018) и при моделировании паркинсонизма у экспериментальных животных (Harms et al., 2021). Показано, что содержание в сыворотке крови TNF α и IL-10 коррелирует у пациентов с БП с нарушениями моторных функций, сна и выраженностью когнитивного дефицита (Милюхина и др., 2015; Williams-Gray et al., 2016; Karpenko et al., 2018; Qu et al., 2023). Высокий уровень IL-10 также коррелирует с чувством усталости, проявлениями повышенной тревожности и депрессии (Милюхина и др., 2015; Karpenko et al., 2018). Установлена взаимосвязь содержания цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-10 и С-реактивного белка в сыворотке крови и СМЖ (Eidson et al., 2017; Karpenko et al., 2018).

Интересно, что хроническая повышенная экспрессия одного провоспалительного цитокина в SNpc, такого как IL-1 β , может вызывать большинство характеристик БП, включая прогрессирующую гибель DA-клеток, акинезию и глиальную активацию (Ferrari et al., 2011).

Наличие высоких концентраций некоторых цитокинов в СМЖ и периферической крови, указывающих на наличие системного воспаления, по всей видимости, не специфично для БП (Grigoryan et al., 2000; Boyko et al., 2017). Например, увеличение уровня IL-1 β в СМЖ наблюдается не только у пациентов с БП, но и при болезни Альцгеймера и деменции с тельцами Леви в сочетании с повышенной экспрессией IL-1 β в микроглии в непосредственной близости от нейронов, высоко иммунореактивных в отношении β -амилоидного белка-предшественника (Grigoryan et al., 2000). В периферической крови повышенные уровни IL-6, IL-1 β и TNF- α часто обнаруживаются как при БП, так и многих других нейродегенеративных заболеваниях (Boyko et al., 2017).

Предполагается, что при нейродегенеративных заболеваниях, включая БП, растворимые молекулы циркулирующих цитокинов обеспечивают тесную взаимосвязь процессов, происходящих в ЦНС и периферической иммунной системе (Kortekaas et al., 2005; Reale et al., 2009; Dзамко et al., 2017; Sweeney et al., 2019; Bhatia et al., 2021; Hirsch, Standaert, 2021; Williams et al., 2021).

При этом колебания продукции хемокинов и цитокинов в мозге и на периферии сопровождаются изменениями содержания и активности различных клеточных популяций (моноциты, естественные киллеры, Т- и В-клетки) и их субпопуляций.

УЧАСТИЕ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ИММУННЫХ КЛЕТОК В ПАТОГЕНЕЗЕ БП

Изменения состава и миграционных свойств периферических иммунных клеток при БП включают дисрегуляцию клеток врожденного иммунитета, таких как моноциты/макрофаги и нейтрофилы, которые, так же как и микроглия, являются клетками миелоидного происхождения и могут проникать в ЦНС при патологических состояниях, связанных с нейровоспалением и нейродегенерацией (Harms et al., 2021; Nissen et al., 2021; Su et al., 2022; Tian et al., 2022; Williams et al., 2022).

Моноциты обычно подразделяют на три функционально различных подкласса: классические, несущие маркер CD14⁺⁺CD16⁻, промежуточные (CD14⁺⁺CD16⁺) и неклассические (CD14⁺CD16⁺⁺) моноциты (Harms et al., 2021). Классические моноциты составляют 90% всей популяции и являются предшественниками тканевых макрофагов и дендритных клеток, которые обладают высокими фагоцитарными и антигенпрезентирующими свойствами и принимают участие во врожденном иммунном ответе. Эти клетки характеризуются повышенной экспрессией хемокиновых рецепторов, а при активации высвобождают IL-10, CCL2, IL-6 и RANTES (Harms et al., 2021; Tian et al., 2022; Williams et al., 2022). Промежуточные моноциты экспрессируют самые высокие уровни молекул, связанных с презентацией антигена (МНСII), и, так же как и неклассические моноциты, секретируют TNF, IL-1 β , IL-6 и IL-8 (Harms et al., 2021; Tian et al., 2022; Williams et al., 2022).

В периферической крови и СМЖ пациентов с БП обнаружено повышенное содержание классических моноцитов, экспрессирующих CCL2 (Grozdanov et al., 2014). Моноциты CD14⁺, выделенные у пациентов с БП, обладают гиперчувствительностью к стимуляции ЛПС и измененной реакцией на патологический α -syn (Grozdanov et al., 2014; Harms et al., 2018, 2021). По другим данным, моноциты пе-

риферической крови пациентов с БП отличаются сниженной чувствительностью к ЛПС и фибриллярному α -syn, неспособностью модулировать экспрессию таких белков, как CD163, и эффективно продуцировать цитокины (Harms et al., 2021; Nissen et al., 2021). При этом число моноцитов с фенотипом CD163 положительно коррелирует с нейродегенеративными и нейрональными маркерами, такими как α -syn, общий и фосфорилированный h-TAU-белок, но не когнитивными показателями (Nissen et al., 2021).

Направленность изменений пролиферативной и фагоцитарной активности мононуклеарных клеток периферической крови при БП может быть различной и зависит от многих факторов, таких как тяжесть и продолжительность заболевания, используемые иммунные стимулы и маркеры врожденного иммунитета (Wijeyekoon et al., 2018; Harms et al., 2021; Nissen et al., 2021; Su et al., 2022). Так, более высокая фагоцитарная способность моноцитов у пациентов с БП наблюдалась только в ранние сроки после постановки диагноза. При этом, несмотря на повышенную экспрессию на этих клетках TLR4, сывороточный клиренс α -syn не менялся, что свидетельствует о селективной недостаточности или подавлении процесса захвата α -syn (Wijeyekoon et al., 2018; Harms et al., 2021).

Уже на начальных стадиях заболевания на циркулирующих моноцитах обнаруживаются изменения экспрессии генов, участвующих в иммунной активации, таких как HLA-DQB1 (система МНСII), MYD88, связанного с TLR2- и TLR4-рецепторами, транскрипционных факторов семейства Nf κ B/Rel и нейротрофического фактора- α (Nf α) (Harms et al., 2021; Nissen et al., 2021; Tian et al., 2022), что указывает на раннюю иммунную дисфункцию при БП.

Моноциты представляют собой высоко динамичную популяцию и участвуют в интегрированном иммунном ответе при БП (Pey et al., 2014; Harms et al., 2018, 2021). Инфильтрация периферических моноцитов/макрофагов при БП подтверждается данными о повышенной экспрессии в головном мозге белков, связанных с миелоидными клетками, не относящимися к микроглии, таких как CD163 и CCR2 (Pey et al., 2014; Harms et al., 2018, 2021). Увеличение количества клеток, экспрессирующих CD163, наблюдается и в экспериментальных моделях БП у грызунов (Tentillier et al., 2016; Harms et al., 2021). Гиперэкспрессия α -syn че-

ловека у мышей вызывает значительную инфильтрацию в SN провоспалительных периферических моноцитов, несущих рецептор $CCR2^+$, а генетическая делеция этих рецепторов предотвращает инфильтрацию моноцитов в мозг, ослабляет экспрессию МНСII и блокирует последующую дегенерацию DA-нейронов (Harms et al., 2018, 2021). В классических моноцитах пациентов с БП $CCR2^+$ активируется даже несмотря на снижение общего количества $CCR2^+$ -моноцитов (Funk et al., 2013), хотя другие авторы показали активацию оси $CCR2$ - $CCL2$ и обогащение $CCL2$ в крови больных (Reale et al., 2009; Grozdanov et al., 2014).

Несмотря на некоторые расхождения в полученных результатах, существуют убедительные свидетельства о важной роли врожденного иммунного ответа в иммунных механизмах развития БП и его реализации, как на периферии, так и в структурах мозга.

T-клетки, основной компонент адаптивной иммунной системы, – один из первых кандидатов на потенциальное участие в патогенезе БП (Gonzalez et al., 2013, 2015; Jiang et al., 2017; Kustrimovic et al., 2018; Sun et al., 2019; MacMahon Copas et al., 2021; Contaldi et al., 2022; Garetti et al., 2022; Weiss et al., 2022). Они имеют гетерогенный состав, в который входят $CD4^+Th$ 1-го и 2-го типа, $CD4^+Th17$, $CD4^+$ и $CD8^+$ цитотоксические, $CD4^+CD25^+$ и $CD8^+CD25^+$ T regs-клетки, каждая из этих субпопуляций играет свою особую роль в механизмах нейровоспаления и нейродегенерации при БП, что будет рассмотрено ниже.

$CD4^+$ T-лимфоциты ($CD4^+Th$) – самая большая субпопуляция T-клеток, которая, обеспечивая эффективный иммунный ответ, играет решающую роль в патогенезе иммунных и воспалительных заболеваний. Наивные $CD4^+Th$ при стимуляции могут проявлять про- ($Th1$ и $Th17$) или противовоспалительные ($Th2$ и Tregs) фенотипы как на периферии, так и в структурах мозга (O'Shea, Paul, 2010; Zhu et al., 2010; González et al., 2015; Kustrimovic et al., 2018; Filliano et al., 2017; Baird et al., 2019). В настоящее время $CD4^+$ T-клетки разделяют на 8 подтипов: наивные $CD4^+$ T-клетки, центральные $CD4^+$ T-клетки памяти, цитотоксические $CD4^+$ T-клетки, $Th1$, $Th2$, $Th17$, фолликулярные Th -Tfh-клетки and Tregs (Wang et al., 2021), – каждый из которых продуцирует свой набор цитокинов, экспрессирует различные транскрипционные факторы (DuPage, Blue-

stone, 2016) и принимает разное участие в патогенезе БП (Chen et al., 2015; Kustrimovich et al., 2018; Wang et al., 2021; Liu et al., 2021; Yan et al., 2021). Обнаружено, что при БП значительно увеличивается число $Th1$ -клеток, высоко экспрессирующих маркер $CD4$ и гены гранзимов А и В, перфорины, выполняющие цитотоксическую функцию (Wang et al., 2021). Примечательно, что у пациентов с БП популяция цитотоксических $CD4^+$ T-клеток ($CD4$ CTL) клонально расширена и может быть источником центральных инфильтрирующих цитотоксических $CD4^+$ T-клеток (Wang et al., 2021), проникающих с периферии в SN и способствующих активации микроглии и гибели DA-нейронов (Brochard et al., 2009; Gonzalez et al., 2015; Iba et al., 2020; Rostami et al., 2020; Wang et al., 2021; Li et al., 2021b; MacMahon Copas et al., 2021; Yan et al., 2021). Это было выявлено в посмертных срезах головного мозга, преимущественно в периваскулярном пространстве и стенках сосудов, непосредственно контактирующих с астроцитами, экспрессирующими МНС-II и, вероятно, факторы, необходимые для активации T-клеток при прогрессировании БП (Rostami et al., 2020). Кроме того, показано, что дефицит $CD4^+$ T-клеток приводит к значительному ослаблению нейродегенерации в мышечной модели БП, индуцированной МРТР, что позволяет говорить о фундаментальной роли воспалительных $CD4^+$ T-клеток в гибели нейронов (Benner et al., 2008; Brochard et al., 2009; Sommer et al., 2016; MacMahon Copas et al., 2021).

В исследованиях, особенно последних лет, сообщалось об изменении $CD4^+$ T-клеток и их субпопуляций при БП на периферии. Одними авторами показано снижение $CD4^+$ -клеток и их подмножеств (Baba et al., 2005; Niwa et al., 2012; Saunders et al., 2012; Stevens et al., 2012; Chen et al., 2015; Hu et al., 2018). Другими же исследователями обнаружено увеличение числа $CD4^+$ -клеток, а также их субпопуляций $Th1$ и $Th17$ (Grozdanov et al., 2014; Yan et al., 2021; Iдова et al., 2021), но снижение $Th2$ и Tregs в периферической крови пациентов с БП (Sommer et al., 2016; Chen et al., 2017; Kustrimovic et al., 2018). Важным при БП является изменение соотношения про- и противовоспалительных субпопуляций $CD4^+$ T-клеток, при котором уменьшение циркулирующих $Th2$, $Th17$, $Th1/Th17$ и Treg приводит к увеличению соотношения $Th1/Th2$ и $Th17/Tregs$ (Chen et al., 2015; Kustrimovic et al., 2018; Li et al., 2021b). Во всех случаях

дисбаланс субпопуляций CD4⁺ Т-клеток и дисрегуляция Tregs клеточного звена были связаны с тяжестью клинических проявлений заболевания (Kustrimovic et al., 2018; Magistrelli et al., 2020; Chen et al., 2021; Yan et al., 2021).

Известно, что нейромедиаторы влияют на функцию нейронов, микроглии (González et al., 2015) и иммунных клеток (Idova et al., 2012; Альперина, 2014; Kawano et al., 2018). Нейромедиаторная дисрегуляция при БП, ассоциированная с недостаточностью DA-системы и нарушением ее взаимодействия с другими нейромедиаторными системами (глутаматная, ГАМКергическая), может изменить функцию CD4⁺Т-клеток и способствовать усилению нейровоспаления (González et al., 2015). Обнаружено, что DA D2- и D3-рецепторы экспрессируются на CD4⁺Т-клетках и принимают участие в механизмах нейровоспаления и нейродегенерации (González et al., 2013; Liu et al., 2021). DA-рецептор D3-типа способствует активации клеток и приобретению ими воспалительного фенотипа Th1, участвуя в выработке IFN-γ CD4⁺Т-клетками у человека. Дефицит D3-рецепторов защищает от гибели DA-нейроны и снижает активацию микроглии в МРТР-вызванной модели БП (González et al., 2013). Напротив, у мышей, нокаутных по D2-рецепторам, в ответ на введение МРТР наблюдались более тяжелые последствия DA-нейродегенерации, двигательный дефицит, активация микроглии и смещение CD4⁺Т-клеток в сторону фенотипов Th1 и Th17 (Liu et al., 2021). Эти данные свидетельствуют о том, что D2-рецепторы, экспрессируемые на CD4⁺Т-клетках, защищают от нейровоспаления и нейродегенерации при БП и должны быть учтены при разработке терапевтической стратегии снижения симптомов БП.

Активированная микроглия индуцирует экспрессию молекул МНС класса I катехоламинергическими нейронами человека, повышая восприимчивость DA-нейронов к гибели в присутствии цитотоксических Т-лимфоцитов (Sebrián et al., 2014).

В настоящее время имеются доказательства, что при прогрессировании БП происходят изменения фенотипов лимфоцитов периферической крови, включая подмножества CD4⁺-клеток, которые по своему характеру отличаются от другого нейродегенеративного заболевания — болезни Альцгеймера (Garfias et al., 2022). По мере прогрессирования БП наблюдалось зна-

чительное снижение активированных Т-клеток CD4⁺CD69⁺ и CD8⁺CD69⁺ и Т-клеток, восприимчивых к апоптозу, а также некоторых регуляторных популяций CD19⁺CD5⁺IL10⁺FoxP3⁺ и CD4⁺FoxP3⁺CD25⁺CD45RO⁺. Прогрессирование же болезни Альцгеймера связано с более низким процентом CD4⁺CD38⁺-клеток и более высоким процентом эффекторных CD4-клеток в начале исследования (Garfias et al., 2022). Но насколько этот феномен специфичен для БП по отношению к другим нейродегенеративным заболеваниям, остается неясным.

Содержание клеток может иметь динамический характер, например, у пациентов с ранней клинической стадией БП значительно снижается число наивных CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток при повышении центральных CD4⁺Т-клеток памяти, а также увеличивается число CD4⁺Th17, CD4⁺Th2 и CD8⁺Т-клеток, соответственно продуцирующих IL-17, IL-4, IFN-γ. При этом содержание Th1- и Tregs-клеток существенно не изменялось (Yan et al., 2021).

Эффекторная популяция CD4⁺Th17-клеток, продуцирующая IL-17, IL-21, IL-22, и гранулоцитарно-макрофагальный колоний-стимулирующий фактор участвуют в аутоиммунных и неврологических заболеваниях. Ключевой функцией IL-17, основного цитокина Th17, является мобилизация миелоидных клеток в периферических иммунных органах, которые затем поступают в ЦНС и приводят к аутоиммунным заболеваниям (McGinley et al., 2020). В последнее время появились данные об участии Th17 и цитокина IL-17A в гибели DA-нейронов и, таким образом, в патогенезе БП (Sommer et al., 2018; Chen et al., 2020; Shi et al., 2022). И, хотя механизмы влияния Th17-клеток на процессы нейродегенерации в настоящее время до конца не установлены, по-видимому, они обусловлены влиянием на резидентные клетки мозга с усилением активации микроглии, рекрутированием других типов иммунных клеток в ЦНС, активацией NF-κB каскада через IL-17-сигнальный путь (Chen et al., 2020; Shi et al., 2022). Возможно, этот процесс осуществляется через прямое взаимодействие лимфоцитарного функционального антигена (LFA-1) на Th17 и молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1) на нейронах или через продуцируемый клетками IL-17 (Sommer et al., 2018).

Данные о содержании Th17-клеток у пациентов с БП довольно противоречивы, показав-

но как увеличение их числа в периферической крови (Chen et al., 2017; Sommer et al., 2018), так и снижение по сравнению со здоровыми лицами, что может быть связано с динамическим характером изменения уровня этих клеток (Kustrimovic et al., 2018). Так, наибольшее увеличение содержания Th17 в циркуляции в основном отмечается на ранних клинических стадиях заболевания (Chen et al., 2017; Sommer et al., 2018).

Исследования взаимодействий уровня Th17-клеток с показателями клинических проявлений БП выявили наличие взаимосвязей с немоторными проявлениями БП, в частности, с выраженностью когнитивных нарушений и деменции (Kalia, Lang, 2015).

Регуляторные CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T-клетки, ранее известные как T-клетки-супрессоры, участвуют в регуляции иммунных и воспалительных процессов и играют важную роль в ряде нейропатологий, включая БП (Reynolds et al., 2007, 2010; Fuzzati-Armentero et al., 2019; Álvarez-Luquín et al., 2019; Li et al., 2021б). Вместе с тем вопрос об их вкладе в патогенез БП до настоящего времени остается спорным.

Исследованиями *in vitro* показано, что CD4⁺CD25⁺Tregs-клетки могут подавлять микроглиоз (Kannarkat et al., 2013), а с помощью экспериментальных моделей обнаружена их способность ограничивать нейродегенерацию DA-нейронов (Reynolds et al., 2007; Huang et al., 2014).

Снижение их периферического уровня ассоциировано с фенотипическим сдвигом микроглии от противовоспалительного (CD206⁺) к провоспалительному (CD32⁺) фенотипу, повышением гибели нейронов в SN, а также с индукцией хронического нейровоспалительного состояния, что предполагает важную модулирующую роль Tregs в процессах нейродегенерации (Kannarkat et al., 2013). Особое значение имеет не столько сам уровень Tregs-клеток, а их соотношение с другими T-клетками. Так, у пациентов и в экспериментальных моделях БП на мышах обнаружено снижение количества Tregs в периферической крови по сравнению с контролем на фоне повышения содержания провоспалительных Th1 и Th17 (Reynolds et al., 2007; Álvarez-Luquín et al., 2019; Li et al., 2021б). Истощение Tregs-клеток усугубляло экспериментально индуцированную БП, тогда как нейтрализация TNF α , продуцируемого Th1, ослабляла забо-

левание. Перенос Tregs экспериментальным животным с БП уменьшал тяжесть заболевания, обеспечивая более чем 90%-ю защиту nigростриатной системы (Reynolds et al., 2007; Li et al., 2021б), в то время как перенос Th1 или Th17 увеличивал нейродегенерацию (Reynolds et al., 2007, 2010; Li et al., 2021б).

CD4⁺CD25⁺Tregs, как и другие популяции регуляторных клеток, экспрессируют гены, кодирующие DA-рецепторы, что особенно важно, если учесть, что для терапии БП используются L-ДОФА и агонисты DA-рецепторов (Arce-Sillas et al., 2019).

T-клетки с фенотипом CD8 играют важную роль в патогенезе многочисленных нарушений ЦНС (Sulzer et al., 2017; Lindestam Arlehamn et al., 2020; Galiano-Landeira et al., 2020; Yan et al., 2021). Так, анализ T-клеток показал значительное увеличение числа CD8⁺T-лимфоцитов в SN пациентов с БП по сравнению с таковыми в контрольной группе, при этом их плотность коррелировала с гибелью нейронов и зависела от стадии заболевания. Полагают, что проникновение цитотоксических CD8⁺T-клеток в SN, способных контактировать с DA-нейронами, является более ранним патогенным событием, чем агрегация α -syn и дегенерация нейронов (Galiano-Landeira et al., 2020).

Следует отметить, что наличие CD8⁺T-клеток, содержащих разные наборы цитолитических ферментов (гранзим А, В и К) и/или провоспалительных цитокинов, характеризует ранние и поздние клинические стадии заболевания (Galiano-Landeira et al., 2020). При стимуляции CD8⁺T-клетки могут усиливать молекулярный репертуар высвобождения глутамата из везикул, включая глутаминазу, которая необходима для генерации глутамата и его транспортеров (Melzer et al., 2013), и, таким образом, могут играть ключевую роль в иммуноопосредованной нейродегенерации (Galiano-Landeira et al., 2020).

При БП обнаружено значительно увеличение CD8⁺T-клеток, распознающих белки α -syn и продуцирующих IFN γ , как известно, усиливающий цитотоксические свойства клеток, что потенциально способствует иммунным нарушениям при БП (Sulzer et al., 2017; Lindestam Arlehamn et al., 2020; Yan et al., 2021). В то же время известно, что повышенная экспрессия IFN γ связана с активацией микроглии, гибелью DA-нейронов в SN и двигательными нарушениями (Barcia et al., 2011; Chakrabarty et al., 2011). В ответ на IFN γ DA-нейроны могут экс-

прессировать гены МНС класса I, что делает их восприимчивыми к воздействию цитотоксических CD8⁺T-клеток (Cebrián et al., 2014). Таким образом, увеличение IFN γ -продуцирующих цитотоксических CD8⁺T-клеток может способствовать как нейровоспалению, так и повреждению нейронов при БП.

В последние годы показано, что не только CD4⁺T-клетки, но и CD8⁺T-клетки, продуцирующие IL-10, обладают регуляторной функцией. Функциональная активность популяций CD4⁺CD25⁺ и CD8⁺CD25⁺Tregs у пациентов с БП, не принимающих DA-препараты, снижена по сравнению со здоровыми лицами (Álvarez-Luquín et al., 2019). Учитывая, что БП ассоциируется с хроническим воспалением, связанным с недостаточным противовоспалительным ответом, предполагается, что дисбаланс между этими процессами может, по крайней мере частично, лежать в основе патогенеза БП.

Методом одноклеточного секвенирования РНК (scRNA-Seq) было показано, что, по сравнению с контролем, в периферической крови и в СМЖ у пациентов с БП увеличена доля CD8⁺T-клеток и снижено количество CD4⁺T-клеток и соотношение CD4/CD8, что может свидетельствовать о наличии иммунодефицита или аутоиммунных процессов (Wang et al., 2021). В других исследованиях показано увеличение уровня CD3⁺T-клеток и CD4⁺T-клеток при неизменном количестве CD8⁺T-клеток, что приводило к значительному повышению соотношения CD4⁺/CD8⁺T-клеток, при этом была отмечена отрицательная корреляция содержания CD4⁺T-клеток со стадиями заболевания (Chen et al., 2021).

Итак, обе популяции T-клеток (CD4⁺ и CD8⁺), их отдельные субпопуляции и соотношение между ними вносят важный вклад в механизмы нейровоспаления и нейродегенерации при БП.

B-клетки являются неотъемлемой частью адаптивной иммунной системы и единственным типом клеток, способным секретировать антитела, а также вырабатывать про- и противовоспалительные цитокины, участвующие в регуляции иммунных и воспалительных реакций (Cyster et al., 2019; Ahn et al., 2021).

В последние годы выявлена роль B-клеток в механизмах развития ряда неврологических расстройств, которые, способствуя активации глии, могут вносить вклад в патогенез

нейродегенеративных заболеваний, включая БП (Sabatino et al., 2019). У α -syn $-/-$ мышей наблюдались дефекты B-клеточно-опосредованных иммунных реакций (Xiao et al., 2014), а отсутствие как T-, так и B-клеток у мышей с нокаутом RAG2 при индукции БП введением МРТР приводило к снижению гибели DA-нейронов и поведенческих расстройств (Benner et al., 2008; Brochard et al., 2009; Lira et al., 2011).

B-клетки, в отличие от T-клеток, не выявлены в головном мозге человека (Brochard et al., 2009; Yan et al., 2021), хотя были обнаружены в мозге животных в отдельных моделях БП (Theodore et al., 2008). Предполагается, что B-клетки могут участвовать в нейровоспалении, через периферические иммунные механизмы, включая выработку цитокинов и антител.

Известно, что у пациентов с БП повышен уровень антител к α -syn в крови и СМЖ (Hogvath et al., 2017; Akhtar et al., 2018). В модели БП на мышцах, получавших МРТР, показана продукция естественных антител к нитрованному α -syn (Benner et al., 2008). Отложения IgG обнаружены на тельцах Леви и на DA-нейронах в мозге пациентов с БП и могут вызывать селективную гибель DA-нейронов (Chen et al., 1998; Orr et al., 2005). Хотя эти данные указывают на то, что гуморальный иммунитет играет потенциальную роль в развитии БП, относительный вклад периферических подтипов B-клеток в этиологию БП все еще неясен.

Клинические и экспериментальные данные о B-клетках на периферии при БП достаточно противоречивы — от отсутствия изменения их содержания (Zhang et al., 2014; Jiang et al., 2017; Cen et al., 2017; Жанаева и др., 2020) до снижения по сравнению со здоровым контролем (Bas et al., 2001; Gruden et al., 2011; Stevens et al., 2012; Niwa et al., 2012).

На трансгенных мышях A53T, экспрессирующих мутантный ген α -syn, было показано, что у молодых 2-месячных мышей процентное количество CD19⁺B-клеток уменьшалось на фоне увеличения CD3⁺T-клеток и CD4⁺Th, тогда как у старых и контрольных мышей содержание CD19⁺B-клеток было равным (Idova et al., 2021).

Уровень CD19⁺B-лимфоцитов в периферической крови у пациентов с идиопатической БП не отличалось от здоровых лиц в общей группе, состоящей из индивидуумов обоих полов, но у женщин были обнаружены значимые различия, которые зависели от стадии заболевания (Жанаева и др., 2020). Кроме

того, у пациентов с БП содержание В-клеток у женщин было значительно выше, чем у мужчин, тогда как здоровые мужчины и женщины не отличались по количеству В-лимфоцитов. По другим данным, гендерные особенности уровня В-клеток отмечались не только у пациентов с БП, но и у здоровых лиц (Cen et al., 2017). Известно, что мужчины болеют примерно в 2 раза чаще, чем женщины, и существуют половые различия в развитии БП (участие D1- и D2-рецепторов, экспрессия цитокинов в мозге, чувствительность к нейродегенеративным стимулам, реакция на терапию и т.д.) (Cerri et al., 2019). Установлена зависимость процентного содержания В-клеток от показателей шкалы UPDRS, которая давала основание говорить о негативной корреляции между степенью тяжести заболевания и содержанием В-клеток как о предикторе прогрессирования БП (Cen et al., 2017).

Показано, что даже при неизменном уровне В-клеток структура субпопуляций В-клеток значительно меняется при БП и одни подтипы В-клеток повышены, тогда как другие снижены или не изменены (Жанаева и др., 2020; Yan et al., 2021; Wang et al., 2022).

Всесторонний анализ характеристик периферических В-клеток позволил по-новому взглянуть на гуморальный иммунный ответ в патогенезе БП (Wang et al., 2022). С помощью секвенирования одноклеточной РНК и рецепторов В-клеток обнаружено значительное увеличение числа В-клеток памяти и снижение наивных В-клеток у пациентов с БП по сравнению со здоровыми контрольными группами. При БП также наблюдалось повышение изотипов IgG и IgA и более частые случаи рекомбинации с переключением классов Ig.

Клинические исследования показали значительное увеличение количества В-клеток, продуцирующих TNF α , являющегося биомаркером риска развития БП и кандидатом для выявления БП на продромальной стадии (Clark, Vissel, 2018; Majbour et al., 2020, Yan et al., 2021).

Обнаруженные сравнительно недавно регуляторные В-клетки (V-regs) рассматриваются как новая субпопуляция, участвующая в воспалительных, аутоиммунных и нейродегенеративных процессах (Kessel et al., 2012; Rosser, Mauri, 2015; Sabatino et al., 2019; Álvarez-Luquín et al., 2021). Получены данные о

способности V-regs продуцировать противовоспалительные цитокины ИЛ-10, ИЛ-35 и TGF β , оказывающие влияние на Tregs, Th1 и T χ 17 на разных стадиях развития воспалительной реакции (Kessel et al., 2012; Rosser, Mauri, 2015).

Существуют также единичные работы об изменении содержания и функции CD19⁺CD25⁺ регуляторных В-клеток (Vregs) у пациентов с БП (Álvarez-Luquín et al., 2019, Жанаева и др., 2020; Li et al., 2021a). В отличие от здоровых лиц, выявлено повышение числа CD19⁺CD25⁺V-regs в периферической крови пациентов с идиопатической БП в смешанной группе и в группе женщин, наиболее выраженное на III стадии заболевания (Жанаева и др., 2021). В другом исследовании, наоборот, было показано снижение содержания субпопуляции Vregs у пациентов с БП, тогда как доля провоспалительных В-клеток, продуцирующих цитокины TNF α и GM-CSF, увеличивалась, что привело к провоспалительному сдвигу В-клеточной реакции. При этом уровень фолликулярных Th снижался, что коррелировало с В-клеточными нарушениями и свидетельствовало об aberrантном взаимодействии этих клеток при БП (Li et al., 2021a).

Приведенные данные об изменениях при БП состава периферических В-клеток и их функции, уровня Ig и цитокинов, продуцирующихся этими клетками на периферии и в мозге, указывают на возможность вклада В-лимфоцитов и их субпопуляций в патогенез БП.

ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ЛЕЧЕНИЯ БП

Клиническое лечение БП в основном осуществляется DA-препаратами, восполняющими дефицит DA-системы, что лишь улучшает отдельные симптомы заболевания. Причем длительный процесс нейродегенерации при прогрессировании заболевания приводит к неответственности на DA-терапию. Поэтому в настоящее время ведется активный поиск новых стратегий, направленных на отдельные звенья патогенеза БП. Значительное число экспериментальных работ и первые клинические разработки в основном касаются подавления процесса нейровоспаления с использованием большого числа известных в практике препаратов типа ибупрофена, который оказывает умеренный защитный эффект в гибели DA-нейронов и снижении риска

развития БП (Chen et al., 2003; Gao et al., 2011; Tan et al., 2020; Wang et al., 2021; Lai et al., 2022; Xu et al., 2023).

В качестве мишени нейровоспаления могут выступать провоспалительные цитокины, в частности ингибция TNF α оказывает нейропротективный эффект.

В последнее время для лечения БП также используется метод ритмической транскраниальной магнитной стимуляции (rTMS). Этот довольно новый метод демонстрирует положительную клиническую динамику по шкале UPDRS при стимуляции двух областей коры головного мозга (моторной и левой дорсолатеральной префронтальной коры), которая сопровождается уменьшением продукции именно провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-17A (Aftanas et al., 2018).

Воздействие на микроглию различными препаратами (Pexidartinib, Minocycline, Fingolimod, Rosiglitazone, Pioglitazone и др.) вызывает ее истощение и снижение накопления патологических агрегатов α -syn, а также уменьшение гибели DA-нейронов (Lai et al., 2022).

Действие на инфламмосомы вызывало положительный эффект, препарат PAP, селективный ингибитор активности фосфодиэстеразы 10A, ингибировал агрегацию α -syn и защищал DA-нейроны от гибели, а IZD174, ингибитор инфламмосом, содержащих NLRP3, снижал уровень α -syn.

Агрегация синуклеина является результатом снижения клиренса. Эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали, что имеющиеся в организме аутоантитела к α -syn облегчают его клиренс, снижают агрегацию белка и уменьшают повреждение нейронов. В связи с этим использование моноклональных антител при пассивной и активной иммунизации снижает уровень α -syn в крови животных при преклинических исследованиях (Wang et al., 2021). Снижение агрегации α -syn можно достигнуть и усиливая его клиренс другими способами (Baird et al., 2019).

Поскольку дисфункция иммунной системы, в которую вовлечены различные популяции Т-клеток, играет важную роль в возникновении и развитии заболевания, таргетная иммунотерапия, воздействующая на Т-клетки, может оказаться более перспективной и успешной в снижении риска развития БП.

Использование Т-клеточной реакции в качестве мишени терапии привлекает тем, что

оценка показателей может проводиться периферически, при этом Т-клетки впоследствии мигрируют в головной мозг. Это, во-первых, должна быть иммуносупрессивная терапия, цель которой ориентирована на снижение количества Т-клеток и CD4⁺-клеток на периферии, чтобы уменьшить проникновение в мозг этих клеток, вызывающих нейровоспаление и нейродегенерацию. Другой путь заключается в повышении численности популяции CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T-regs, который предполагает либо перенос самих клеток, либо введение гранулоцит макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF). Данный фактор, как показано в клинических испытаниях, хорошо переносился пациентами и сопровождался у них улучшением двигательной функции (Baird et al., 2019; Lindestam Arlehamn et al., 2020). Анти-CD3 моноклональные антитела (CD3mAb) и нейропептидный гормон вазоактивный интестинальный пептид (ВИП) также способны индуцировать дифференцировку Т-regs и снижать нейровоспаление. Оба препарата показали положительные эффекты в исследованиях на животных, однако до настоящего времени нет протоколов их клинических испытаний. Кроме того, не все так однозначно, так как Т-regs могут быть повышенными при БП (Idova et al., 2021) и могут подвергаться трансдифференцировке в Th типа 17, которые включены в аутоиммунные механизмы патофизиологии БП, что обсуждалось выше.

Представляется возможным воздействовать на Th17, увеличение содержания которых обнаружено в циркуляции, в основном на ранних стадиях заболевания (Sommer et al., 2018). Блокируя развитие этих клеток, а также взаимодействие LFA-1-рецепторов на Th17 и ICAM-1-рецепторов на DA-нейронах или IL-17 с рецепторами к IL-17, можно получить положительный терапевтический эффект при БП (Prots, Winner, 2019).

Рассматривая все мишени и современные подходы терапии БП, необходимо отметить, что их разработка пока находится на преклинических и ранних (1 и 2) клинических фазах, и, поскольку нет ни одного законченного клинического испытания, они не могут быть использованы в практике. Однако когда испытания будут закончены, в качестве одного из наиболее перспективных подходов к лечению БП можно рассматривать мультитаргетную терапию, направленную на различные патогенетические звенья.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время механизмы, лежащие в основе гибели DA-нейронов и внутринейронального накопления агрегированного α -syn, которые являются основными патологическими признаками БП, до конца не выяснены. Нейровоспалительные процессы являются важными факторами развития многих связанных с нейродегенерацией заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз, включая БП. Нейровоспаление при БП сопровождается активацией микроглии, инфильтрацией Т-клеток (CD4 и CD8 Т-лимфоцитов) в ЦНС, увеличением содержания провоспалительных цитокинов/хемокинов в паренхиме головного мозга, в СМЖ и на периферии.

Клетки микроглии играют центральную роль в нейровоспалении, способствуя нейротоксическому или нейропротекторному микроокружению, тем самым контролируя выживаемость нейронов. Функция микроглии регулируется межклеточными взаимодействиями между нейронами, астроцитами и различными иммунными клетками, которые проникают в мозг при нарушении проницаемости ГЭБ.

Современные клинические и экспериментальные данные убедительно доказывают, что кроме нейронных событий в механизмы развития БП включен иммунный компонент с участием врожденного и адаптивного иммунитета. Роль Т-клеток в развитии БП получает все большее признание. Показано снижение гибели DA-нейронов в условиях дефицита Т-клеток, которые, в отличие от В-клеток, проникают в мозг и, инфильтрируя компактную зону SN и контактируя с DA-нейронами, участвуют в активации микроглии, выделяют провоспалительные цитокины, оказывающие нейротоксический эффект. Процесс осуществляется CD4⁺ и CD8⁺Т-клетками с цитотоксической функцией, которые вырабатывают, в частности IFN γ , повышающий цитотоксичность клеток, и Th17 за счет контакта с нейронами и/или продукции IL-17, а также сопровождается снижением Th2-типа и Tregs. Изменения иммунитета в ответ на внеклеточный α -syn могут играть решающую роль в модуляции прогрессирования БП. Действуя через специфические антигенные эпитопы, α -syn способен активировать Т-клетки, участвующие в иммунных процессах и приводящие к нейро-

дегенерации DA-нейронов. Показано, что α -syn-специфичные Т-клетки присутствуют у большинства пациентов с БП и опосредуют последующие аутоиммунные реакции. По мере накопления поврежденных нейронов связанные с патологией α -syn Т-клетки могут быть обнаружены до проявления моторных нарушений и постановки диагноза, что открывает пути для раннего выявления заболевания.

Возможно, воспаление, вызванное Т-клетками, опосредующее DA-нейродегенерацию при БП, запускается в слизистой оболочке кишечника и в значительной мере зависит от состава кишечной микробиоты. На это указывают данные о том, что Т-клеточная реакция против телец Леви первоначально ограничивается слизистой оболочкой кишечника, но позже распространяется и на мозг (Campos-Acuna et al., 2019).

Следует заметить, что соотношение на периферии подмножеств различных популяций иммунных клеток (моноцитов, Т- и В-клеток), которые выявлены в последние несколько лет, значительно различается в зависимости от динамики развития и тяжести заболевания. Ранние сроки БП, характеризующиеся наибольшими клеточными изменениями, повышением экспрессии TLR и провоспалительных цитокинов, являются потенциально наиболее важными для иммунотерапии и нейропротекции. Распространенность БП и тяжесть заболевания создают потребность в новых терапевтических подходах, направленных на иммунные клеточные и молекулярные показатели. Поскольку дисфункции врожденной и адаптивной иммунной реакции являются основными компонентами патогенеза БП, стала очевидной возможность наряду с традиционным лечением применять иммуномодулирующие вмешательства, которые могут восстановить иммунологический гомеостазис и привести к нейропротекторному результату. Это требует знания тонких механизмов развития БП, его специфических биомаркеров, особенно на ранних стадиях заболевания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке бюджетного финансирования фундаментальных научных исследований 122042700001-9.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абдурасулова И.Н., Екимова И.В., Чернышев М.В., Мацулевич А.В., Пастухов Ю.Ф.* Нарушение когнитивных функций у крыс Вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона. Журн. высш. нервн. деят. им И.П. Павлова. 2019. 69 (3): 364–381.
- Альперина Е.Л.* Вклад дофаминергической системы в механизмы иммуномодуляции. Успехи физиол. наук. 2014. 45 (3): 45–56.
- Белова О.В., Арефьева Т.И., Москвина С.Н.* Иммуновоспалительные аспекты болезни Паркинсона. Журн. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. 2020. 120(2): 110–119.
- Воронина Н.А., Кучеряну В.Г., Ветрилэ Л.А., Голоборщев В.В., Капица И.Г., Воронина Т.А., Морозов С.Г.* Изучение влияния гингана на уровень провоспалительных цитокинов в нигрокудатном комплексе мозга мышей при экспериментальном паркинсонизме. Патогенез. 2021. 19 (2): 45–49.
- Жанаева С.Я., Альперина Е.Л., Геворгян М.М., Дземедович С.С., Идова Г.В.* В-клетки в периферической крови при болезни Паркинсона. Клинические и экспериментальные данные. Сибирский вестник психиатрии наркологии. 2020. 3 (108): 11–16.
- Идова Г.В., Альперина Е.Л., Жанаева С.Я., Тихонова М.А., Геворгян М.М.* Экспрессия Toll-подобных рецепторов TLR2 и TLR4 типа на иммунных клетках и продукция про- и противовоспалительных цитокинов в трангенной модели болезни Паркинсона. Патогенез. 2022. 20 (3): 38–43.
- Милюхина И.В., Карпенко М.Н., Клименко В.М.* Клинические показатели и уровень цитокинов в крови и цереброспинальной жидкости пациентов с болезнью Паркинсона. Клин. мед. 2015. 93 (1): 51–55.
- Пирожков С.В., Терехина Н.Н., Литвицкий П.Ф.* Роль инфламмасом в развитии нервных и психических заболеваний. Журн. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. 2018. 118 (12): 81–91.
- Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Алешкин В.А.* Регуляторные Т-клетки: современные подходы к оптимизации их численности. Вест. РАМН. 2011. 8: 24–33.
- Aftanas L.I., Gevorgyan M.M., Zhanaeva S.Y., Dzemi-dovich S.S., Kulikova K., Al'perina E.L., Danilenko K.V., Idova G.V.* Therapeutic Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) on Neuroinflammation and Neuroplasticity in Patients with Parkinson's Disease: a Placebo-Controlled Study. Bull Exp Biol Med. 2018. 165: 195–199.
- Ahn J.J., Abu-Rub M., Miller R.H.* B Cells in Neuroinflammation: New Perspectives and Mechanistic Insights. Cells. 2021. 10 (7): 1605.
- Akhtar R.S., Licata J.P., Luk K.C., Shaw L.M., Trojanowski J.Q., Lee V.M.* Measurements of Auto-Antibodies to α -Synuclein in the Serum and Cerebral Spinal Fluids of Patients With Parkinson's Disease. J Neurochem. 2018. 145 (6): 489–503.
- Álvarez-Luquín D.D., Arce-Sillas A., Leyva-Hernández J., Sevilla-Reyes E., Boll M.C., Montes-Morantilla E., Vivas-Almazán V., Pérez-Correa C., Rodríguez-Ortiz U., Espinoza-Cárdenas R., Frago G., Sciutto E., Adalid-Peralta L.* Regulatory impairment in untreated Parkinson's disease is not restricted to Tregs: other regulatory populations are also involved. J Neuroinflammation. 2019. 16 (1): 212.
- Amin J., Holmes C., Dorey R.B., Tommasino E., Casal Y.R., Williams D.M., Dupuy C., Nicoll J.A.R., Boche D.* Neuroinflammation in dementia with Lewy bodies: a human post-mortem study. Transl Psychiatry. 2020. 10 (1): 267.
- Arce-Sillas A., Sevilla-Reyes E., Álvarez-Luquín D.D., Guevara-Salinas A., Boll M.C., Pérez-Correa C.A., Vivas-Almazán A.V., Rodríguez-Ortiz U., Castellanos Barba C., Hernández M., Frago G., Sciutto E., Cárdenas G., Adalid-Peralta L.V.* Expression of Dopamine Receptors in Immune Regulatory Cells. Neuroimmunomodulation. 2019. 26 (3): 159–166.
- Baba Y., Kuroiwa A., Uitti R.J., Wszolek Z.K., Yamada T.* Alterations of T-lymphocyte populations in Parkinson disease. Parkinsonism Relat Disord. 2005. 11 (8): 493–498.
- Baird J.K., Bourdette D., Meshul C.K., Quinn J.F.* The key role of T cells in Parkinson's disease pathogenesis and therapy. Parkinsonism Relat Disord. 2019. 60: 25–31.
- Balestrino R., Schapira A.H.V.* Parkinson disease. Eur. J. Neurol. 2020. 27 (1): 27–42.
- Barcia C., Ros C.M., Anese V., Gómez A., Ros-Bernal F., Aguado-Yera D., Martínez-Pagán M.E., de Pablos V., Fernandez-Villalba E., Herrero M.T.* IFN- γ signaling, with the synergistic contribution of TNF- α , mediates cell specific microglial and astroglial activation in experimental models of Parkinson's disease. Cell Death Dis. 2011. 2 (4): e142.
- Bas J., Calopa M., Mestre M., Molleví D.G., Cutillas B., Ambrosio S., Buendia E.* Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism. J. Neuroimmunol. 2001. 113 (1): 146–52.
- Bengoa-Vergniory N., Roberts R.F., Wade-Martins R., Alegre-Abarrategui J.* Alpha-synuclein oligomers: a new hope. Acta Neuropathol. 2017. 134 (6): 819–838.
- Benner E.J., Banerjee R., Reynolds A.D., Sherman S., Pisarev V.M., Tsiperson V., Nemachek C., Ciborowski P., Przedborski S., Mosley R.L., Gendelman H.E.* Nitrate- α synuclein immunity accelerates degeneration of nigral dopaminergic neurons. PLoS One. 2008. 3 (1): e1376.

- Bhatia D., Grozdanov V., Ruf W.P., Kassubek J., Ludolph A.C., Weishaupt J.H., Danzer K.M.* T-cell dysregulation is associated with disease severity in Parkinson's Disease. *J. Neuroinflammation*. 2021. 18 (1): 250.
- Blauwendraat C., Nalls M.A., Singleton A.B.* The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2020. 19 (2): 170–178.
- Boyko A.A., Troyanova N.I., Kovalenko E.I., Sapozhnikov A.M.* Similarity and Differences in Inflammation-Related Characteristics of the Peripheral Immune System of Patients with Parkinson's and Alzheimer's Diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2017. 18 (12): 2633.
- Braak H., Del Tredici K., Rüb U., de Vos R.A., Jansen Steur E.N., Braak E.* Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003. 24 (2): 197–211.
- Brochard V., Combadière B., Prigent A., Laouar Y., Perrin A., Beray-Berthot V., Bonduelle O., Alvarez-Fischer D., Callebert J., Launay J.M., Duyckaerts C., Flavell R.A., Hirsch E.C., Hunot S.* Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J. Clin. Invest*. 2009. 119 (1): 182–192.
- Brodacki B., Staszewski J., Toczyłowska B., Kozłowska E., Drela N., Chalimoniuk M., Stepien A.* Serum interleukin (IL-2, IL-10, IL-6, IL-4), TNF α , and INF γ concentrations are elevated in patients with atypical and idiopathic parkinsonism. *Neurosci Lett*. 2008. 441 (2): 158–162.
- Burré J.* The Synaptic Function of α -Synuclein. *J. Parkinsons Dis*. 2015. 5 (4): 699–713.
- Camacho-Hernández N.P., Peña-Ortega F.* Fractalkine/CX3CR1-Dependent Modulation of Synaptic and Network Plasticity in Health and Disease. *Neural Plast*. 2023. 2023: 4637073.
- Campos-Acuña J., Elgueta D., Pacheco R.* T-Cell-Driven Inflammation as a Mediator of the Gut-Brain Axis Involved in Parkinson's Disease. *Front Immunol*. 2019. 10: 239.
- Cardinale A., Calabrese V., de Iure A., Picconi B.* Alpha-Synuclein as a Prominent Actor in the Inflammatory Synaptopathy of Parkinson's Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2021. 22 (12): 6517.
- Cebrián C., Zucca F.A., Mauri P., Steinbeck J.A., Studer L., Scherzer C.R., Kanter E., Budhu S, Mandelbaum J., Vonsattel J.P., Zecca L., Loike J.D., Sulzer D.* MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nat Commun*. 2014. 5: 3633.
- Cen L., Yang C., Huang S., Zhou M., Tang X., Li K., Guo W., Wu Z., Mo M., Xiao Y., Chen X., Yang X., Huang Q., Chen C., Qu S., Xu P.* Peripheral lymphocyte subsets as a marker of Parkinson's disease in a Chinese population. *Neurosci. Bull*. 2017. 33 (5): 493–500.
- Cerri S., Mus L., Blandini F.* Parkinson's Disease in Women and Men: What's the Difference? *J. Parkinsons Dis*. 2019. 9 (3): 501–515.
- Chakrabarty P., Ceballos-Diaz C., Lin W.L., Beccard A., Jansen-West K., McFarland N.R., Janus C., Dickson D., Das P., Golde T.E.* Interferon- γ induces progressive nigrostriatal degeneration and basal ganglia calcification. *Nat. Neurosci*. 2011. 14 (6): 694–696.
- Chen H., Zhang S.M., Hernán M.A., Schwarzschild M.A., Willett W.C., Colditz G.A., Speizer F.E., Ascherio A.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2003. 60 (8): 1059–1064.
- Chen J., Liu X., Zhong Y.* Interleukin-17A: The Key Cytokine in Neurodegenerative Diseases. *Front Aging Neurosci*. 2020. 12: 566922.
- Chen S., Le W.D., Xie W.J., Alexianu M.E., Engelhardt J.I., Siklós L., Appel S.H.* Experimental Destruction of Substantia Nigra Initiated by Parkinson Disease Immunoglobulins. *Arch Neurol*. 1998. 55 (8): 1075–1080.
- Chen S., Liu Y., Niu Y., Xu Y., Zhou Q., Xu X., Wang J., Yu M.* Increased abundance of myeloid-derived suppressor cells and Th17 cells in peripheral blood of newly-diagnosed Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett*. 2017. 648: 21–25.
- Chen X., Feng W., Ou R., Liu J., Yang J., Fu J., Cao B., Chen Y., Wei Q., Shang H.* Evidence for Peripheral Immune Activation in Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2021. 13: 617370.
- Chen Y., Qi B., Xu W., Ma B., Li L., Chen Q., Qian W., Liu X., Qu H.* Clinical correlation of peripheral CD4+-cell sub-sets, their imbalance and Parkinson's disease. *Mol Med Rep*. 2015. 12 (4): 6105–6111.
- Chen Z., Chen S., Liu J.* The role of T cells in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2018. 169: 1–23.
- Clark I.A., Vissel B.* Therapeutic implications of how TNF links apolipoprotein E, phosphorylated tau, alpha-synuclein, amyloid-beta and insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Br J Pharmacol*. 2018. 175 (20): 3859–3875.
- Contaldi E., Magistrelli L., Comi C.* T Lymphocytes in Parkinson's Disease. *J. Parkinsons Dis*. 2022. 12 (s1): S65–S74.
- Cyster J.G., Allen C.D.C.* B Cell Responses: Cell Interaction Dynamics and Decisions. *Cell*. 2019. 177 (3): 524–540.
- Daneman R., Prat A.* The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015. 7 (1): a020412.
- Dauer W., Przedborski S.* Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003. 39 (6): 889–909.
- Doorn K.J., Moors T., Drukarch B., van de Berg W.D.J., Lucassen P.J., van Dam A.M.* Microglial phenotypes and toll-like receptor 2 in the substantia nigra and hippocampus of incidental Lewy body dis-

- ease cases and Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol Commun.* 2014. 2: 90.
- DuPage M., Bluestone J.A.* Harnessing the plasticity of CD4(+) T cells to treat immune-mediated disease. *Nat Rev Immunol.* 2016. 16 (3): 149–163.
- Dursun E., Gezen-Ak.D., Hanagasi H., Bilgiç B., Lohmann E., Ertan S., Atasoy İ.L., Alaylıoğlu M., Araz Ö.S., Önal B., Gündüz A., Apaydın H., Kızıltan G., Ulutin T., Gürvit H., Yılmaz S.* The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. *J. Neuroimmunol.* 2015. 283: 50–57.
- Dzamko N., Gysbers A., Perera G., Bahar A., Shankar A., Gao J., Fu Y., Halliday G.M.* Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. *Acta Neuropathol.* 2017. 133 (2): 303–319.
- Eidson L.N., Kannarkat G.T., Barnum C.J., Chang J., Chung J., Caspell-Garcia C., Taylor P., Mollenhauer B., Schlossmacher M.G., Ereshefsky L., Yen M., Kopil C., Frasier M., Marek K., Hertzberg V.S., Tansey M.G.* Candidate inflammatory biomarkers display unique relationships with alpha-synuclein and correlate with measures of disease severity in subjects with Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation.* 2017. 14 (1): 164.
- Fellner L., Irschick R., Schanda K., Reindl M., Klimaschewski L., Poewe W., Wenning G.K., Stefanova N.* Toll-like receptor 4 is required for alpha-synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia.* 2013. 61 (3): 349–60.
- Ferrari C.C., Tarelli R.* Parkinson's disease and systemic inflammation. *Parkinsons Dis.* 2011. 2011: 436813.
- Filiano A.J., Gadani S.P., Kipnis J.* How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? *Nat Rev Neurosci.* 2017. 18 (6): 375–384.
- Funk N., Wieghofer P., Grimm S., Schaefer R., Bühring H.J., Gasser T., Biskup S.* Characterization of peripheral hematopoietic stem cells and monocytes in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013. 28 (3): 392–395.
- Fuzzati-Armentero M.T., Cerri S., Blandini F.* Peripheral-Central Neuroimmune Crosstalk in Parkinson's Disease: What Do Patients and Animal Models Tell Us? *Front Neurol.* 2019. 10: 232.
- Gadani S.P., Cronk J.C., Norris G.T., Kipnis J.* IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *J. Immunol.* 2012. 189 (9): 4213–4219.
- Galiano-Landeira J., Torra A., Vila M., Bové J.* CD8 T cell nigral infiltration precedes synucleinopathy in early stages of Parkinson's disease. *Brain.* 2020. 143 (12): 3717–3733.
- Gao H.M., Zhang F., Zhou H., Kam W., Wilson B., Hong J.S.* Neuroinflammation and alpha-synuclein dysfunction potentiate each other, driving chronic progression of neurodegeneration in a mouse of Parkinson's disease. *Environ Health Perspect.* 2011. 119 (6): 807–814.
- Garfias S., Tamaya Domínguez B., Toledo Rojas A., Arroyo M., Rodríguez U., Boll C., Sosa A.L., Sciutto E., Adalid-Peralta L., Martínez López Y., Fragoso G., Fleury A.* Peripheral blood lymphocyte phenotypes in Alzheimer and Parkinson's diseases. *Neurologia (Engl Ed).* 2022. 37 (2): 110–121.
- Garretti F., Monahan C., Sette A., Agalliu D., Sulzer D.* T cells, alpha-synuclein and Parkinson disease. *Handb Clin Neurol.* 2022. 184: 439–455.
- Gerhard A.* TSPO imaging in parkinsonian disorders. *Clin Transl Imaging.* 2016. 4: 183–190.
- Golovko M.Y., Barceló-Coblijn G., Castagnet P.I., Austin S., Combs C.K., Murphy E.J.* The role of alpha-synuclein in brain lipid metabolism: a downstream impact on brain inflammatory response. *Mol. Cell. Biochem.* 2009. 326 (1–2): 55–66.
- González H., Contreras F., Pacheco R.* Regulation of the neurodegenerative process associated to Parkinson's disease by CD4+ T-cells. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2015. 10 (4): 561–575.
- González H., Contreras F., Prado C., Elgueta D., Franz D., Bernales S., Pacheco R.* Dopamine receptor D3 expressed on CD4+ T cells favors neurodegeneration of dopaminergic neurons during Parkinson's disease. *J. Immunol.* 2013. 190 (10): 5048–5056.
- Grigoryan G.A., Gray J.A., Rashid T., Chadwick A., Hodges H.* Conditionally immortal neuroepithelial stem cell grafts restore spatial learning in rats with lesions at the source of cholinergic forebrain projections. *Restor Neurol Neurosci.* 2000. 17 (4): 1.
- Grozdanov V., Bliederaeuser C., Ruf W.P., Roth V., Fundel-Clemens K., Zondler L., Brenner D., Martin-Villalba A., Hengerer B., Kassubek J., Ludolph A.C., Weishaupt J.H., Danzer K.M.* Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol.* 2014. 128 (5): 651–663.
- Gruden M.A., Sewell R.D., Yanamandra K., Davidova T.V., Kucheryanu V.G., Bocharov E.V., Bocharova O.A., Polyschuk V.V., Sherstnev V.V., Morozova-Roche L.A.* Immunoprotection against toxic biomarkers is retained during Parkinson's disease progression. *J. Neuroimmunol.* 2011. 233 (1–2): 221–227.
- Gruden M.A., Yanamandra K., Kucheryanu V.G., Bocharova O.R., Sherstnev V.V., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.* Correlation between protective immunity to alpha-synuclein aggregates, oxidative stress and inflammation. *Neuroimmunomodulation.* 2012. 19 (6): 334–342.

- Gupta V., Garg R.K., Khattri S.* Levels of IL-8 and TNF- α decrease in Parkinson's disease. *Neurol Res.* 2016. 38 (2): 98–102.
- Harms A.S., Ferreira S.A., Romero-Ramos M.* Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2021. 141 (4): 527–545.
- Harms A.S., Thome A.D., Yan Z., Schonhoff A.M., Williams G.P., Li X., Liu Y., Qin H., Benveniste E.N., Standaert D.G.* Peripheral monocyte entry is required for alpha-Synuclein induced inflammation and Neurodegeneration in a model of Parkinson disease. *Exp Neurol.* 2018. 300: 179–187.
- Heidari A., Yazdanpanah N., Rezaei N.* The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroinflammation.* 2022. 19 (1): 135.
- Hickman S., Izzy S., Sen P., Morsett L., El Khoury J.* Microglia in neurodegeneration. *Nat Neurosci.* 2018. 21 (10): 1359–1369.
- Hirsch E.C., Standaert D.G.* Ten Unsolved Questions About Neuroinflammation in Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2021. 36 (1): 16–24.
- Horvath I., Iashchishyn I.A., Forsgren L., Morozova-Roche L.A.* Immunochemical Detection of α -Synuclein Autoantibodies in Parkinson's Disease: Correlation Between Plasma and Cerebrospinal Fluid Levels. *ACS Chem Neurosci.* 2017. 8 (6): 1170–1176.
- Hu Z.X., Song W.N., Lu X.D., Zhou M.L., Shao J.H.* Peripheral T lymphocyte immunity and l-dopamine in patients with Parkinson's disease. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2018. 32 (3): 687–691.
- Huang Y., Liu Z., Wang X.Q., Qiu Y.H., Peng Y.P.* A dysfunction of CD4⁺ T lymphocytes in peripheral immune system of Parkinson's disease model mice. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* 2014. 30 (6): 567–576.
- Iba M., Kim C., Sallin M., Kwon S., Verma A., Overk C., Rissman R.A., Sen R., Sen J.M., Masliah E.* Neuroinflammation is associated with infiltration of T cells in Lewy body disease and α -synuclein transgenic models. *J. Neuroinflammation.* 2020. 17 (1): 214.
- Idova G.V., Alperina E.L., Cheido M.A.* Contribution of brain dopamine, serotonin and opioid receptors in the mechanisms of neuroimmunomodulation: evidence from pharmacological analysis. *Int. Immunopharmacol.* 2012. 12 (4): 618–625.
- Idova G.V., Al'perina E.L., Gevorgyan M.M., Tikhonova M.A., Zhanaeva S.Y.* Content of Peripheral Blood T- and B-Cell Subpopulations in Transgenic A53T Mice of Different Age (A Model of Parkinson's Disease). *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021. 170 (4): 401–404.
- Jiang S., Gao H., Luo Q., Wang P., Yang X.* The correlation of lymphocyte subsets, natural killer cell, and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Neurol. Sci.* 2017. 38 (8): 1373–1380.
- Kalia L.V., Lang A.E.* Parkinson's disease. *Lancet.* 2015. 386 (9996): 896–912.
- Kalkonde Y.V., Morgan W.W., Sigala J., Maffi S.K., Condello C., Kuziel W., Ahuja S.S., Ahuja S.K.* Chemokines in the MPTP model of Parkinson's disease: absence of CCL2 and its receptor CCR2 does not protect against striatal neurodegeneration. *Brain Res.* 2007. 1128 (1): 1–11.
- Kam T.I., Hinkle J.T., Dawson T.M., Dawson V.L.* Microglia and astrocyte dysfunction in parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 2020. 144: 105028.
- Kannarkat G.T., Boss J.M., Tansey M.G.* The role of innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis.* 2013. 3 (4): 493–514.
- Karpenko M.N., Vasilishina A.A., Gromova E.A., Muruzheva Z.M., Miliukhina I.V., Bernadotte A.* Interleukin-1 β , interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-6, interleukin-10, and tumor necrosis factor- α levels in CSF and serum in relation to the clinical diversity of Parkinson's disease. *Cell Immunol.* 2018. 327: 77–82.
- Kawano M., Takagi R., Saika K., Matsui M., Matsushita S.* Dopamine regulates cytokine secretion during innate and adaptive immune responses. *Int. Immunol.* 2018. 30(12): 591–606.
- Kessel A., Haj T., Peri R., Snir A., Melamed D., Sabo E., Toubi E.* Human CD19(+)/CD25(high) B regulatory cells suppress proliferation of CD4(+) T cells and enhance Foxp3 and CTLA-4 expression in T-regulatory cells. *Autoimmun Rev.* 2012. 11 (9): 670–677.
- Khakh B.S., Sofroniew M.V.* Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nat Neurosci.* 2015. 18 (7): 942–952.
- Kim C., Ho D.H., Suk J.E., You S., Michael S., Kang J., Joong Lee S., Masliah E., Hwang D., Lee H.J., Lee S.J.* Neuron-released oligomeric α -synuclein is an endogenous agonist of TLR2 for paracrine activation of microglia. *Nat. Commun.* 2013. 4: 1562.
- King E., Thomas A.* Systemic Inflammation in Lewy Body Diseases: A Systematic Review. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2017. 31 (4): 346–356.
- Klein C., Westenberger A.* Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012. 2 (1): a008888.
- Kortekaas R., Leenders K.L., van Oostrom J.C., Vaalburg W., Bart J., Willemsen A.T., Hendrikse N.H.* Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. *Ann. Neurol.* 2005. 57 (2): 176–179.
- Kouli A., Camacho M., Allinson K., Williams-Gray C.H.* Neuroinflammation and protein pathology in Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol Commun.* 2020. 8 (1): 211.
- Kustrimovic N., Comi C., Magistrelli L., Rasini E., Legnaro M., Bombelli R., Aleksic I., Blandini F., Minafra B., Riboldazzi G., Sturchio A., Mauri M., Bono G., Marino F., Cosentino M.* Parkinson's disease patients have a complex phenotypic and

- functional Th1 bias: cross-sectional studies of CD4+ Th1/Th2/T17 and Treg in drug-naïve and drug-treated patients. *J. Neuroinflammation*. 2018. 15 (1): 205.
- La Vitola P., Balducci C., Baroni M., Artioli L., Santamaria G., Castiglioni M., Cerovic M., Colombo L., Caldinelli L., Pollegioni L., Forloni G.* Peripheral inflammation exacerbates α -synuclein toxicity and neuropathology in Parkinson's models. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2021. 47 (1): 43–60.
- Lai T.T., Kim Y.J., Ma H.I., Kim Y.E.* Evidence of Inflammation in Parkinson's Disease and Its Contribution to Synucleinopathy. *J. Mov. Disord*. 2022. 15 (1): 1–14.
- Lavisse S., Goutal S., Wimberley C., Tonietto M., Bottlaender M., Gervais P., Kuhnast B., Peyronneau M.A., Barret O., Lagarde J., Sarazin M., Hantraye P., Thiriez C., Remy P.* Increased microglial activation in patients with Parkinson disease using [18 F]-DPA714 TSPO PET imaging. *Parkinsonism Relat. Disord*. 2021. 82: 29–36.
- Li R., Tropea T.F., Baratta L.R., Zuroff L., Diaz-Ortiz M.E., Zhang B., Shinoda K., Rezk A., Alcalay R.N., Chen-Plotkin A., Bar-Or A.* Abnormal B-Cell and Tfh-Cell Profiles in Patients With Parkinson Disease: A Cross-sectional Study. *Neurol Neuroimmunol. Neuroinflamm*. 2021a. 9 (2): e1125.
- Li W., Luo Y., Xu H., Ma Q., Yao Q.* Imbalance between T helper 1 and regulatory T cells plays a detrimental role in experimental Parkinson's disease in mice. *J. Int. Med. Res*. 2021b. 49 (4): 300060521998471.
- Lindestam Arlehamn C.S., Dhanwani R., Pham J., Kuan R., Frazier A., Rezende Dutra J., Phillips E., Mallal S., Roederer M., Marder K.S., Amara A.W., Standaert D.G., Goldman J.G., Litvan I., Peters B., Sulzer D., Sette A.* α -Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease. *Nat Commun*. 2020. 11 (1): 1875.
- Lira A., Kulczycki J., Slack R., Anisman H., Park D.S.* Involvement of the Fc gamma receptor in a chronic N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of dopaminergic loss. *J. Biol. Chem*. 2011. 286 (33): 28783–28793.
- Liu Z., Huang Y., Cao B.B., Qiu Y.H., Peng Y.P.* Th17 Cells Induce Dopaminergic Neuronal Death via LFA-1/ICAM-1 Interaction in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Mol. Neurobiol*. 2017. 54 (10): 7762–7776.
- Liu Z., Zhai X.R., Du Z.S., Xu F.F., Huang Y., Wang X.Q., Qiu Y.H., Peng Y.P.* Dopamine receptor D2 on CD4+T cells is protective against neuroinflammation and neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. 2021. 98: 110–121.
- Luo P., Chu S.F., Zhang Z., Xia C.Y., Chen N.H.* Fractalkine/CX3CR1 is involved in the cross-talk between neuron and glia in neurological diseases. *Brain Res Bull*. 2019. 146: 12–21.
- MacMahon Copas A.N., McComish S.F., Fletcher J.M., Caldwell M.A.* The Pathogenesis of Parkinson's Disease: A Complex Interplay Between Astrocytes, Microglia, and T Lymphocytes? *Front. Neurol*. 2021. 12: 666737.
- Magistrelli L., Storelli E., Rasini E., Contaldi E., Comi C., Cosentino M., Marino F.* Relationship between circulating CD4+ T lymphocytes and cognitive impairment in patients with Parkinson's disease. *Brain Behav. Immun*. 2020. 89: 668–674.
- Majbour N.K., Aasly J.O., Hustad E., Thomas M.A., Vaikath N.N., Elkum N., van de Berg W.D.J., Tokuda T., Mollenhauer B., Berendse H.W., El-Agnaf O.M.A.* CSF total and oligomeric α -Synuclein along with TNF- α as risk biomarkers for Parkinson's disease: a study in LRRK2 mutation carriers. *Transl Neurodegener*. 2020. 9 (1): 15.
- McGeer P.L., Itagaki S., Boyes B.E., McGeer E.G.* Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988. 38 (8): 1285–1291.
- McGinley A.M., Sutton C.E., Edwards S.C., Leane C.M., DeCoursey J., Teijeiro A., Hamilton J.A., Boon L., Djouder N., Mills K.H.G.* Interleukin-17A Serves a Priming Role in Autoimmunity by Recruiting IL-1 β -Producing Myeloid Cells that Promote Pathogenic T Cells. *Immunity*. 2020. 52 (2): 342–356.e6.
- Melzer N., Hicking G., Bittner S., Bobak N., Göbel K., Herrmann A.M., Wiendl H., Meuth S.G.* Excitotoxic neuronal cell death during an oligodendrocyte-directed CD8+ T cell attack in the CNS gray matter. *J. Neuroinflammation*. 2013. 10: 121.
- Nagatsu T., Mogi M., Ichinose H., Togari A.* Cytokines in Parkinson's disease. *J. Neural. Transm. Suppl*. 2000. (58): 143–151.
- Nash K.R., Moran P., Finneran D.J., Hudson C., Robinson J., Morgan D., Bickford P.C.* Fractalkine over expression suppresses α -synuclein-mediated neurodegeneration. *Mol. Ther*. 2015. 23 (1): 17–23.
- Nissen S.K., Ferreira S.A., Nielsen M.C., Schulte C., Shrivastava K., Hennig D., Etzerodt A., Graversen J.H., Berg D., Maetzler W., Panhelainen A., Möller H.J., Brockmann K., Romero-Ramos M.* Soluble CD163 Changes Indicate Monocyte Association With Cognitive Deficits in Parkinson's Disease. *Mov. Disord*. 2021. 36 (4): 963–976.
- Niwa F., Kuriyama N., Nakagawa M., Imanishi J.* Effects of peripheral lymphocyte subpopulations and the clinical correlation with Parkinson's disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2012. 12 (1): 102–107.

- O'Shea J.J., Paul W.E. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4⁺ T cells. *Science*. 2010. 327: 1098.
- Orr C.F., Rowe D.B., Mizuno Y., Mori H., Halliday G.M. A possible role for humoral immunity in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Brain*. 2005. 128 (Pt 11): 2665–2674.
- Parillaud V.R., Lornet G., Monnet Y., Privat A.L., Haddad A.T., Brochard V., Bekaert A., de Chanville C.B., Hirsch E.C., Combadière C., Hunot S., Lobsiger C.S. Analysis of monocyte infiltration in MPTP mice reveals that microglial CX3CR1 protects against neurotoxic over-induction of monocyte-attracting CCL2 by astrocytes. *J. Neuroinflammation*. 2017. 14 (1): 60.
- Pawelec P., Ziemka-Nalecz M., Sypecka J., Zalewska T. The Impact of the CX3CL1/CX3CR1 Axis in Neurological Disorders. *Cells*. 2020. 9 (10): 2277.
- Pey P., Pearce R.K., Kalaitzakis M.E., Griffin W.S., Gentleman S.M. Phenotypic profile of alternative activation marker CD163 is different in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2014. 2: 21.
- Prots I., Winner B. Th17 cells: a promising therapeutic target for Parkinson's disease? *Expert Opin. Ther. Targets*. 2019. 23 (4): 309–314.
- Ransohoff R.M., Liu L., Cardona A.E. Chemokines and chemokine receptors: multipurpose players in neuroinflammation. *Int. Rev. Neurobiol*. 2007. 82: 187–204.
- Reale M., Iarlori C., Thomas A., Gambi D., Perfetti B., Di Nicola M., Onofrij M. Peripheral cytokines profile in Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. 2009. 23 (1): 55–63.
- Reynolds A.D., Banerjee R., Liu J., Gendelman H.E., Mosley R.L. Neuroprotective activities of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in an animal model of Parkinson's disease. *J. Leukoc. Biol*. 2007. 82: 1083–1094.
- Reynolds A.D., Stone D.K., Hutter J.A., Benner E.J., Mosley R.L., Gendelman H.E. Regulatory T cells attenuate Th17 cell-mediated nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in a model of Parkinson's disease. *J. Immunol*. 2010. 184: 2261–2271.
- Rosser E.C., Mauri C. Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity*. 2015. 42 (4): 607–612.
- Rostami J., Fotaki G., Sirois J., Mzezewa R., Bergström J., Essand M., Healy L., Erlandsson A. Astrocytes have the capacity to act as antigen-presenting cells in the Parkinson's disease brain. *J. Neuroinflammation*. 2020. 17 (1): 119.
- Sabatino J.J.Jr, Pröbstel A.K., Zamvil S.S. B cells in autoimmune and neurodegenerative central nervous system diseases. *Nat Rev Neurosci*. 2019. 20 (12): 728–745.
- Saunders J.A., Estes K.A., Kosloski L.M., Allen H.E., Dempsey K.M., Torres-Russotto D.R., Meza J.L., Santamaria P.M., Bertoni J.M., Murman D.L., Ali H.H., Standaert D.G., Mosley R.L., Gendelman H.E. CD4⁺ regulatory and effector/memory T cell subsets profile motor dysfunction in Parkinson's disease. *J. Neuroimmune Pharmacol*. 2012. 7 (4): 927–938.
- Schetters S.T.T., Gomez-Nicola D., Garcia-Vallejo J.J., Van Kooyk Y. Neuroinflammation: Microglia and T Cells Get Ready to Tango. *Front Immunol*. 2018. 8: 1905.
- Sergeyeva T.N., Sergeyev V.G. Administration of LPS-stimulated autologous macrophages induces α -synuclein aggregation in dopaminergic neurons of rat brain. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2011. 150 (4): 406–408.
- Shi Y., Wei B., Li L., Wang B., Sun M. Th17 cells and inflammation in neurological disorders: Possible mechanisms of action. *Front Immunol*. 2022. 13: 932152. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.932152>
- Sommer A., Fadler T., Dorfmeister E., Hoffmann A.C., Xiang W., Winner B., Prots I. Infiltrating T lymphocytes reduce myeloid phagocytosis activity in synucleinopathy model. *J. Neuroinflammation*. 2016. 13 (1): 174.
- Sommer A., Marxreiter F., Krach F., Fadler T., Grosch J., Maroni M., Graef D., Eberhardt E., Riemenschneider M.J., Yeo G.W., Kohl Z., Xiang W., Gage F.H., Winkler J., Prots I., Winner B. Th17 Lymphocytes Induce Neuronal Cell Death in a Human iPSC-Based Model of Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell*. 2018. 23 (1): 123–131.e6.
- Stefanis L., Emmanouilidou E., Pantazopoulou M., Kirik D., Vekrellis K, Tofaris GK. How is alpha-synuclein cleared from the cell? *J. Neurochem*. 2019. 150 (5): 577–590.
- Stevens C.H., Rowe D., Morel-Kopp M.C., Orr C., Russell T., Ranola M., Ward C., Halliday G.M. Reduced T helper and B lymphocytes in Parkinson's disease. *J. Neuroimmunol*. 2012. 252 (1–2): 95–99.
- Su Y., Shi C., Wang T., Liu C., Yang J., Zhang S., Fan L., Zheng H., Li X., Luo H., Zhang S., Hu Z., Fan Y., Hao X., Zhang C., Song B., Mao C., Xu Y. Dysregulation of peripheral monocytes and pro-inflammation of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *J. Neurol*. 2022. 269 (12): 6386–6394.
- Sulzer D., Alcalay R.N., Garrett F., Cote L., Kanter E., Agin-Liebes J., Liang C., McMurtrey C., Hildebrand W.H., Mao X., Dawson V.L., Dawson T.M., Oseroff C., Pham J., Sidney J., Dillon M.B., Carpenter C., Weiskopf D., Phillips E., Mallal S., Peters B., Frazier A., Lindestam Arlehamn C.S., Sette A. T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides. *Nature*. 2017. 546 (7660): 656–661.

- Sulzer D., Edwards R.H.* The physiological role of α -synuclein and its relationship to Parkinson's Disease. *J. Neurochem.* 2019. 150 (5): 475–486.
- Sun C., Zhao Z., Yu W., Mo M., Song C., Si Y., Liu Y.* Abnormal subpopulations of peripheral blood lymphocytes are involved in Parkinson's disease. *Ann. Transl. Med.* 2019. 7 (22): 637.
- Sweeney M.D., Zhao Z., Montagne A., Nelson A.R., Zlokovic B.V.* Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev.* 2019. 99 (1): 21–78.
- Tan E.K., Chao Y.X., West A., Chan L.L., Poewe W., Jankovic J.* Parkinson disease and the immune system – associations, mechanisms and therapeutics. *Nat Rev Neurol.* 2020. 16 (6): 303–318.
- Tansey M.G., Wallings R.L., Houser M.C., Herrick M.K., Keating C.E., Joers V.* Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2022. 22 (11): 657–673.
- Tentillier N., Etzerodt A., Olesen M.N., Rizalar F.S., Jacobsen J., Bender D., Moestrup S.K., Romero-Ramos M.* Anti-Inflammatory Modulation of Microglia via CD163-Targeted Glucocorticoids Protects Dopaminergic Neurons in the 6-OHDA Parkinson's Disease Model. *J. Neurosci.* 2016. 36 (36): 9375–9390.
- Terada T., Yokokura M., Yoshikawa E., Futatsubashi M., Kono S., Konishi T., Miyajima H., Hashizume T., Ouchi Y.* Extrastriatal spreading of microglial activation in Parkinson's disease: a positron emission tomography study. *Ann. Nucl. Med.* 2016. 30 (8): 579–587.
- Theodore S., Cao S., McLean P.J., Standaert D.G.* Targeted overexpression of human alpha-synuclein triggers microglial activation and an adaptive immune response in a mouse model of Parkinson disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2008. 67 (12): 1149–1158.
- Thome A.D., Standaert D.G., Harms A.S.* Fractalkine Signaling Regulates the Inflammatory Response in an α -Synuclein Model of Parkinson Disease. *PLoS One.* 2015. 10 (10): e0140566.
- Tian J., Dai S.B., Jiang S.S., Yang W.Y., Yan Y.Q., Lin Z.H., Dong J.X., Liu Y., Zheng R., Chen Y., Zhang B.R., Pu J.L.* Specific immune status in Parkinson's disease at different ages of onset. *NPJ Parkinsons Dis.* 2022. 8 (1): 5.
- Ugrumov M.* Development of early diagnosis of Parkinson's disease: Illusion or reality? *CNS Neurosci. Ther.* 2020. 26 (10): 997–1009.
- Usenko T.S., Nikolaev M.A., Miliukhina I.V., Bezrukova A.I., Senkevich K.A., Gomzyakova N.A., Beltceva Y.A., Zalutskaya N.M., Gracheva E.V., Timofeeva A.A., Petrova O.A., Semenov A.V., Lubimova N.E., Totolyan A.A., Pchelina S.N.* Plasma cytokine profile in synucleinopathies with dementia. *J. Clin. Neurosci.* 2020. 78: 323–326.
- Wang P., Luo M., Zhou W., Jin X., Xu Z., Yan S., Li Y., Xu C., Cheng R., Huang Y., Lin X., Yao L., Nie H., Jiang Q.* Global Characterization of Peripheral B Cells in Parkinson's Disease by Single-Cell RNA and BCR Sequencing. *Front. Immunol.* 2022. 13: 814239.
- Wang P., Yao L., Luo M., Zhou W., Jin X., Xu Z., Yan S., Li Y., Xu C., Cheng R., Huang Y., Lin X., Ma K., Cao H., Liu H., Xue G., Han F., Nie H., Jiang Q.* Single-cell transcriptome and TCR profiling reveal activated and expanded T cell populations in Parkinson's disease. *Cell Discov.* 2021. 7 (1): 52.
- Wang W., Nguyen L.T., Burlak C., Chegini F., Guo F., Chataway T., Ju S., Fisher O.S., Miller D.W., Datta D., Wu F., Wu C.X., Landeru A., Wells J.A., Cookson M.R., Boxer M.B., Thomas C.J., Gai W.P., Ringe D., Petsko G.A., Hoang Q.Q.* Caspase-1 causes truncation and aggregation of the Parkinson's disease-associated protein α -synuclein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. 113 (34): 9587–9592.
- Weiss F., Labrador-Garrido A., Dzamko N., Halliday G.* Immune responses in the Parkinson's disease brain. *Neurobiol Dis.* 2022. 168: 105700.
- Wijeyekoon R.S., Kronenberg-Versteeg D., Scott K.M., Hayat S., Jones J.L., Clatworthy M.R., Floto R.A., Barker R.A., Williams-Gray C.H.* Monocyte Function in Parkinson's Disease and the Impact of Autologous Serum on Phagocytosis. *Front Neurol.* 2018. 9: 870.
- Williams G.P., Schonhoff A.M., Jurkuvenaite A., Gallups N.J., Standaert D.G., Harms A.S.* CD4 T cells mediate brain inflammation and neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Brain.* 2021. 144 (7): 2047–2059.
- Williams G.P., Schonhoff A.M., Sette A., Lindestam Arlehamn C.S.* Central and Peripheral Inflammation: Connecting the Immune Responses of Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis.* 2022. 12 (s1): S129–S136.
- Williams-Gray C.H., Wijeyekoon R., Yarnall A.J., Lawson R.A., Breen D.P., Evans J.R., Cummins G.A., Duncan G.W., Khoo T.K., Burn D.J., Barker R.A., ICICLE-PD Study Group.* Serum immune markers and disease progression in an incident Parkinson's disease cohort (ICICLE-PD). *Mov. Disord.* 2016. 31: 995–1003.
- Xiao W., Shameli A., Harding C.V., Meyerson H.J., Maitta R.W.* Late stages of hematopoiesis and B cell lymphopoiesis are regulated by α -synuclein, a key player in Parkinson's disease. *Immunobiology.* 2014. 219 (11): 836–844.
- Yan Y., Jiang W., Liu L., Wang X., Ding C., Tian Z., Zhou R.* Dopamine controls systemic inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome. *Cell.* 2015. 160: 62–73.
- Yan Z., Yang W., Wei H., Dean M.N., Standaert D.G., Cutter G.R., Benveniste E.N., Qin H.* Dysregulation of the Adaptive Immune System in Patients With Early-Stage Parkinson Disease. *Neurol.*

- Neuroimmunol. Neuroinflamm. 2021. 8 (5): e1036.
- Qu Y., Li J., Qin Q., Wang D., Zhao J., An K., Mao Z., Min Z., Xiong Y., Li J., Xue Z. A systematic review and meta-analysis of inflammatory biomarkers in Parkinson's disease. NPJ Parkinsons Dis. 2023. 9 (1): 18.
- Yang J., Ran M., Li H., Lin Y., Ma K., Yang Y., Fu X., Yang S. New insight into neurological degeneration: Inflammatory cytokines and blood-brain barrier. Front. Mol. Neurosci. 2022. 15: 1013933.
- Yu S.Y., Zuo L.J., Wang F., Chen Z.J., Hu Y., Wang Y.J., Wang X.M., Zhang W. Potential biomarkers relating pathological proteins, neuroinflammatory factors and free radicals in PD patients with cognitive impairment: a cross-sectional study. BMC Neurol. 2014. 14: 113.
- Zhang S., Sun C., Zhang L., Cen L., Mo M., Liu Z., Huang W., Zhu F., Kang P., Chen Z., Yi L., Xu P. Clinical analysis of subpopulation of peripheral T and B lymphocytes in Chinese Parkinson's disease patients. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2014. 94 (47): 3726–3730.
- Zhu J., Yamane H., Paul W.E. Differentiation of effector CD4 T cell populations. Annu Rev. Immunol. 2010. 28: 445.

NEUROINFLAMMATION AND IMMUNE DYSFUNCTION IN THE PATHOGENESIS OF PARKINSON'S DISEASE

G. V. Idova^{a, #}, E. L. Alperina^a, and S. Ya. Zhanaeva^a

^a*Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia*

[#]*e-mail: galina-idova@mail.ru*

Parkinson's disease (PD) is a chronic progressive neurodegenerative disorder, characterized by dopaminergic neuronal loss, aggregation of alpha-synuclein and severe motor impairments. This review summarizes current data on the key role of neuroinflammation and immune dysfunction in neurodegeneration and disease development. We examine clinical and experimental evidence for microglia activation, participation of Toll-like receptors in this process, a wide range of chemokines and pro- and anti-inflammatory cytokines in the course of the disease. Emphasis is also made on the impact of the innate and adaptive immune responses in the mechanisms of systemic inflammation both in the brain and in the periphery. The involvement of brain-infiltrating immune cells and their subpopulations in the process of neuroinflammation and neurodegeneration, changes in the composition and phenotype of peripheral immune cells and their functional characteristics are discussed. Analysis of immune cell subsets and their ratios reveals subtle PD-specific changes in cellular populations that can be used as reliable biomarkers for diagnosis, prognosis of the disease course, and development of new approaches for anti-inflammatory and targeted therapies in PD.

Keywords: Parkinson's disease, dopamine, Toll-like receptors, chemokines, pro- and anti-inflammatory cytokines, monocytes, subpopulations of T- and B-cells

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 159.91

ДИНАМИКА ТЕМЕННО-ЗАТЫЛОЧНОГО АЛЬФА-РИТМА
ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ СРАВНЕНИИ ДЛИТЕЛЬНОСТЕЙ
ВРЕМЕННЫХ ИНТЕРВАЛОВ

© 2023 г. А. О. Рогачёв^{1, 2, *}, О. В. Сысоева^{1, 2, **}

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

²Научно-технологический университет “Сириус”, Сочи, Россия

*e-mail: aorogachev@gmail.com

**e-mail: olga.v.sysoeva@gmail.com

Поступила в редакцию 28.09.2022 г.

После доработки 31.10.2022 г.

Принята к публикации 31.10.2022 г.

Исследование направлено на изучение динамики теменно-затылочного альфа-ритма головного мозга в его связи с процессом сравнения длительностей стимулов. Было проведено ЭЭГ-исследование, в котором участниками ($n = 48$) предлагалось сравнивать пары зрительных стимулов различной длительности от 3.2 до 6.4 с. Проводился частотно-временной анализ ЭЭГ в диапазоне 8–12 Гц. Показана динамика теменно-затылочного альфа-ритма при выполнении задачи на сравнение длительностей: мощность альфа-ритма возрастает от момента включения стимула к середине его предъявления, но затем продолжает увеличиваться для коротких стимулов (3.2, 3.6, 4.0 с), остается такой же для средних (4.4, 4.8, 5.2 с) и снижается для длительных (5.6, 6.0, 6.4 с). При этом разница между мощностью альфа-ритма при предъявлении коротких и длительных стимулов перед выключением стимула напрямую связана с точностью оценки временных интервалов. Результаты обсуждаются с точки зрения модели “двойной клепсидры”: предполагается, что альфа-ритм выступает электрофизиологическим коррелятом функционирования “нейронных аккумуляторов”, связанных с субъективным течением времени.

Ключевые слова: восприятие времени, сравнение длительностей стимулов, альфа-ритм, ЭЭГ, частотно-временной анализ, модель “двойной клепсидры”

DOI: 10.31857/S0044467723030127, EDN: TTRFJC

ВВЕДЕНИЕ

Восприятие времени является одним из базовых и фундаментальных процессов, который пронизывает все прочие когнитивные процессы. Восприятие времени складывается из информации о длительности сенсорных сигналов, которая поступает из всех модальностей. В последние годы растет интерес к нейрофизиологическим основам восприятия времени. Действительно, знание нейронных механизмов восприятия времени важно для понимания механизмов обработки мультисенсорной информации, совершения моторных действий и т.д. (Merchant, Lafuente, 2014).

Тонкую временную динамику мозговых процессов, лежащих в основе восприятия

времени, позволяют изучать неинвазивные методы регистрации электрической или магнитной активности мозга – электроэнцефалографии/магнитоэнцефалографии (ЭЭГ/МЭГ). ЭЭГ позволяет регистрировать вызванные потенциалы (ВП) – усредненный электрический ответ головного мозга на стимулы. В различных исследованиях убедительно продемонстрировано, что и ранние (до 200–300 мс после включения стимула), и поздние (до 1000 мс и далее) компоненты ВП связаны с восприятием времени. Так, например, в работе Сысоевой и Варганова показано, что позитивные компоненты ВП на зрительные стимулы (латентность 300 мс), а также на слуховые стимулы (250 мс) сильно коррелируют с субъективными балльными оценками длительности стимулов только при инструкции

для оценивания длительности (Сысоева, Вартанов, 2004). Автоматическое кодирование длительности слуховых стимулов отражается в компоненте ВП, который назван “Негативность рассогласования” (Sysoeva et al., 2006). С восприятием времени связывают и поздние компоненты ВП — например, позднюю негативную волну (CNV). Показано, что при выполнении задачи на сравнение длительностей CNV отражает процессы подготовки и принятия решения о длительности стимулов (Безденежных и др., 2009; van Rijn et al., 2011; Kononowicz et al., 2015).

Теория величины (A Theory of Magnitude) демонстрирует нейрофизиологические данные о существовании единых корковых механизмов для восприятия времени, пространства и количества — базовых характеристик окружающего мира (Walsh, 2003). В рамках этой теории показано, что в поведенческих, психофизических, а также в нейрофизиологических данных наблюдаются идентичные паттерны при выполнении задач на восприятие, сравнение и воспроизведение стимулов, отражающих указанные характеристики (Walsh, 2003; Fabbri et al., 2012), а компонент зрительного компонента ВП в окне 360–460 мс отражает процессы, которые связаны с восприятием длительностей и количеством объектов (Togoli et al., 2022).

Вместе с тем существуют и работы, которые отвергают связь компонентов ВП с восприятием времени. Так, было показано, что CNV скорее связан с восприятием величин в целом, а не только с восприятием временных интервалов (Schlichting et al., 2020).

Другим подходом к анализу ЭЭГ является частотно-временной анализ. В ЭЭГ выделяют ритмы различной частоты. Функционирование внутренних часов традиционно связывается с мозговой активностью в диапазоне альфа-ритма (8–12 Гц), хотя в первых работах прямой связи между воспроизведением временного интервала и альфа-активностью выявлено не было (Treisman, 1984). Позднее уже Фонсова и Шестова (Фонсова и др., 1997; Шестова и др., 1996) выявили связь индивидуальной склонности недооценивать или переоценивать временной интервал и мощности ЭЭГ-спектра в дельта-, альфа- и бета-диапазонах. Эти результаты расширены в современных исследованиях (Бушов и др., 2009).

В большом количестве исследований по данной теме (из обзора (Wiener, Kanai, 2016))

обсуждается связь внутренних часов с амплитудой мощности и фазовыми характеристиками альфа-ритма, тогда как данных о частотных характеристиках практически нет. Интересна методика влияния на субъективное течение времени, продемонстрированная Миони с коллегами (Mioni et al., 2020). Они показали, что стимуляция теменной зоны на частотах выше или ниже индивидуальной частоты пика альфа-ритма увеличивает или уменьшает скорость течения внутреннего времени соответственно.

Имеются также данные о связи альфа-ритма с прогнозированием длительностей временных интервалов (Glicksohn et al., 2009), с процессами внимания и когнитивного контроля, которые вовлечены в восприятие времени (Klimesch et al., 2007). Однако в большей части работ по данной теме используются длинные временные интервалы предъявления стимулов — от нескольких десятков секунд и более, а исследований связи ритмической активности головного мозга в альфа-диапазоне на менее длительных интервалах, а также при выполнении человеком задачи на их сравнение значительно меньше (из обзора (Wiener, Kanai, 2016)). Кроме того, в некоторых работах (например, (Kononowicz, van Rijn, 2015)) представляются результаты, в которых видна корреляция между предъявлением стимула и повышением мощности альфа-ритма, однако авторы не обсуждают данный факт.

Цель данной работы — изучить динамику теменно-затылочного альфа-ритма головного мозга в связи с процессом сравнения длительностей стимулов в интервалах от 3 до 6 с. Этот интервал времени достаточно мало изучен, как было показано выше, однако многими учеными рассматривается как тот, в котором реализуется “истинный” процесс восприятия времени, максимально очищенный от сенсорных и моторных компонентов, а также влияния долговременной памяти (Wackermann et al., 2007).

МЕТОДИКА

Дизайн исследования

В исследовании приняли участие 48 человек: 14 мужчин и 34 женщины, средний возраст 27.1 ± 10.5 лет. Всем участникам были разъяснены цели исследования, после чего они подписывали информированные согласия. Исследование было одобрено этическим комитетом Института высшей нервной дея-

тельности и нейрофизиологии РАН (Протокол этического комитета № 2, 30.04.2021). Все аспекты исследования соответствуют принципам Хельсинкской декларации.

Участники исследования выполняли задачу на сравнение длительностей стимулов: на экране последовательно предъявлялись пары стимулов — две звездочки разной длительности. После каждой пары звездочек участникам предлагалось с помощью клавиатуры указать, какой из стимулов предъявлялся на экране более длительное время. Длительность стимулов варьировалась от 3.2 до 6.4 с с шагом в 0.4 с (всего 9 длительностей). Общее количество проб равнялось 72. Сумма длительностей в каждой паре стимулов была константной и равнялась 9.6 с. По ответам участников вычислялись значения точки субъективного равенства — индивидуального значения интенсивности стимула (длительности), при котором два стимула воспринимаются как равные друг другу. Для этого вычислялись относительные частоты ответов “1” (первый стимул длиннее второго) для каждой пары стимулов у каждого участника. По этим данным строилась Гауссова функция плотности вероятностей, 50%-м квантилем которой является точка субъективного равенства. Значение этой точки показывает величину отклонения субъективного равенства стимулов от их объективного равенства (в данном случае 4.8 с). Данная методика ранее применялась в работе Сысоевой с соавторами (Sysoeva et al., 2010). Для программирования эксперимента использовалась программа Presentation® (Neurobehavioral Systems, Inc., Berkeley, CA, www.neurobs.com).

Обработка данных

В ходе эксперимента проводилась регистрация 64-канальной ЭЭГ (actiCHamp Plus (Brain Products GmbH)) с референтом FCz. Предобработка ЭЭГ осуществлялась при помощи библиотеки MNE версии 1.2 (Gramfort et al., 2013) для языка программирования Python. Полученные ЭЭГ-данные были отфильтрованы при помощи полосового (band-pass) фильтра в диапазоне от 1 до 40 Гц. Визуально и при помощи анализа графика спектральной плотности мощности (PSD) выявлялись плохие каналы, которые далее были интерполированы. При помощи метода независимых компонент (ICA) производилось удаление глазодвигательных и мышечных артефактов.

Для классификации компонентов ICA использовалась открытая платформа ALICE (Soghojan et al., 2021). После завершения предобработки записей было произведено их перереферирование на усредненный референт.

Далее по меткам на выключение стимулов были выделены эпохи (18 типов эпох — первый и второй стимулы в зависимости от 9 вариантов их длительности). Эпохи, в которых амплитуда сигнала превышала 350 мкВ, удалялись из дальнейшего анализа. По каждой из эпох вычислялись вейвлеты Морле, усредненные по группе теменных и теменно-затылочных каналов (P3, P4, PO3, PO4, Pz, POz), так как в этих отведениях мощность альфа-ритма была наиболее выраженной по сравнению с другими группами электродов. К вейвлетам применялась коррекция по базовой линии: для первого стимула в качестве базовой линии был взят интервал в 900 мс до его включения, а для второго — 900 мс после его выключения. Именно в этих интервалах не выполнялась задача на сравнение длительностей временных интервалов. Полученные вейвлеты усреднялись внутри каждой индивидуальной записи.

Статистический анализ производился при помощи программного обеспечения RStudio (версия 2022.07.2). Для статистического анализа в каждой из эпох выделялось 5 эпох анализа, длительностью 900 мс каждая: до включения стимула, сразу после включения, в середине предъявления стимула, до выключения и после выключения стимула. Производилось усреднение значений спектральной мощности альфа-ритма в каждой из пяти выделенных эпох анализа.

Перед проведением статистического анализа производилось удаление статистических выбросов следующим образом: по значениям мощности альфа-ритма рассчитывались первый (25%) и третий (75%) квантили, затем вычислялся межквантильный размах. Верхняя и нижняя границы выбросов определялись как произведение значений первого (третьего) квантилей и значения межквантильного размаха, умноженного на 1.5. В среднем из 15 значений мощности альфа-ритма, которые были у каждого участника (5 этапов анализа и 3 длительности стимула), в пределах межквантильного размаха находились 11.

Для исследования эффектов, связанных с оценкой временных интервалов, применялся дисперсионный анализ с повторными измерениями (rmANOVA). Post-hoc сравнения производились при помощи t-теста Стьюдента для зависимых выборок. Для оценки взаимосвязи мощности альфа-ритма и точек субъективного равенства длительностей использовался коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Частотно-временной анализ интервалов, соответствующих первому и второму стимулам, показал связанное с началом предъявления стимула повышение мощности в альфа-диапазоне (8–12 Гц) в выбранных отведениях: P3, P4, PO3, PO4, POz, Pz (рис. 1).

Для выявления общих эффектов, связанных с оценкой длительности, использовали rmANOVA с двумя факторами: “Этап анализа” (с пятью уровнями: до и после включения, в середине предъявления, до и после выключения стимула) и “Порядок предъявления стимула” (с двумя уровнями: первый или второй стимул). Лишь эффект “Этап анализа” оказался значимым: $F(4, 39) = 2.721, p = 0.04$. При этом не было выявлено значимого влияния фактора “Порядок предъявления стимула” ($F(1, 39) = 1.762, p = 0.19$) и взаимодействия этих двух факторов ($F(3, 39) = 0.552, p = 0.65$).

Post-hoc сравнения мощности альфа-ритма, усредненной для первого и второго интервалов, между интервалами анализа показали статистически значимые различия между базовыми линиями до и после предъявления стимула и всеми интервалами внутри стимула, а также между интервалами после включения стимула и в середине его предъявления (рис. 2). Таким образом, альфа-ритм повышается во время сравнения длительностей независимо от порядка стимулов.

Из дальнейшего анализа были исключены два уровня фактора “Этап анализа” (до включения стимула и после его выключения, так как эти интервалы не связаны с выполнением задачи на сравнение временных интервалов). Также был добавлен фактор “Длительность стимула”, который состоит из трех условных уровней: короткие стимулы (3.2, 3.6, 4.0 с), средние (4.4, 4.8, 5.2 с) и длинные (5.6, 6.0, 6.4 с). В этом случае значимым оказалось влияние фактора “Длительность стимула” ($F(2, 411) = 3.531, p = 0.03$), а также взаимодействие

факторов “Этап анализа” и “Длительность стимула” ($F(4, 411) = 3.154, p = 0.01$) (рис. 3).

Post-hoc анализ взаимодействия факторов “Этап анализа” и “Длительность стимула” показан в табл. 1 и 2. Статистически значимые различия выявлены между всеми длительностями стимулов на интервале перед выключением стимула (между короткими и средними длительностями среднее уменьшение мощности альфа-ритма составляет 0.61 ± 1.81 , между короткими и длинными — 1.1 ± 2.22 , между средними и длинными — 0.77 ± 2.45).

Таким образом, взаимодействие факторов “Этап анализа” и “Длительность стимула” проявляется в возрастании средней мощности альфа-ритма по всем длительностям от начала к середине предъявления стимула, а затем — в снижении мощности для средних (не значимое) и длинных стимулов и увеличении для коротких на интервале перед выключением стимула.

Для оценки взаимосвязи мощности альфа-ритма и психофизического параметра точности сравнения временных интервалов — точки субъективного равенства — был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена между разностью мощности альфа-ритма у длинных и коротких стимулов на интервале перед выключением стимула и значениями точек субъективного равенства (рис. 4). Именно такая разность выбрана ввиду наличия значимых различий между различными длительностями на данном этапе анализа. Результаты показали значимую корреляцию ($R(47) = 0.29, p = 0.045$), что говорит о смещении точки субъективного равенства к истинному равенству длительностей стимулов при уменьшении разницы мощности альфа-ритма между длинными и короткими стимулами.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования демонстрируют динамику теменно-затылочного альфа-ритма головного мозга в его связи с процессом сравнения длительностей стимулов. Показано общее увеличение мощности альфа-ритма во время сравнения длительностей. При этом динамика изменений альфа-ритма внутри оцениваемого интервала отличается для стимулов разной длительности. Для коротких и средних длительностей от включения стимула к середине его предъявления мощность альфа-ритма возрастает, а затем для коротких стимулов продолжается ее увеличение, для

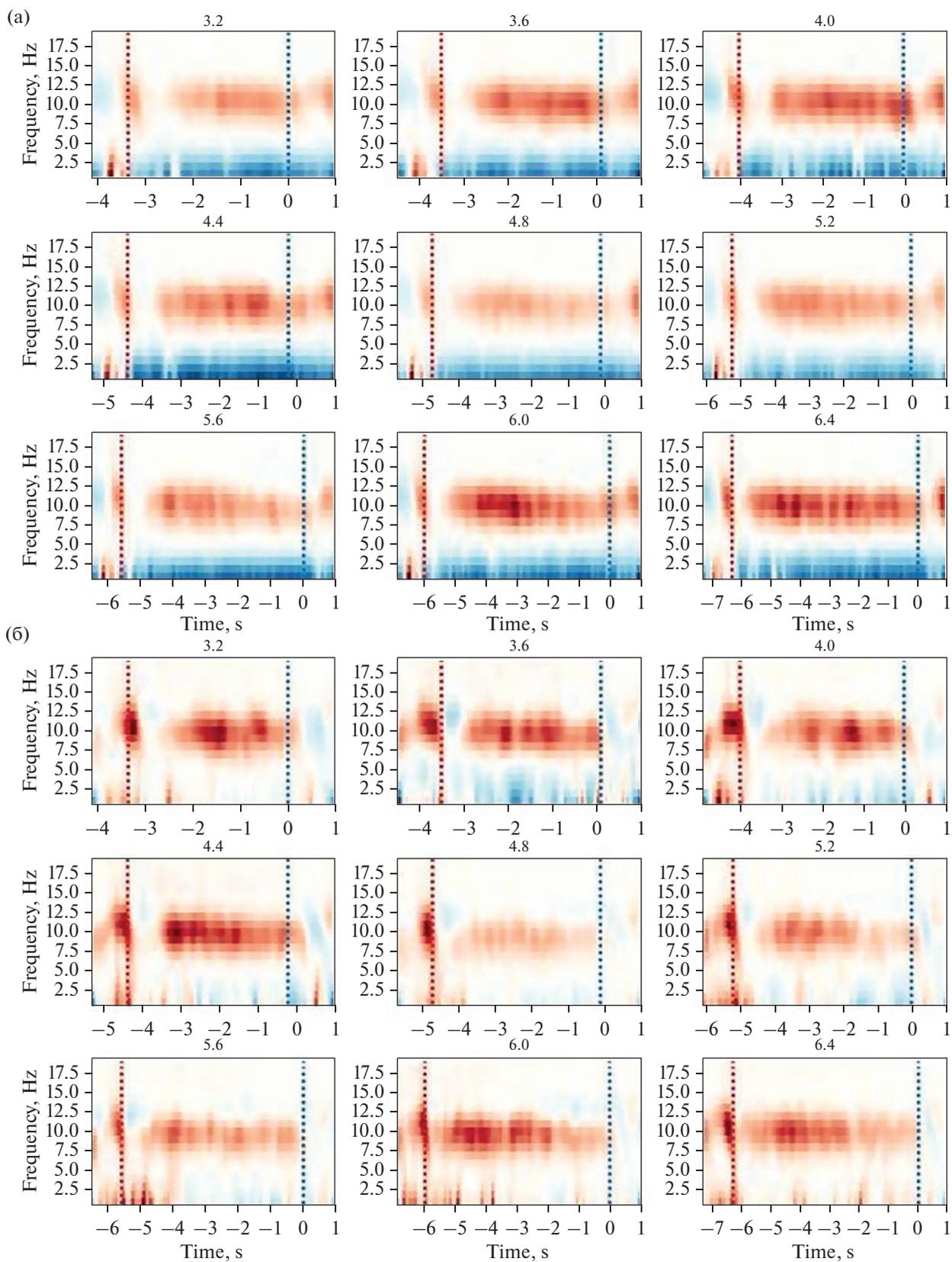


Рис. 1. Графики вейвлетов на предъявление первого (а) и второго (б) стимулов девяти длительностей. Цветом представлены показатели мощности сигнала.

Fig. 1. Wavelet graphs for presentation of the first (a) and second (б) stimuli of nine durations.

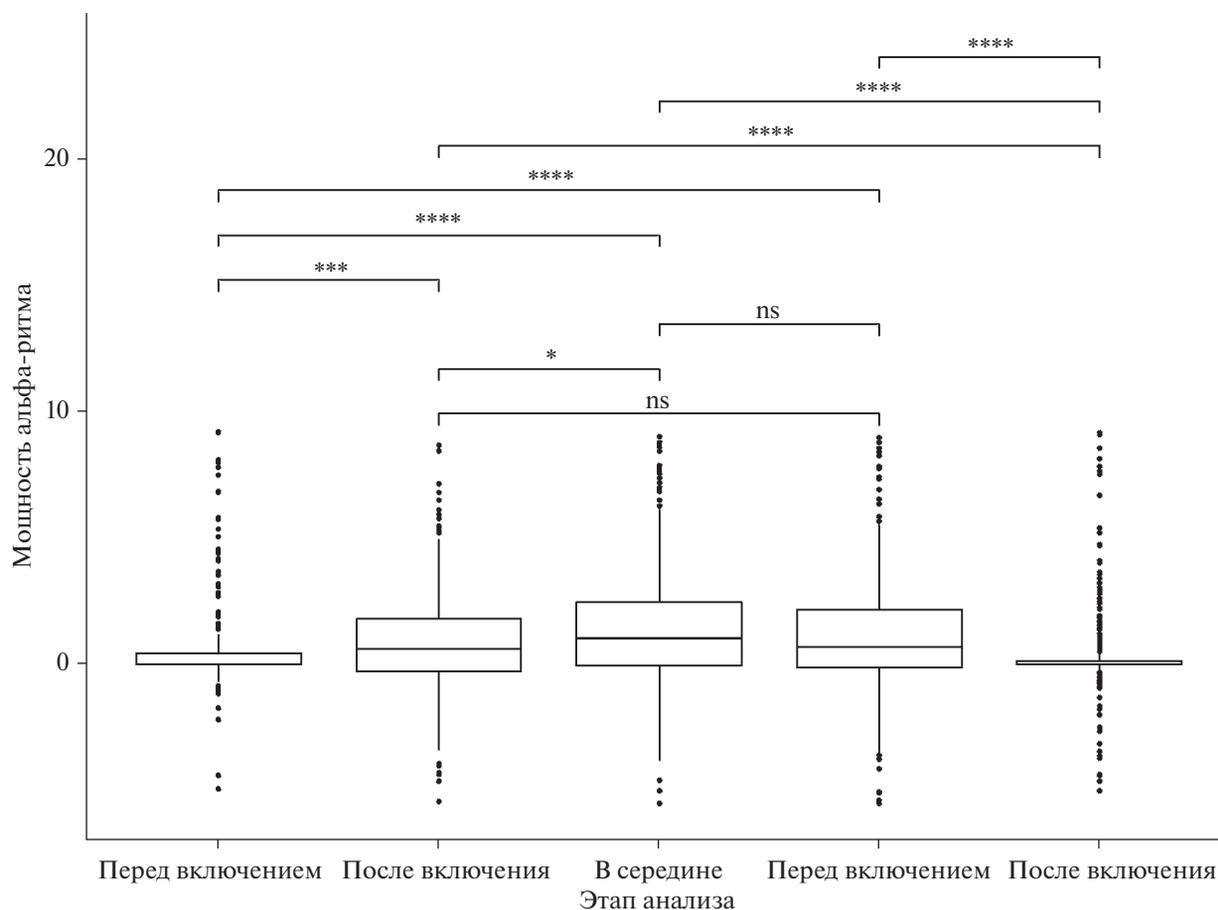


Рис. 2. Post-hoc сравнения мощности альфа-ритма на разных этапах восприятия стимула.
Fig. 2. Post-hoc comparisons of alpha rhythm power at different stages of stimulus perception.

средних длительностей мощность сохраняется на том же уровне. Для длинных стимулов, наоборот, от начала к концу предъявления стимула мощность альфа-ритма снижается, что может свидетельствовать о прекращении или ослаблении процесса оценки длительности для длинных стимулов к концу их предъявления, т.к. для эффективного сравнения с более короткими длительностями это уже не требуется. Однако если разность мощности альфа-ритма между длинными и короткими стимулами большая, то это может влиять на правильность ответов. Действительно, чем больше снижение мощности альфа-ритма между длительными и короткими стимулами перед их выключением, тем больше сдвигается точка субъективного равенства в отрицательную область (рис. 4), свидетельствуя о большем отклонении от объективного значения.

В работе Kononowicz и van Rijn авторы представляют результаты частотно-временного анализа ЭЭГ при выполнении участниками задачи на воспроизведение временных интервалов (Kononowicz, van Rijn, 2015). На графиках (рис. 2 в статье) видно увеличение мощности альфа-ритма в момент включения стимула. Однако фокус внимания авторов сосредоточен на активности в бета-диапазоне, поэтому динамика альфа-активности в работе не обсуждается. В нашем исследовании получены сходные результаты. Сопоставление результатов позволяет предположить наличие сходной динамики альфа-ритма и при выполнении задачи на воспроизведение длительностей, а не только на их сравнение.

Показанная динамика теменно-затылочной альфа-активности головного мозга может рассматриваться в контексте модели “двойной клепсидры”. В основе концепции “двойной клепсидры” (Wackermann, Ehm,

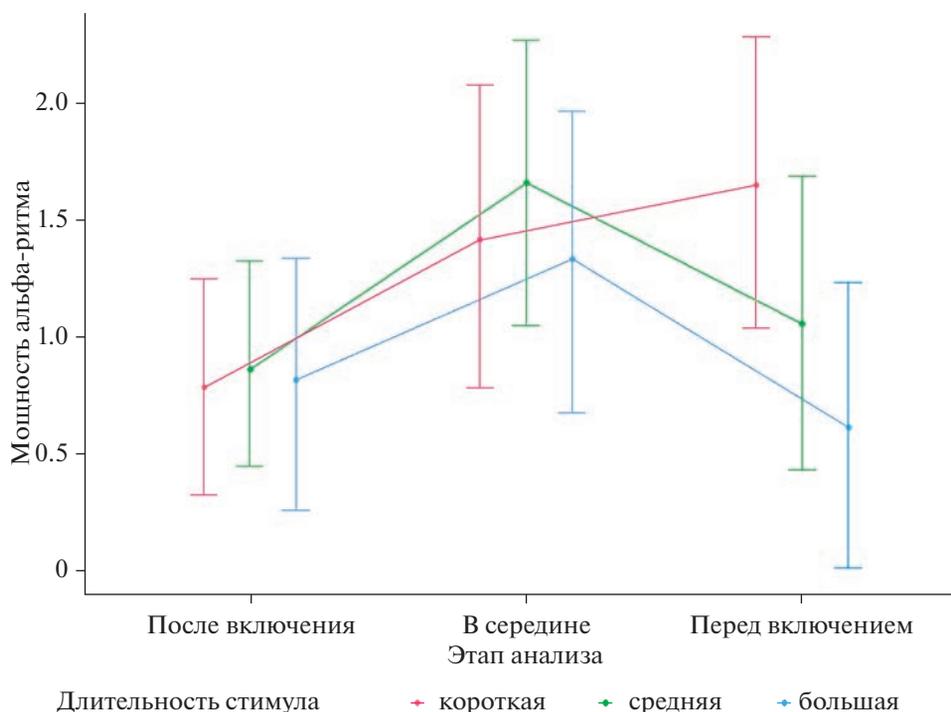


Рис. 3. График взаимодействия факторов “Длительность стимула” и “Этап анализа”.
Fig. 3. Graph of interaction of the factors “Stimulus duration” and “Analysis stage”.

2006) лежит представление о внутреннем течении времени как о диссипативных системах “притока/оттока”. Клепсидра – это сосуд с отверстием, из которого вода постоянно вытекает с некоторой скоростью. Процессы в

протекающей клепсидре могут быть сопоставлены с затуханием активности нейронного ансамбля. Скорость этого затухания и отражается в субъективном “сжатии” времени, которое различается у разных людей.

Таблица 1. Post-hoc сравнения мощности альфа-ритма на разных этапах анализа в зависимости от длительности стимула

Table 1. Post-hoc comparisons of alpha rhythm power at different stages of analysis depending on the duration of the stimulus

	Средняя длительность стимула	Большая длительность стимула
Интервал в начале предъявления стимула		
Короткая длительность стимула	$t(79) = 0.06$ $p = 0.95$	$t(75) = 0.14$ $p = 0.89$
Средняя длительность стимула		$t(75) = -0.55$ $p = 0.65$
Интервал в середине предъявления стимула		
Короткая длительность стимула	$t(63) = 0.26$ $p = 0.79$	$t(61) = -0.07$ $p = 0.95$
Средняя длительность стимула		$t(65) = 0.64$ $p = 0.52$
Интервал перед выключением стимула		
Короткая длительность стимула	$t(64) = 2.72$ $p = 0.01$ CI [0.16; 1.06]	$t(63) = 3.87$ $p < 0.001$ CI [0.52; 1.63]
Средняя длительность стимула		$t(66) = 2.59$ $p = 0.01$ CI [0.18; 1.38]

Таблица 2. Post-hoc сравнения мощности альфа-ритма на разных длительностях стимулов в зависимости от этапа анализа**Table 2.** Post-hoc comparisons of alpha rhythm power at different stimulus durations depending on the analysis stage

	Интервал в середине предъявления стимула	Интервал перед выключением стимула
Короткая длительность стимула		
Интервал в начале предъявления стимула	t (65) = -3.05 p = 0.003 CI [-1.77; -0.37]	t (66) = -3.11 p = 0.003 CI [-1.91; -0.42]
Интервал в середине предъявления стимула		t (62) = -0.34 p = 0.74
Средняя длительность стимула		
Интервал в начале предъявления стимула	t (71) = -2.5 p = 0.01 CI [-1.43; -0.16]	t (69) = -0.91 p = 0.37
Интервал в середине предъявления стимула		t (67) = 1.83 p = 0.07
Большая длительность стимула		
Интервал в начале предъявления стимула	t (61) = -1.30 p = 0.19	t (63) = 0.40 p = 0.69
Интервал в середине предъявления стимула		t (63) = 2.59 p = 0.01 CI [0.19; 1.5]

В качестве этих систем выступают гипотетические “нейронные аккумуляторы”, которые “наполняются зарядом” во время предъявления стимула, однако в силу нейрофизиологических особенностей данный аккумулятор также и постоянно теряет заряд. Если “заряд” двух “аккумуляторов” одинаков, то две длительности субъективно воспринимаются как равные. “Скорость потери” этого “заряда” выражается через параметр каппа, который, в свою очередь, связан с точкой субъективного равенства: чем больше отклонение точки субъективного равенства в отрицательную область, тем с большей скоростью “нейронный аккумулятор” оценки длительности теряет свой заряд.

В нашем случае к концу длительного стимула зарядка этих “аккумуляторов” уже заметно компенсируется разрядкой, что проявляется в относительном снижении мощности альфа-ритма. При этом большее снижение мощности наблюдается у тех людей, у которых скорость разрядки “нейронного аккумулятора” времени больше, что также ведет к более сильному сдвигу точки субъективного равенства в отрицательную сторону. Также следует отметить, что в нашем исследовании был подтвержден факт “субъективного сжа-

тия длительности”, ранее описанного в ряде работ (Wackerman, Ehm, 2006; Sysoeva et al., 2010; Sysoeva et al., 2011 и др.). Большинство участников нашего эксперимента имели значения точки субъективного равенства длительностей меньше нуля, т.е. при одинаковых длительностях им казалось, что первый стимул был короче, чем второй.

Традиционно считается, что альфа-ритм сопровождает состояния спокойного бодрствования и сниженного внимания к событиям внешнего мира (например, он преимущественно регистрируется при закрытых глазах, а при их открытии наблюдается реакция активации – резкое падение мощности альфа-ритма) и в целом отражает генерализованные нейронные процессы, протекающие в коре головного мозга (Bazanov, Vernon, 2014). Достоверно показано, что мощность альфа-диапазона значительно повышается при выполнении практик медитации (Lomas et al., 2015). В других же работах подчеркивается, что нейронная активность в диапазоне альфа-ритма связана с процессами, сопровождающими неявное внимание, в том числе пространственное (например, (Foster et al., 2017)). Наши результаты демонстрируют, что альфа-ритм при выполнении задачи на сравнение

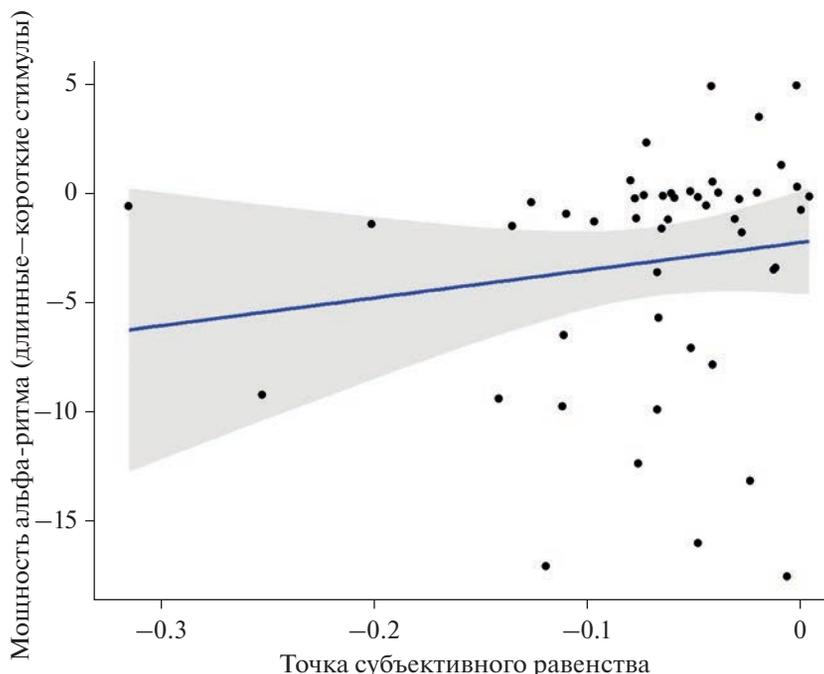


Рис. 4. График корреляции между значениями точек субъективного равенства и разностью мощности альфа-ритма между длинными и короткими стимулами.

Fig. 4. A graph of the correlation between the values of subjective equality points and the difference in the power of the alpha rhythm between long and short stimuli.

длительностей не связан со снижением уровня внимания или бодрствования — в противном случае не наблюдалось бы различий в мощности альфа-ритма на разных длительностях стимулов. Более того, в нашей работе как раз большее снижение альфа-ритма характеризует большие отклонения субъективной оценки от объективной длительности. Таким образом, результаты исследования дополняют данные о функциональном значении альфа-ритма в противовес взгляду на него как на “ритм пассивного бодрствования”.

Также имеются данные о том, что повышение мощности теменного альфа-ритма связано с повышением уровня интернального внимания — вида внимания, при котором человек сосредоточен на внутренних процессах, что сопровождается подавлением внешней стимуляции (Benedek et al., 2014; Kounios, Veeman, 2014). Полученные нами результаты можно рассмотреть и с этой позиции: повышение мощности теменного альфа-ритма связано с сосредоточением внимания на внутренних ощущениях, что необходимо при выполнении задачи на сравнение временных интервалов. Однако данная интерпретация является достаточно общей и не

противоречит объяснению в рамках концепции “двойной клепсидры”, которая позволяет рассмотреть полученные результаты во взаимосвязи с современными концепциями восприятия времени. Определенно требуются дополнительные исследования, чтобы изучить связь индивидуальных особенностей восприятия времени и интернального внимания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании рассмотрена динамика теменно-затылочного альфа-ритма при выполнении задачи на сравнение двух временных интервалов. Показано общее увеличение мощности альфа-ритма в начале и середине предъявления стимулов для сравнения. К моменту выключения стимулов коротких длительностей мощность альфа-ритма продолжает увеличиваться, тогда как для длительных стимулов, напротив, уменьшается. Это может свидетельствовать об ослаблении или прекращении процесса оценки длительности, так как для эффективного сравнения длинных стимулов с короткими это уже не требуется. Чем больше снижение активности альфа-ритма между длительными и коротки-

ми стимулами перед их выключением, тем больше выражено отклонение оценки сравнения длительностей от объективного значения.

Результаты согласуются с моделью “двойной клепсидры”, которая предполагает наличие “нейронных аккумуляторов” – гипотетических нейрофизиологических систем, активность которых связана с внутренним течением времени и точностью оценки временных интервалов. Динамику теменно-затылочного альфа-ритма можно рассматривать как электрофизиологический коррелят функционирования “нейронных аккумуляторов”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 22-18-00676.

Авторы благодарят Феликса Закирова, Дину Митюрёву, Дарью Костянян, Александру Медведеву и Анастасию Ребик за помощь в сборе данных для исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Безденежных Б.Н., Медынцев А.А., Александров Ю.И.* Системная организация поведения, связанного с произвольной и непроизвольной оценкой интервалов времени разной длительности. Экспериментальная психология. 2009. 2 (3): 5–18.
- Бушов Ю.В., Светлик М.В., Крутенкова Е.П.* Высокочастотная электрическая активность мозга и восприятие времени. 2009.
- Сысоева О.В., Вартанов А.В.* Отражение длительности стимула в характеристиках вызванного потенциала (часть 1). Психологический журнал. 2004. 25 (1): 101–110.
- Фонсова Н.А., Шестова И.А., Шульговский В.В.* Особенности воспроизведения интервалов времени и индивидуальная структура ЭЭГ у человека. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 1997. 47 (1): 4–9.
- Шестова И.А., Фонсова Н.А., Шульговский В.В.* Динамика доминирующей частоты альфа-ритма при восприятии и воспроизведении интервалов времени. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 1996. 46 (2): 253.
- Bazanova O.M., Vernon D.* Interpreting EEG alpha activity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2014. 44: 94–110.
- Benedek M., Schickel R.J., Jauk E., Fink A., Neubauer A.C.* Alpha power increases in right parietal cortex reflects focused internal attention. *Neuropsychologia*. 2014. 56: 393–400.
- Fabbri M., Cancellieri J., Natale V.* The A Theory of Magnitude (ATOM) model in temporal perception and reproduction tasks. *Acta Psychologica*. 2012. 139 (1): 111–123.
- Foster J.J., Sutterer D.W., Serences J.T., Vogel E.K., Awh E.* Alpha-Band Oscillations Enable Spatially and Temporally Resolved Tracking of Covert Spatial Attention. *Psychological Science*. 2017. 28 (7): 929–941.
- Glicksohn J., Ohana A.B., Dotan T.B., Goldstein A., Donchin O.* Time Production and EEG Alpha Revisited. *NeuroQuantology*. 2009. 7 (1): Art. 1.
- Gramfort A., Luessi M., Larson E., Engemann D., Strohmeier D., Brodbeck C., Goj R., Jas M., Brooks T., Parkkonen L., Hämäläinen M.* MEG and EEG data analysis with MNE-Python. *Frontiers in Neuroscience*. 2013. 7: 267.
- Klimesch W., Sauseng P., Hanslmayr S.* EEG alpha oscillations: The inhibition–timing hypothesis. *Brain Research Reviews*. 2007. 53 (1): 63–88.
- Kounios J., Beeman M.* The cognitive neuroscience of insight. *Annual review of psychology*. 2014. 65 (1): 71–93.
- Kononowicz T.W., van Rijn H.* Single trial beta oscillations index time estimation. *Neuropsychologia*. 2015. 75: 381–389.
- Kononowicz T.W., Sander T., van Rijn H.* Neuroelectromagnetic signatures of the reproduction of supra-second durations. *Neuropsychologia*. 2015. 75: 201–213.
- Lomas T., Ivtzan I., Fu C.H.Y.* A systematic review of the neurophysiology of mindfulness on EEG oscillations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2015. 57: 401–410.
- Merchant H., Lafuente V.D.* Introduction to the neurobiology of interval timing. *Neurobiology of interval timing*. 2014. 1–13.
- Mioni G., Shelp A., Stanfield-Wiswell C.T., Gladhill K.A., Bader F., Wiener M.* Modulation of Individual Alpha Frequency with tACS shifts Time Perception. *Cerebral Cortex Communications*. 2020. 1 (1): tga064.
- Schlichting N., de Jong R., van Rijn H.* Performance-informed EEG analysis reveals mixed evidence for EEG signatures unique to the processing of time. *Psychological Research*. 2020. 84 (2): 352–369.
- Soghoyan G., Ledovsky A., Nekrashevich M., Martynova O., Polikanova I., Portnova G., Rebreikina A., Sysoeva O., Sharaev M.* A Toolbox and Crowdsourcing Platform for Automatic Labeling of Independent Components in Electroencephalography. *Frontiers in Neuroinformatics*. 2021. 15.
- Sysoeva O.V., Tonevitsky A.G., Wackermann J.* Genetic Determinants of Time Perception Mediated by the Serotonergic System. *PLoS One*. 2010. 5 (9): e12650.

- Sysoeva O., Takegata R., Näätänen R. Pre-attentive representation of sound duration in the human brain. *Psychophysiology*. 2006. 43 (3): 272–276.
- Sysoeva O., Wittmann M., Wackermann J. Neural Representation of Temporal Duration: Coherent Findings Obtained with the “Lossy Integration” Model. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2011. 5.
- Togoli I., Fornaciai M., Visibelli E., Piazza M., Buetti D. The neural signature of magnitude integration between time and numerosity. *bioRxiv*. 2022.
- Treisman M. Temporal rhythms and cerebral rhythms. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1984. 423: 542–565.
- Van Rijn H., Kononowicz T.W., Meck W.H., Ng K.K., Penney T.B. Contingent negative variation and its relation to time estimation: A theoretical evaluation. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2011. 5: 91.
- Wackermann J., Ehm W. The dual klepsydra model of internal time representation and time reproduction. *Journal of theoretical biology*. 2006. 239: 482–493.
- Wackermann J. Inner and outer horizons of time experience. *The Spanish journal of psychology*. 2007. 10 (1): 20–32.
- Walsh V. A theory of magnitude: common cortical metrics of time, space and quantity. *Trends in cognitive sciences*. 2003. 7 (11): 483–488.
- Wiener M., Kanai R. Frequency tuning for temporal perception and prediction. *Current Opinion in Behavioral Sciences*. 2016. 8: 1–6.

DYNAMICS OF THE PARIETAL-OCCIPITAL ALPHA RHYTHM ACTIVITY DURING COMPARISON OF VISUAL STIMULI DURATIONS

A. O. Rogachev^{a, b, #} and O. V. Sysoeva^{a, b, ##}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b*Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia*

[#]*e-mail: aorogachev@gmail.com*

^{##}*e-mail: olga.v.sysoeva@gmail.com*

This research is aimed at studying the dynamics of the parietal-occipital alpha rhythm in its connection with the process of stimuli duration comparison. EEG study was conducted in which participants ($n = 48$) were asked to compare pairs of visual stimuli of different durations ranging from 3.2 to 6.4 s. The time-frequency analysis of the EEG was carried out in the range of 8–12 Hz. The power of alpha rhythm increases from the stimulus onset to the middle of its presentation, but then its dynamic depends on the stimulus duration: it further increases for short durations (3.2, 3.6, 4.0 s), stays the same for middle durations (4.4, 4.8, 5.2 s) and decreases for long durations (5.6, 6.0, 6.4 s). The relative decrease of alpha power for long stimuli in relation to the short ones was related to subjective perception of time. The results are discussed from the point of view of the “dual klepsydra” model: it is assumed that alpha rhythm acts as an electrophysiological correlate of the functioning of “neural accumulators” associated with the subjective passage of time.

Keywords: time perception, time durations comparison task, alpha rhythm, EEG, time-frequency analysis, “dual klepsydra” model

**ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА**

УДК 612.821.6

**ДИНАМИКА СЕНСОМОТОРНОГО РИТМА ЭЭГ ПРИ МЫСЛЕННОМ
ПОВТОРЕНИИ ЗА НАБЛЮДАЕМЫМ ДВИЖЕНИЕМ**

© 2023 г. А. Н. Васильев^{1, 2, *}, А. Е. Маковская¹, А. Я. Каплан^{1, 3}

¹Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²МЭГ-центр, Московский психолого-педагогический университет, Москва, Россия

³Балтийский Федеральный Университет им. И. Канта, Калининград, Россия

*e-mail: a.vasilyev@anymail.com

Поступила в редакцию 24.11.2022 г.

После доработки 19.04.2023 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

Мысленная симуляция собственного движения, или представление движения, а также наблюдение за движениями других людей применяются в нейрореабилитации в качестве методов стимуляции сенсомоторных отделов мозга. В настоящей работе тестируется новый способ представления — мысленная имитация движения, синхронная с движением, наблюдаемым от первого лица на видеоэкране. Задачами исследования являлись сравнение реактивности сенсомоторных ритмов ЭЭГ при произвольном представлении движения и представлении вслед за видеостимулом, а также выявление связи между фазами движения на видео и динамикой паттернов ЭЭГ. В исследовании приняли участие 30 здоровых добровольцев, у которых регистрировалась 69-канальная энцефалограмма во время выполнения и представления ими движений большим пальцем правой руки в двух режимах: произвольно (без внешнего ориентира) и синхронно имитируя движение на видеоролике. При анализе ЭЭГ у испытуемых выделялись индивидуальные пространственно-частотные компоненты с наибольшей реактивностью мю-ритма ЭЭГ (8–14 Гц), после чего проводилась количественная оценка десинхронизации в изучаемых условиях на основе анализа распределений плотности вероятности мощности мю-ритма. Для оценки связи динамики десинхронизации мю-ритма с событиями на видео применялась обобщенная аддитивная модель, описывающая функцию ответов на одиночные события в наблюдаемых движениях и их суммацию при серийном выполнении или представлении движений. Было показано, что мысленная кинестетическая симуляция наблюдаемого движения не приводит к увеличению десинхронизации сенсомоторных ритмов по сравнению с произвольным представлением такого же движения. Впервые установлено, что во временном ходе десинхронизации мю-ритма возникают пертурбации, зависящие от фазы и скорости наблюдаемого движения как при его синхронном мышечном повторении, так и при мысленной синхронной имитации. Полученные результаты могут быть использованы для оптимизации параметров движений в индивидуальных системах идеомоторных тренировок с ЭЭГ-контролем для достижения наибольшей сенсомоторной активации.

Ключевые слова: представление движений, наблюдение за движением, имитация движения, мю-ритм, десинхронизация

DOI: 10.31857/S004446772304010X, EDN: WHOMMY

ВВЕДЕНИЕ

Двигательные нарушения являются самыми распространенными последствиями инсульта, с которыми сталкиваются около 80% выживших пациентов, а у большинства из них двигательная дисфункция приобретает хроническую форму (Hendricks et al., 2002). Наряду с богатым репертуаром мер классиче-

ской восстановительной медицины, современная нейрореабилитация признает и активно задействует когнитивные упражнения, направленные на дополнительную активацию сенсомоторной системы мозга у больного, такие как представление движений, наблюдение за движениями, зеркальная терапия, биологическая обратная связь

(De Vries, Mulder, 2007; Langhorne et al., 2009). Нейрофизиологическое обоснование эффективности подобных методик опирается на то, что мысленное представление и восприятие своих или чужих движений задействует те же нейрональные сети, что задействованы в генерации произвольных мышечных движений (Fadiga et al., 1995; Gerard et al., 2000; Grafton et al., 1996; Hardwick et al., 2018).

В настоящей статье основное внимание будет уделено представлению движений и активному наблюдению за движениями. Представление движения (ПД) определяют как акт мысленной перцептивной симуляции (репетиции) собственного движения, подразумевающий генерацию мультисенсорных образов, основными значимыми модальностями которых являются зрительная, соответствующая визуализации движущихся частей тела, и кинестетическая, охватывающая все телесные ощущения, включая тактильные. Поскольку зрительное и кинестетическое представления опираются на разные мозговые системы, а также могут быть сознательно диссоциированы человеком, их рассматривают отдельно друг от друга, в том числе в их практических применениях (Fégy, 2003). В контексте нейрореабилитации предпочтение отдается кинестетическому представлению, т. к. только оно значимо вовлекает сенсомоторные контуры мозга (Guillot et al., 2009; Stinear et al., 2006; Мокиенко et al., 2013). По сравнению с представлением, наблюдение за движением (НД) объединяет большое количество протоколов реализации, включающих активный просмотр видеоряда движений другого человека или частей его тела с целью толкования, оценки, предсказания, выучивания или имитации наблюдаемого движения в дальнейшем (Hodges, 2017; Sarasso et al., 2015).

Несмотря на довольно обширную литературу, посвященную отдельным методикам наблюдения за движениями (Buccino, 2014; Ertelt et al., 2007) и представлению движений (Braun et al., 2013; Machado et al., 2015), идеи об их совместном применении и изучении начали появляться сравнительно недавно (Emerson et al., 2018). Согласно современным представлениям, между наблюдаемым и воображаемым движением возможны различные смысловые и функциональные отношения за счет вариаций точки зрения наблюдателя и конгруэнтности двух актов (Vogt et al., 2013). Привлекательность идеи их объединения за-

ключается, с одной стороны, в том, что оба акта являются формами мысленной симуляции движения (Vogt et al., 2013), а с другой стороны, задействуют два разных механизма инициации движения: внешний, реактивный — для наблюдения — и эндогенный и произвольный — для представления (Eaves et al., 2016b). Наиболее эффективным способом их объединения с целью максимизации активации внутренних двигательных контуров является представление движения, полностью конгруэнтного наблюдаемому движению. В таком режиме представления (“представляемой имитации” (Friesen et al., 2017)) зрительный перцептивный компонент наблюдаемого движения запускает механизмы репетиции движения за счет активации зеркальной системы мозга, а испытуемый произвольно добавляет кинестетический компонент, формируя более полный мультисенсорный двигательный образ. Предъявление наблюдаемого движения в перспективе от первого лица также способствует, при одновременном представлении, развитию чувства собственности (аналогично иллюзии “резиновой руки”, англ. — rubber hand illusion, (Tsakiris, Haggard, 2005) и зеркальной иллюзии (Altschuler et al., 1999)) и чувства авторства действия (англ. — agency) (Vogt et al., 2013). Однако добавление к и без того сложной задаче представления движения необходимости постоянного отслеживания и реагирования на внешний стимул может оказывать отрицательное влияние на качество кинестетического воображения и общую эффективность задействования сенсомоторного контура в когнитивной задаче.

На данный момент в литературе отсутствуют однозначные свидетельства о преимуществах комбинированного наблюдения представлением по сравнению с полностью произвольным представлением. Так, ряд исследований демонстрирует более сильную активацию сенсомоторной коры в условии “представление + наблюдение” по сравнению с “только наблюдением” (Nedelko et al., 2012; Villiger et al., 2013), преимущество комбинированного условия по сравнению с “только представлением” отсутствует в водных исследованиях (Friesen et al., 2017; Meers et al., 2020) и присутствует в других (Eaves et al., 2016a; Nagai, Tanaka, 2019).

Тем не менее представление движений вслед за видеостимулом имеет существенное методическое преимущество — становится явной структура фаз (направлений и скоростей) отдельных представляемых движений,

которые невозможно предугадать при произвольном воображении. Этот прием позволил показать, что возбудимость корковых моторных зон увеличивается синхронно с движением на видео с минимальной временной задержкой (Borroni et al., 2005; Cengiz et al., 2018). Закономерности фазы и скорости наблюдаемого/представляемого движения еще не были исследованы для электрической активности мозга, в частности для классического маркера сенсомоторной активации – десинхронизации сенсомоторных ритмов ЭЭГ (Neuper et al., 2009).

Таким образом, целями настоящего исследования было выяснить, вызывает ли мысленное повторение движений за видеостимулом большую десинхронизацию по сравнению с произвольным представлением того же движения, а также проверить наличие связи между фазами и скоростями воображаемого движения и временной динамикой десинхронизации сенсомоторных ритмов.

МЕТОДИКА

Испытуемые. В исследовании приняли участие 30 здоровых добровольцев (16 женщин) в возрасте от 20 до 29 лет (медиана – 21) с доминантной правой рукой (согласно результатам самоотчета). Испытуемые не были знакомы с методикой представления движений до начала исследования и не были осведомлены о гипотезах исследования на всем его протяжении. Все испытуемые дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования был одобрен Комиссией по биоэтике биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Регистрация ЭЭГ. Регистрация ЭЭГ осуществлялась при помощи двух электроэнцефалографов NVX-52 (МКС, Зеленоград, Россия) и 69 чашечных Ag+/AgCl электродов (MCSCAP-NTH), установленных согласно системе “10-10”. Для синхронизации двух энцефалографов использовались входящие и исходящие TTL-импульсы, генерируемые каждым устройством. В качестве референта использовался электрод в позиции Tr10, регистрируемый обоими энцефалографами с помощью электрода с Y-раздвоенным контактом. Контактное сопротивление для всех электродов не превышало 15 кОм. Частота дискретизации составляла 1000 Гц, при полосе пропускания от 0 до 200 Гц (по уровню –

3 dB). Для контроля за наличием/отсутствием двигательной активности во время выполнения заданий с помощью дополнительных каналов одного из энцефалографов регистрировалась электромиограмма (ЭМГ) с короткой мышцы, отводящей большой палец кисти (*abductor pollicis brevis*).

Экспериментальные условия. Во время эксперимента испытуемый сидел в комфортном кресле, располагая руки так, чтобы локти находились на подлокотниках, предплечья сводились под 30–45 градусов в аксиальной плоскости, а кисти клались на плоский планшет, располагаемый на коленях. Правая кисть испытуемого помещалась в специальную подставку (рис. 1, верх), поддерживающую кисть в нейтральной позиции. Между большим и остальными пальцами кисти в подставке располагался гладкий упор, позволяющий большому пальцу скользить вверх и вниз, что соответствовало отведению и приведению большого пальца и имитировало работу со смартфоном с сенсорным экраном. Непосредственно перед располагаемой в подставке кистью устанавливался портативный 10-дюймовый ЖК-монитор, полностью закрывающий дистальную часть предплечья от взгляда испытуемого. В зависимости от экспериментального условия на мониторе выводились стимулы: абстрактная картинка, пиктограмма руки или видео руки, совершающей движения пальцем вверх и вниз. В случае с видеостимулом перспектива, положение и размеры руки были максимально приближены к таковым для руки испытуемого с его точки зрения. Всего в эксперименте было 5 условий со следующими инструкциями:

- **Произвольные движения** большим пальцем вверх и вниз по гладкому упору (“Д”) – испытуемые должны были совершать движения в случайном порядке из обозначенного выемкой центра упора вверх и вниз, варьируя только скорость фазы эксцентрического движения и возвращая палец в центр с примерно одинаковой скоростью. Движения совершались из центра гребня, их скорость и направление спонтанно выбирались непосредственно перед началом каждого движения. Испытуемым рекомендовалось не думать о скорости возвратных движений и совершать их в комфортном темпе без промедления. Испытуемый должен был начинать серию произвольных движений при появлении пиктограммы руки

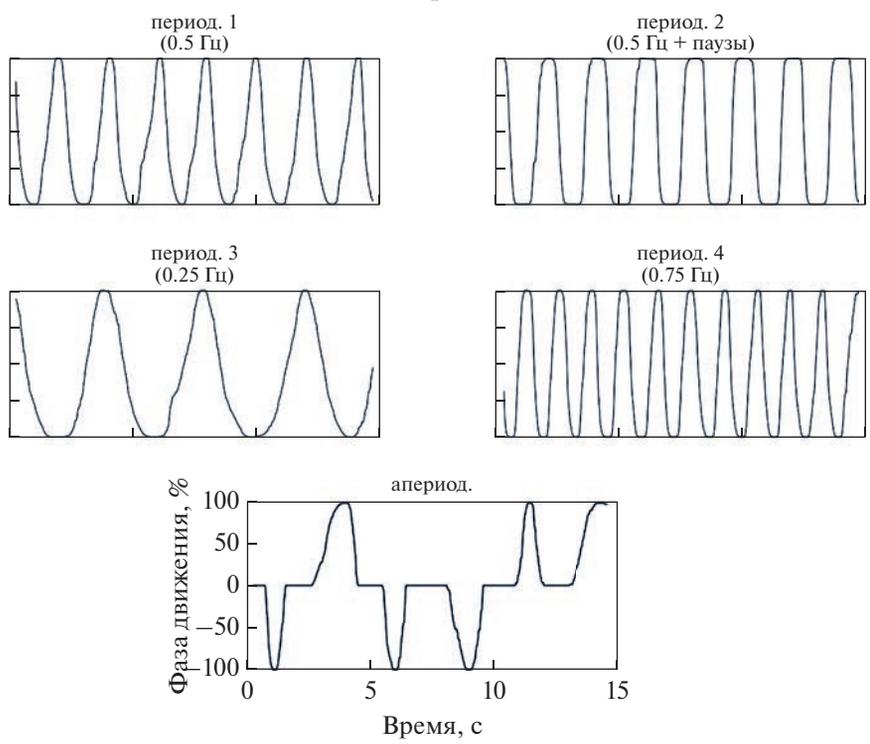
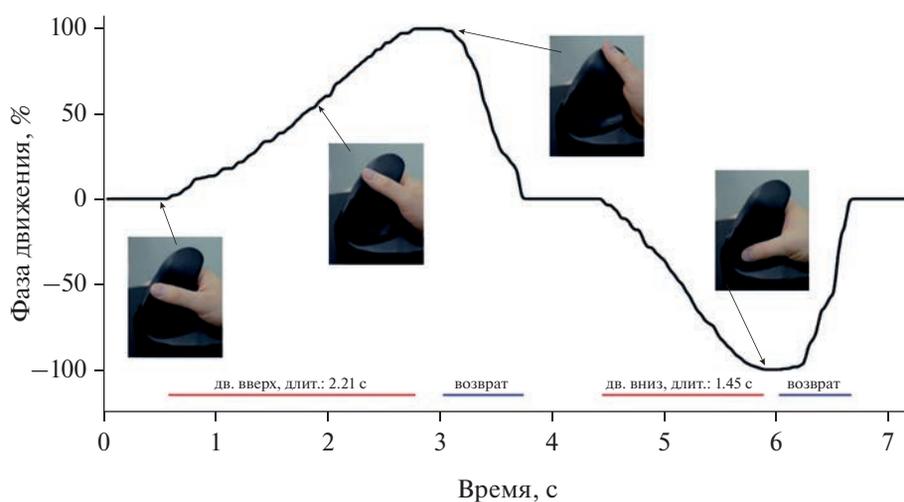


Рис. 1. Сверху — положение руки в подставке в нейтральном положении — кадр из видеостимула. По центру — пример оцифрованного сигнала фотодатчика, кодирующего фазу движения на видео (снизу). Траектории движения большого пальца в условиях с видеостимулами. Для периодических движений приведена частота выполнения движений в Гц.

Fig. 1. The position of the hand in the stand in the neutral position — a frame from the video stimulus (top). Center — an example of a digitized signal from photosensor encoding the phase of motion in the video (bottom). Thumb movement trajectories under video-stimulated conditions. For periodic movements, the frequency of movements is given in Hz.

на мониторе и прекращать выполнение при ее исчезновении.

- **Имитирующие движения** большим пальцем вверх и вниз по гладкому упору (“ДИ”), синхронизованные с видеостимулом, — испытуемых просили с минимально возможной задержкой повторять движения, представляемые в видео на экране. Перспектива наблюдения монитора настраивалась так, чтобы создавалось ощущение продолжения собственной руки.

- **Представления движений** большим пальцем вверх и вниз по гладкому упору в произвольном темпе (П) — испытуемые должны были мысленно воспроизводить план движения, симулируя кинестетические и тактильные ощущения, возникающие, как если бы эти движения выполнялись в действительности. Между блоками с попытками представления испытуемые проходили устное интервью, включающее вербальное описание субъективных ощущений, возникающих при выполняемых и представляемых движениях. В ходе обсуждения с экспериментатором испытуемым объяснялась разница между “визуальными” и “кинестетическими” мысленными образами и рекомендовалось опираться на субъективно наиболее яркие кинестетические ощущения. При представлении движений рекомендовалось по возможности соблюдать манеру движения аналогично условию “Д”. Испытуемый должен был начинать представлять произвольные движения при появлении пиктограммы руки на мониторе и прекращать представление при ее исчезновении.

- **Представление синхронно имитируемых движений** на видео-стимуле (ПИ) — испытуемых просили внимательно отслеживать движения в видеоролике и мысленно представлять кинестетические ощущения, как если бы это были их собственные движения.

- **Зрительный счет (ЗС)** — на экране появлялась абстрактная картинка, содержащая большое количество геометрических элементов (Васильев et al., 2016). Испытуемым тре-

бовалось мысленно планомерно подсчитывать элементы рисунка того или иного типа (по усмотрению испытуемого). Это условие выполняло роль контроля для всех предыдущих условий и псевдослучайно чередовалось в блоках с каким-либо из двигательных условий (например, ЗС, П, ЗС, П, П, ЗС...).

Эксперимент был поделен на “записи” — неразрывные периоды выполнения попыток с одним из двигательных условий (Д, ДИ, П, ПИ) и зрительного счета. В рамках одной записи выполнялось по 8–10 попыток каждого из двух условий, длящихся 7 с для условий П, Д и ЗС и 15 с для условий ДИ и ПИ. Синхронно имитируемые движения имели два варианта исполнения: аperiodическое и периодическое (рис. 1).

У первых десяти испытуемых был представлен только аperiodический вариант исполнения, а у оставшихся двадцати был как периодический, так и аperiodический. Решение о включении в регламент периодических движений последовало в ответ на жалобы ряда испытуемых о том, что отдельные фазы аperiodических движений было сложно имитировать из-за их внезапности и слабой предсказуемости. Напротив, в периодическом режиме движения испытуемые следовали постоянному ритму, что позволяло его быстро выучить и при выполнении/представлении следовать внутреннему предсказуемому плану движений, лишь сверяясь с видео-стимулом. В свою очередь, периодический режим выполнения подразделялся на четыре варианта, различающихся по скорости и частоте выполняемых движений. Это было сделано для того, чтобы избежать некорректных выводов из-за влияния неудачно (для конкретных испытуемых) подобранного темпа движения. Дополнительно, периодические режимы в своей совокупности соответствовали аperiodическому, содержащему разные скорости и паузы, что позволило оценить влияние скорости и пауз в движении на уровень мозговой активации.

Предъявляемые видеостимулы в углу каждого кадра содержали сигнальную метку, кодирующую положение пальца уровнем серого по шкале от черного к белому. На место сигнальной метки на дисплее помещали подключаемый к энцефалографу аналоговый фотодатчик, регистрирующий световой поток, что при анализе позволяло достоверно установить фазу движения, наблюдаемую испытуемым в тот или иной момент времени (рис. 1, снизу).

Анализ ЭЭГ. Анализ ЭЭГ включал в себя четыре этапа: определение индивидуальных частотно-пространственных проекций мю-ритма (т.е. пространственный и частотный фильтры, отделяющие его от посторонних сигналов), вычисление мощности мю-ритма для всех неотбракованных эпох, статистическое сравнение значений десинхронизации в изучаемых состояниях, анализ связи временного хода десинхронизации с фазами и скоростями отдельных движений в условиях с видеостимулом (ДИ, ПИ).

Первым шагом анализа ЭЭГ в настоящей работе было выделение индивидуальных пространственно-частотных компонент реактивных сенсомоторных ритмов. Это подразумевало алгоритмический поиск оптимальных пространственных проекций (пространственных фильтров) и частотных фильтров, обеспечивающих наибольшую чувствительность к десинхронизации за счет отклонения иррелевантных для анализа частей сигнала. Для вычисления оптимальных пространственных фильтров в работе был использован метод обобщенного разложения ковариационных матриц на основе собственных векторов (*generalized eigendecomposition, GED*), позволяющий находить оптимальные линейные комбинации каналов ЭЭГ, максимизирующие/минимизирующие отношение дисперсий между фрагментами многоканальных данных (Cohen, 2022). В настоящем исследовании проекции (собственные векторы), максимизирующие отношения дисперсии альфа-диапазона сигнала в задаче ЗС к дисперсии сигнала того же диапазона в моторных задачах, соответствовали статистическим (не анатомическим) источникам реактивных компонентов сенсомоторного ритма. При должной подготовке репрезентативных ковариационных матриц обоих состояний данный подход дает статистически надежные и нейрофизиологически интерпретируемые пространственные координаты изучаемых реакций (Haufe et al., 2014; Nikulin et al., 2011;

Parra et al., 2005), а также используется для классификации состояний по ЭЭГ в интерфейсах “мозг–компьютер” (Blankertz et al., 2007). Для повышения чувствительности пространственных фильтров к сенсомоторному ритму вычисление ковариационных матриц проводилось после фильтрации в альфа-диапазоне: сначала в относительно широком (7–14 Гц), а затем в итеративно уточненном индивидуальном диапазоне частот, – такая процедура часто применяется при подготовке признаков для статистической классификации (Nikulin et al., 2008).

На следующем этапе анализа вычисленные оптимальные пространственные фильтры применялись к исходным ЭЭГ-данным, после чего проводилось вычисление мощности мю-ритма в индивидуальном частотном диапазоне. Для этого над сигналами интересующих пространственных компонент проводилось вейвлет-преобразование с суперсемплированием, предложенное в работе (Mosa et al., 2021) и обеспечивающее повышенную временную и частотную разрешающую способность по сравнению со стандартной вейвлет-сверткой. Далее анализировался временной ход мощности мю-ритма при выполнении отдельных фаз движений, оценивались плотности распределения вероятностей мощности мю-ритма в изучаемых условиях, а также вычислялся интегральный числовой индекс десинхронизации ERDd, разработанный нами ранее (Vasilyev et al., 2017) и представляющий собой интегральную величину различий синхронизации мю-ритма в двух состояниях. Статистический анализ интегральных величин (ERDd) проводился с использованием ANOVA для повторных измерений. Для выявления связи отдельных возмущений мю-ритма с фазами движения и их количественными показателями проводилось регрессионное моделирование с последующим статистическим тестированием (*F*-тест) коэффициентов модели (см. ниже).

Ниже представлен подробный алгоритм анализа.

Определение индивидуальных частотно-пространственных компонентов.

1) Выполнялась обработка фильтром с конечной импульсной характеристикой, не дающим фазового сдвига (*zero-phase FIR*) широкого альфа-диапазона 7–14 Гц (расчет оптимального порядка и коэффициентов фильтра определялся по процедуре Паркса-

Макклеллана (функцией `firpm` из пакета `Signal Processing Toolbox` для `MATLAB`) со следующими целевыми показателями: ширина переходных полос – 0.8 Гц, амплитуда пульсаций в полосе пропускания – 0.002 дБ и амплитуда пульсаций в полосе подавления – 0.02 дБ).

2) Вычислялись две ковариационные матрицы: средняя для всех попыток с моторными условиями (Д, ДИ, П, ПИ) – C_{active} и средняя для условия “зрительный счет” – C_{passive} ; для вычисления брался интервал от 2 с после начала попытки до окончания попытки.

3) Рассчитывались обобщенные собственные векторы для ковариационных матриц, так что

$$\Lambda = \operatorname{argmax}_W \left\{ \frac{W^T C_{\text{active}} W}{W^T C_{\text{passive}} W} \right\}, \quad (1)$$

что эквивалентно спектральному разложению матрицы $C_{\text{passive}}^{-1} C_{\text{active}}$:

$$C_{\text{passive}}^{-1} C_{\text{active}} W = W \Lambda, \quad (2)$$

где W – матрица собственных векторов (в столбцах); Λ – диагональная матрица, содержащая собственные значения, соответствующие векторам в W , с последующей сортировкой столбцов по возрастанию значений Λ .

4) Матрица W является набором пространственных фильтров, переводящих исходное пространство каналов ЭЭГ в набор компонентов с максимальными/минимальными отношениями дисперсий сигналов в двух условиях, а матрица $A \approx (W^{-1})^T \approx W^T C_{\text{active}}$ является аппроксимацией прямой модели источников и используется для идентификации топографической локализации источника (Haufe et al., 2014).

5) Из всех источников отбирались два, обладающие наименьшим соотношением $\frac{C_{\text{active}}}{C_{\text{passive}}}$, имеющие не более двух выраженных локальных максимумов и латерализованную локализацию, захватывающую ряды электродов FC, C, CP, P – у одного источника в левом, а у второго – в правом полушарии. Первое условие гарантировало уменьшение дисперсии сигнала в моторном условии (т.е. десинхронизацию), а второе – принадлежность к физиологически правдоподобной локализации сенсомоторных ритмов. У большинства испытуемых эти источники имели индексы 1 и 2 (т.е. являлись источни-

ками с минимальным отношением дисперсий).

6) Соответствующие отобранному источнику фильтры применялись к нефильтрованному данным, после чего проводилось частотно-временное преобразование отдельных эпох изучаемых состояний.

7) Усредненные по эпохам частотно-временные карты в двигательных условиях нормализовались на средние значения вейвлет-коэффициентов референтного состояния (ЗС) и использовались для уточнения индивидуальных диапазонов мю-ритма. Индивидуальный частотный диапазон определялся таким образом, чтобы в него было включено значение частоты, для которой наблюдался максимум десинхронизации, а также все смежные частоты, для которых десинхронизация составляла не менее чем 20% от максимума.

8) После уточнения индивидуальных частотных диапазонов повторялись шаги 1–7, при этом в шаге 1 фильтрация проходила уже в индивидуальном частотном диапазоне.

9) Далее для обоих источников определялся диапазон шириной 2 Гц, с наибольшим разделением плотностей вероятностей значений средней мощности для моторных состояний и зрительного счета.

Вычисление мощности мю-ритма

10) Проводилось вейвлет-преобразование эпох для выделенных ипсилатерального и контралатерального источников. Для этого применялся набор комплексных вейвлетов Морле с переменным числом циклов для разных частот, после свертки которых с сигналом вычислялось геометрическое среднее по схеме, предложенной в (Mosa et al., 2021).

11) Значения вейвлет-коэффициентов усреднялись для частотных диапазонов, выделенных на шаге 9 в соответствующих источниках, нормализовались на свое медианное значение для условия ЗС для всех эпох и переводились в децибелы (дБ) логарифмированием по основанию 10 и умножением полученного значения на 10.

Статистическое сравнение значений десинхронизации

12) В качестве значений десинхронизации использовался разработанный нами ранее индикатор ERDd (Vasilyev et al., 2017). Значение этой статистики представляет интеграл

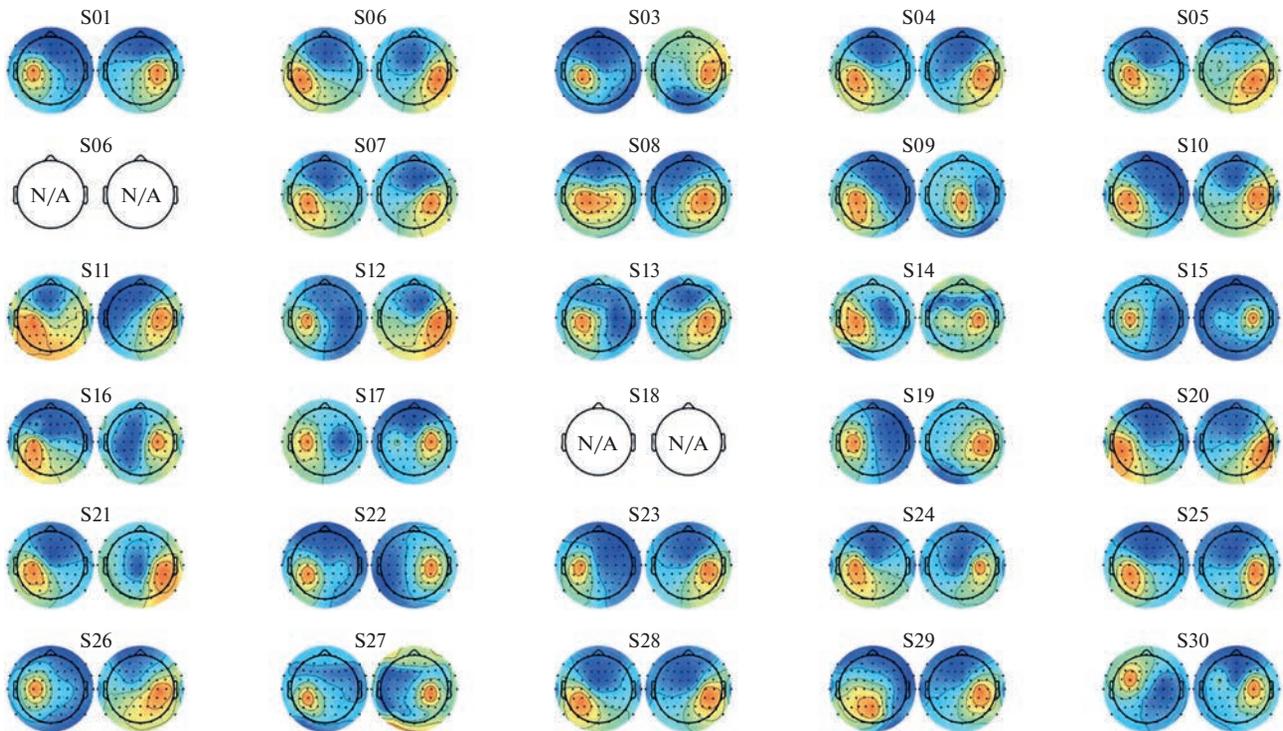


Рис. 2. Топографическое представление пространственных источников, отобранных для анализа десинхронизации мю-ритма. Для каждого испытуемого модели представлены в парах: контралатеральный – слева, ипсилатеральный – справа.

Fig. 2. Topographical representation of spatial sources selected for mu-rhythm desynchronization analysis. For each subject, the models are presented in pairs: contralateral – on the left, ipsilateral – on the right.

разности между функциями вероятностей значений мощности в каждом из изучаемых моторных состояний и объединенном условии ЗС. Мотивация для использования такой статистики будет пояснена далее (см. Результаты исследований).

13) Значения ERDd во время П и всех режимов ПИ анализировались с использованием ANOVA для повторных измерений.

Анализ связи временного хода десинхронизации с фазами движения на видеостимуле

14) Для анализа связи десинхронизации с происходящими на видео событиями (сменой отдельных фаз движений) применялась деконволюционная модель. Согласно этой модели, каждое отдельное событие на видео провоцирует локальное во времени возмущение мощности мю-ритма ($P(\mu)$) постоянной формы (аналогично конечной импульсной характеристике) и модулируется по амплитуде некоторым свойством события. Реакции отдельных близко расположенных событий суммируются. В качестве

событий были выбраны “начало направленного движения” и “начало возвратного движения”, величина ответа на событие “начало направленного движения” предполагалась в зависимости от его длительности. Для обоих событий моделировался ответ в интервале от -750 до 2000 мс относительно начала события. Связь между длительностью движения и реакцией моделировалась нелинейно методом обобщенной аддитивной модели (generalized additive model, GAM) с помощью пяти коэффициентов, соответствующих каждой из пяти ортогональных сплайн-функций (spl5) (Ehinger, Dimigen, 2019). Таким образом, модель мощности мю-ритма $P(\mu)$ представлялась системой из двух уравнений:

$$P(\mu) \sim 1 + spl(MovDuration, 5), \quad (3.1)$$

$$P(\mu) \sim 1, \quad (3.2)$$

где уравнение 3.1 соответствовало событиям “начало направленного движения”, а уравнение 3.2 – событиям “начало возвратного движения”; 1 – обозначает свободный ко-

эффицент (intercept), $\text{spl}()$ — группа из пяти коэффициентов, описывающая нелинейную взаимосвязь мощности и длительности движения.

15) Описанная в п. 14 модель обучалась для каждого испытуемого отдельно на данных в условии ДИ и ПИ с помощью пакета UNFOLD 1.2 (Ehinger, Dimigen, 2019). Получаемые в ходе регрессионного моделирования бета-коэффициенты анализировались на отличие от нуля и отличие среди уровней фактора $\text{MovDuration} = [0.6; 1.0; 1.4; 1.8]$. Неравенство нулю (F -тест) коэффициентов свидетельствовало о достоверности связанной с событиями реакции, а неравенство коэффициентов для разных уровней фактора указывало на зависимость между реакцией и длительностью движения на видео.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На рис. 2 представлены прямые (генеративные) модели пространственных фильтров, захватывающие наиболее значимые источники десинхронизации сенсомоторного ритма в контралатеральном и ипсилатеральном полушариях. Для вычисления этих пространственных проекций для каждого испытуемого использовались все объединенные данные всех попыток моторных состояний (Д, ДИ, П, ПИ) и всех попыток зрительного счета. Объединение состояний позволяет избежать переобучения фильтров из-за избыточной оптимизации к одному из условий. Как можно видеть, у всех испытуемых обнаружены источники с дипольной структурой и центром масс в районе центральных отведений рядов С-СР. Исключение составили испытуемые S06 и S18, у которых ни источников, ни самой реакции десинхронизации не наблюдалось. Отсутствие достаточной для детекции на ЭЭГ амплитуды мю-ритма, по всей видимости, связано с индивидуальными особенностями испытуемого, а не с повышенным моторным возбуждением, поскольку отсутствие выраженных сенсомоторных осцилляций фиксировалось уже в начале эксперимента при закрытых глазах.

Выделение реактивных частотных диапазонов проводилось по описанному выше алгоритму (см. Методы) и также преследовало уменьшение размерности анализируемых данных. Реактивные частотные интервалы для всех испытуемых были унифицированы по ширине, составлявшей 3.5 Гц (7 бинов по 0.5 Гц). Средний по группе испытуемых ча-

стотный диапазон для контралатеральных источников определялся границами от 10 до 13 Гц.

Следующим этапом анализа была оценка мощности мю-ритма во время выполнения испытуемыми экспериментальных заданий. Для этого к данным применялся пространственный фильтр, выполнялось спектральное вейвлет-разложение (см. Методы) и усреднялись значения избранных частотных бинов. Для статистического анализа рассматривались значения мощности мю-ритма из интервала от 2 с от начала попыток до их окончания. Поскольку в эксперименте отдельные попытки имели существенную продолжительность и включали многократные повторы отдельных движений (представлений, подсчетов), при анализе они рассматривались как периоды стационарных изменений ритмической активности — т.е. без разбиения в пределах попытки.

В интересах получения наиболее полной картины динамики ритмической активности были изучены эмпирические распределения значений мощности мю-ритма в каждом из изучаемых условий и сопутствующих им контролей (смежных с ними попыток ЗС). На рис. 3 представлены примеры, демонстрирующие характерные формы распределений мощности мю-ритма, а на рис. 4 изображены оценки плотности распределения вероятностей мощности мю-ритма для десяти первых испытуемых для состояний ДИ и ПИ в контралатеральных источниках.

Визуальный анализ распределений показывает, что у одних испытуемых функция вероятности при зрительном счете (на рисунках — темные тона) сохраняет свою форму и позицию (рис. 3 (а)), тогда как у других форма распределения меняется (рис. 3 (б, в)) за счет изменения баланса между низкими и высокими значениями мощности, что говорит о частичном возврате в двигательно-расслабленное (синхронизованный мю-ритм) состояние. Так, у одних испытуемых (рис. 3 (в)) между попытками выполнения серий мышечных движений наблюдалась большая синхронизация, чем между попытками представления движений, тогда как у других (рис. 3 (б)) ситуация была обратной.

Второй особенностью являются расхождения в симметричности и модальности распределений. В ряде случаев значения мощности группируются вокруг своего среднего, образуя

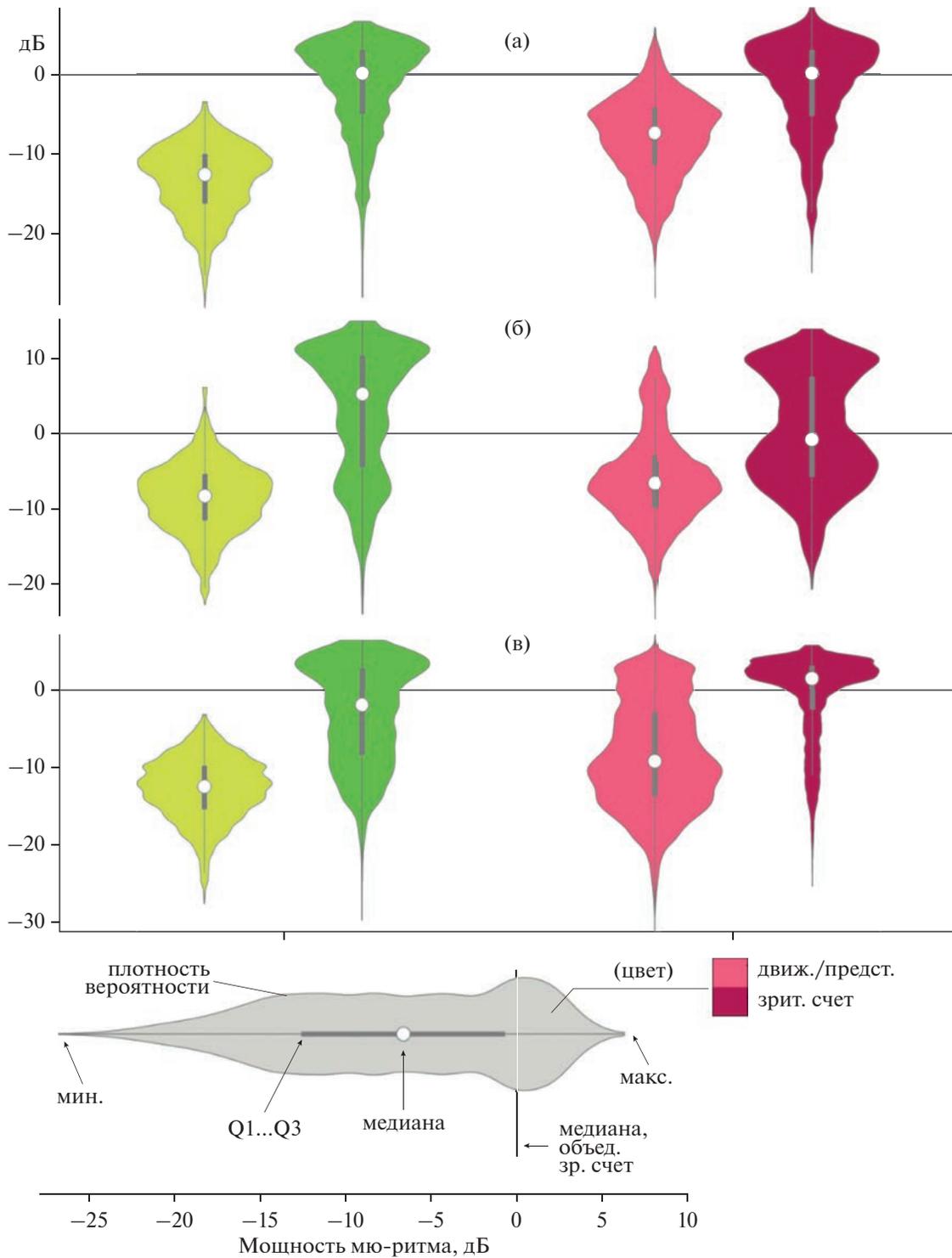


Рис. 3. Примеры функций плотности вероятности для мощности мю-ритма в моторном состоянии (светлые оттенки) и выполняемых в смежных попытках задания на зрительный счет (темные оттенки).
Fig. 3. Examples of kernel density estimates for mu-rhythm power in the motor states (light shades) and those performed in adjacent attempts of the visual count task (dark shades).

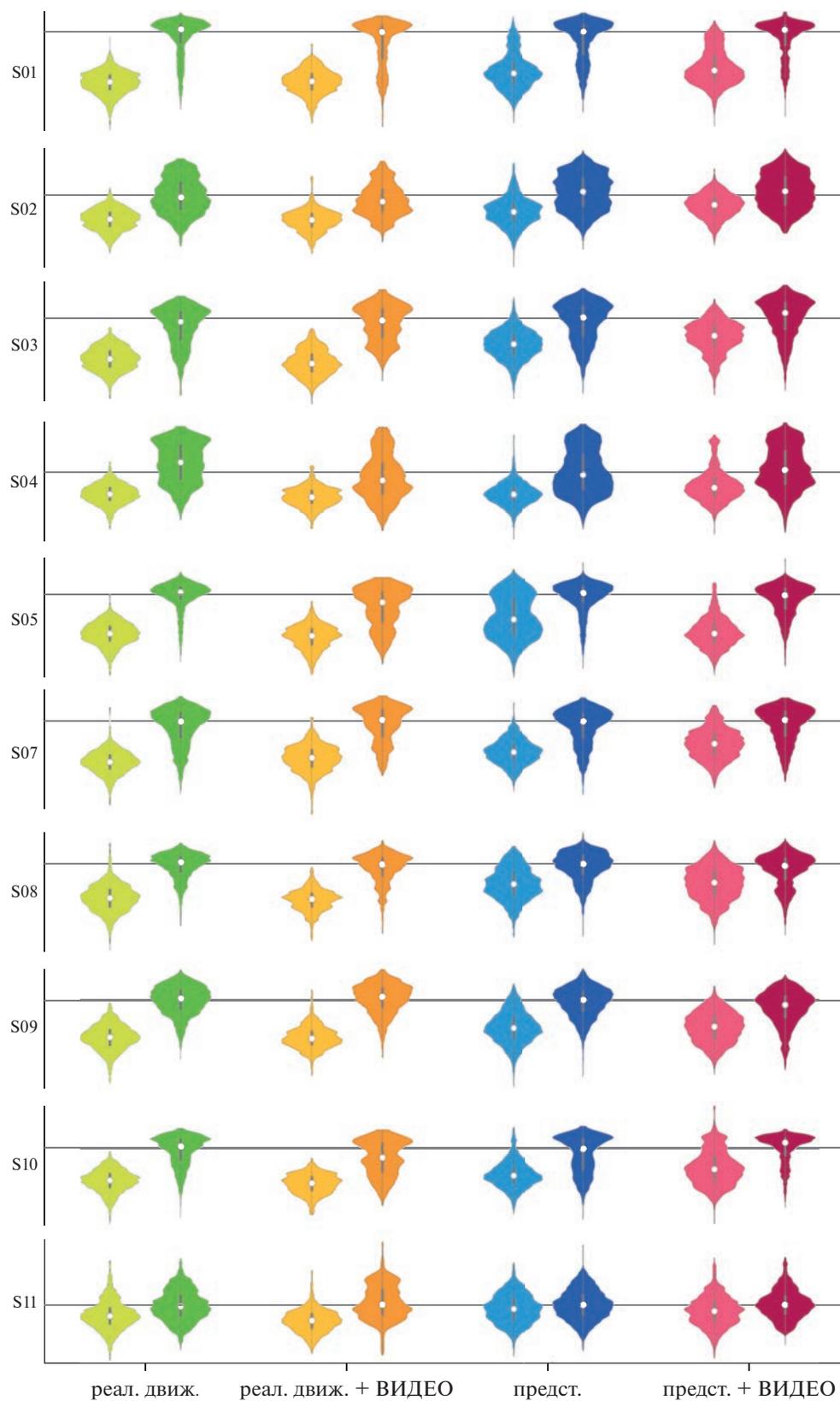


Рис. 4. Оценки функций плотности вероятности для мощности мю-ритма в контралатеральных источниках для всех условий и первых десяти испытуемых. Масштаб осей сохранен для всех условий каждого испытуемого.
Fig. 4. Kernel density estimates for mu-rhythm power in contralateral sources for all conditions and the first ten subjects. The scale of the axes is preserved for all conditions of each subject.

высокосимметричные мономодальные распределения, для которых меры центральной тенденции (среднее, медиана) достаточны для описания распределений мощности мю-ритма и оправданы для статистического анализа. Однако в большинстве случаев распределения приобретают мультимодальные или асимметричные формы, анализ которых при использовании традиционных статистик некорректен как со статистической, так и с нейрофизиологической точки зрения.

Можно видеть, что статистическая природа изменения средних значений величины десинхронизации отличается для испытуемых и состояний. Например, для испытуемого S10 мощность мю-ритма при выполнении движений в среднем меньше, чем для представления движений (рис. 3 (в): салатная и розовая диаграммы), тем не менее различия связаны с увеличением фракции высоких значений, но не снижением типичной величины (моды у обоих распределений равны). Таким образом, можно говорить, что десинхронизация при представлении была не менее сильная, но менее стабильная, что указывает на наличие прерываний, а выраженное бимодальное распределение может быть связано с переключением между двумя состояниями — условных “покоя” и “работы” системы. У других испытуемых природа различий обусловлена именно снижением силы десинхронизации (рис. 3 (а): салатная и розовая диаграммы), но не переключением между фиксированными десинхронизованным и синхронизованным состояниями. На основе этой характеристики в грубом приближении можно выделить два типа модуляции средней величины десинхронизации: амплитудную и импульсную модуляцию. Примером амплитудной модуляции могут служить испытуемые S03, S07, S08, у которых средняя мощность мю-ритма изменяется плавно в широком диапазоне значений, образуя мономодальные распределения одной формы со смещением центрального момента, а испытуемые S01, S05, S10 демонстрируют временную модуляцию за счет изменения баланса фракций больших и малых значений мощностей из бимодального распределения (рис. 4).

Попыткой корректного учета свойств распределений является разработанный нами индикатор десинхронизации ERDd (Vasilyev et al., 2017), вычисляемый как единица минус интеграл разности между распределениями

мощности мю-ритма при референтном (ЗС) и моторном состояниях (Д, ДИ, П, ПИ). В отличие от классической разности средних, ERDd учитывает динамический диапазон значений мощности, форму их распределений и дополнительно отвязывает величину десинхронизации от единиц измерения сигнала (мкВ, дБ). Значение ERDd нормализовано на интервал $[-100, 100]$: его модуль может пониматься как “доля значений, не входящих в распределение значений в контрольном состоянии”, а знак — расположение этих уникальных значений слева (десинхронизация) или справа (синхронизация) от контрольного распределения.

Для оценки значимых различий среди всех моторных состояний использовался ANOVA с повторными измерениями, который не показал достоверных различий показателя десинхронизации ERDd (табл. 1, рис. 5) для различных режимов представления (П, ПИ [апер, пер1–4]) как для контралатеральных источников ($F_{5,90} = 1.6751, p = 0.14868$, с поправкой на несферичность по методу “нижняя граница” $p = 0.21193$), так и для ипсилатеральных ($F_{5,90} = 1.5829, p = 0.17295$, с поправкой на несферичность $p = 0.22443$). Таким образом, на групповом уровне не удалось выявить статистически достоверного преимущества какого-либо режима представления движений. Однако для отдельных испытуемых, сила десинхронизации у которых была мала (относительно таковой при выполнении движения — Д, ДИ), выявлялось преимущество в пользу одного или нескольких режимов с мысленной имитацией периодических движений. У ряда испытуемых (S05, S14, S19, S29 — см. табл. 1) наблюдались различия с превышением более, чем в полтора раза. Даже на групповом уровне значения ERDd для режимов с быстрым ритмическим представлением без остановок (пер1 и пер4) значительно выделялись на фоне остальных режимов с видеостимулами (ПИ) и произвольного представления (П). Учитывая большой межиндивидуальный разброс показателя ERDd, наиболее показательным окажется сравнение нормированных на максимальный ERDd при движении. Для режимов ПИ с пер1 и пер4 он составил 78–79% от максимума, тогда как для остальных режимов был в пределах 70–72%.

Заключительный этап анализа был направлен на временную динамику мю-ритма во время повторения движений с видеороли-

Таблица 1. Оценки величины десинхронизации мю-ритма в контралатеральном движению источнике по показателю ERDd (меньше – сильнее десинхронизация) для всех испытуемых ($n = 28$) и всех типов задач на представление (Д – движение, П – кинестетическое представление движения, ПИ – представление движения с видео в режимах: “АПЕР” – аperiodический, ПЕР# – периодический, см. рис. 1). Для движения (Д) представлено минимальное значение среди всех режимов, рассматриваемое как наибольшая зарегистрированная сила десинхронизации. Средние значения ERDd и они же, нормализованные к значениям для Д, представлены для групп испытуемых со всеми режимами ($n = 19$) и только без ПИ, пер* ($n = 28$). Подчеркнуты номера испытуемых, для которых в режимах ПИ ERDd превышает П более чем в полтора раза

Table 1. Estimated desynchronization of the mu-rhythm in the contralateral movement of the source in terms of ERDd (less – stronger desynchronization) for all subjects ($n = 28$), and all types of tasks (Д – movement, П – kinesthetic imagery of movement, ПИ – imagery with video in the modes: “АПЕР” – aperiodic, ПЕР# – periodic, see fig. 1). For movement (Д), the minimum value among all modes is presented, considered as the largest recorded desynchronization score. The mean values of ERDd, and the same values normalized to the values for Д, are presented for groups of subjects with all regimens ($n = 19$) and only without ПИ, пер* ($n = 28$). Underlined are the numbers of subjects for whom in the ПИ modes ERDd exceeds П by more than one and a half times

ИСПЫТ. №	П	ПИ АПЕР	ПИ ПЕР1	ПИ ПЕР2	ПИ ПЕР3	ПИ ПЕР4	Д, ВСЕ (МИН.)
1	-61.7	-56.4	–	–	–	–	-79.8
2	-42.1	-32.9	–	–	–	–	-64.6
3	-53.5	-41.0	–	–	–	–	-75.0
7	-63.0	-48.5	–	–	–	–	-76.8
8	-46.3	-42.1	–	–	–	–	-78.5
9	-58.6	-57.0	–	–	–	–	-79.2
10	-56.2	-39.5	–	–	–	–	-75.3
11	-10.8	-16.5	–	–	–	–	-47.4
12	-32.6	-38.9	–	–	–	–	-74.7
4	-52.0	-35.3	-45.4	-25.9	-48.0	-35.0	-62.2
<u>5</u>	-39.6	-70.2	-62.4	-69.1	-65.0	-68.6	-81.1
13	-40.4	-35.0	-21.0	-47.2	-12.9	-36.5	-39.4
<u>14</u>	-7.7	-21.0	-36.8	21.8	-20.1	-12.2	-43.9
15	-66.3	-56.7	-62.3	-65.5	-64.4	-66.8	-79.8
16	-23.9	-29.0	-31.7	-21.7	-17.2	-29.9	-50.7
17	-21.2	-23.8	-18.8	-9.2	-11.7	-27.1	-35.7
<u>19</u>	-15.1	-25.7	-28.5	-28.4	-19.4	-25.8	-34.0
20	-56.0	-53.1	-60.0	-57.2	-61.7	-60.3	-64.5
21	-64.8	-56.0	-63.6	-51.7	-54.9	-67.1	-76.5
22	-49.2	-24.3	-27.4	-30.9	-23.1	-39.3	-60.5
23	-43.5	-42.7	-45.2	-48.1	-43.3	-44.8	-47.3
24	-76.7	-80.6	-85.0	-84.7	-81.5	-82.2	-86.1
25	-74.1	-71.7	-76.5	-77.0	-77.2	-80.6	-87.9
26	-65.1	-56.5	-68.1	-69.6	-65.9	-69.4	-75.0
27	-29.5	-27.3	-39.2	-28.8	-37.8	-35.2	-43.6
28	-61.5	-57.0	-69.0	-67.9	-60.7	-66.1	-72.5
<u>29</u>	-18.7	-14.9	-34.4	-33.8	-38.7	-33.9	-45.2
30	-56.5	-46.2	-53.0	-57.2	-46.9	-55.9	-75.8
ср. ($n = 19$)	-45.36	-43.53	-48.84	-44.85	-44.76	-49.31	-61.15
ср. норм. ($n = 19$)	0.72	0.70	0.78	0.70	0.70	0.79	1
ср. ($n = 28$)	-45.95	-42.86	–	–	–	–	-64.76
ср. норм. ($n = 28$)	0.69	0.65	–	–	–	–	1

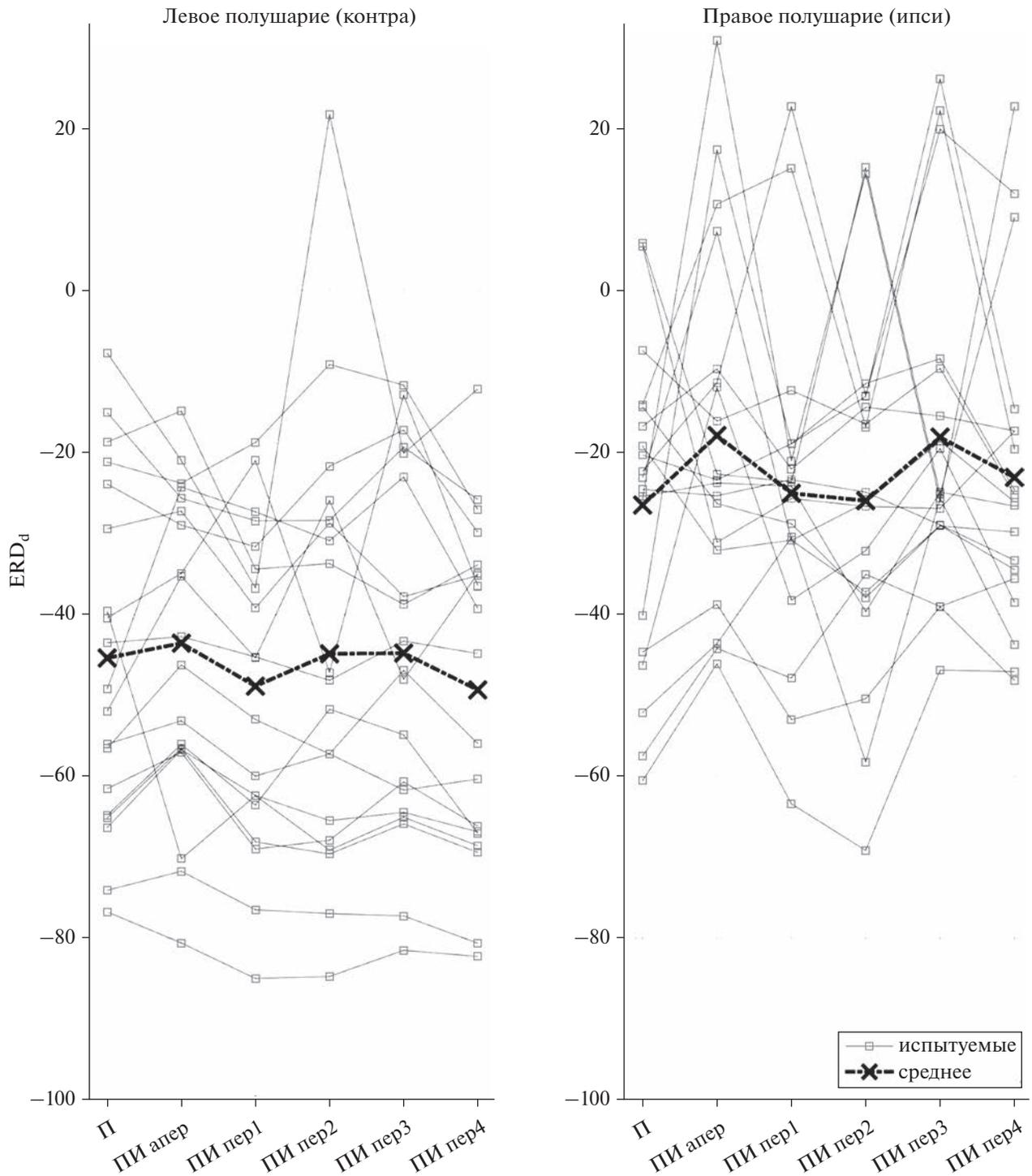


Рис. 5. Оценки величин десинхронизации мю-ритма по показателю ERDd (меньше – сильнее десинхронизация) ($n = 19$), во всех задачах на представление движений (П – кинестетическое представление движений, ПИ – представление движений с видео в режимах: “апер” – аperiodический, “пер#” – периодический, см. рис. 2) и двух источников десинхронизации (левое полушарие – слева, правое – справа).

Fig. 5. Estimates of mu-rhythm desynchronization in terms of ERDd (less – stronger desynchronization) for subjects with all modes ($n = 19$), for all tasks for the imagined movements (П – kinesthetic imagery, ПИ – imagery with video in the modes: “апер” – aperiodic, “пер#” – periodic, see fig. 2) and two sources of desynchronization (left hemisphere – on the left, right – on the right).

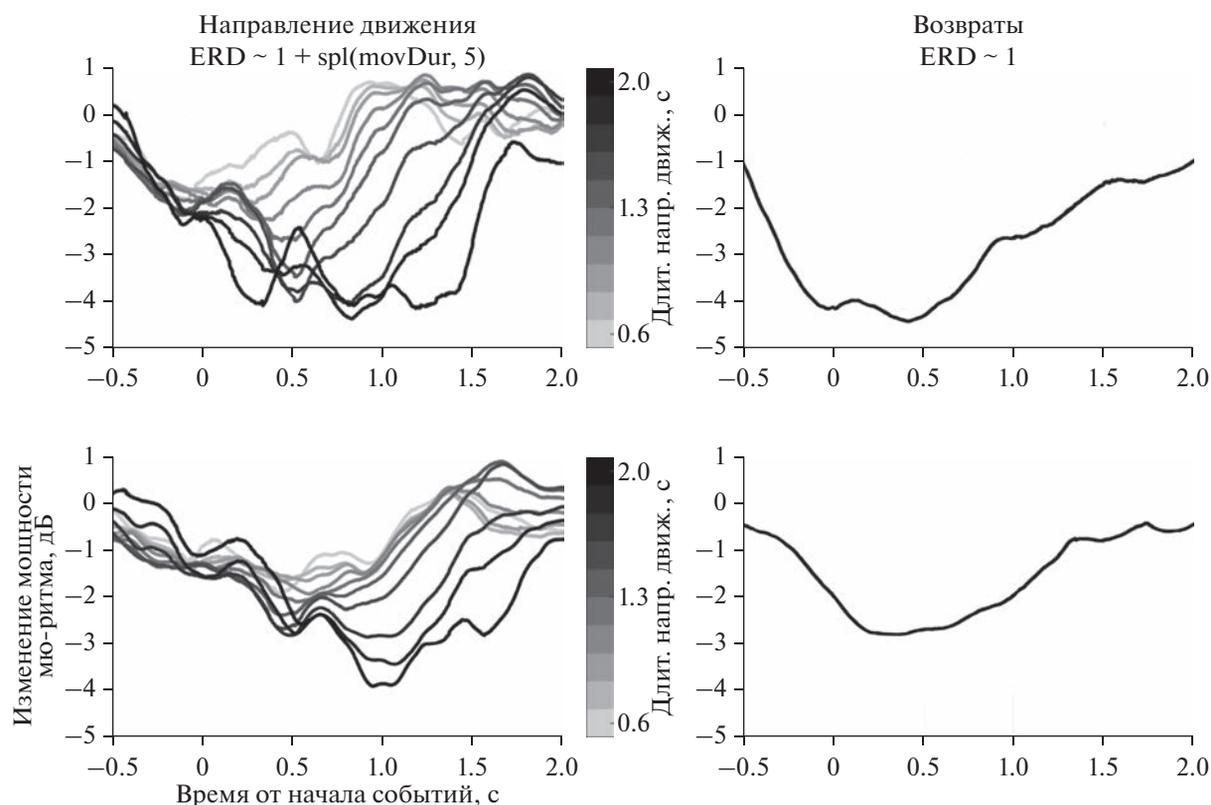


Рис. 6. Бета-коэффициенты для значений мощности мю-ритма контралатеральных источников в интервалах $[-0.5; 2]$ с: (слева) относительно событий “начало направленного движения” фактора “длительность движения”; (справа) относительно событий “начало возвратного движения”. Сверху — для реального движения, снизу — для представляемого.

Fig. 6. Beta-coefficients for mu-rhythm power values of contralateral sources in the intervals $[-0.5; 2]$ s: (left) relative to the events “the beginning of directed movement” of the “duration of movement” factor; (right) regarding the events of “start of the return movement”. Top row — for real movement, bottom row — for motor imagery.

ка. Целью данного анализа было выяснить, является ли десинхронизация мю-ритма суммой ответов на одиночные движения (или их представление), или она развивается независимо при переходе в “режим” движения/представления. Для исследования этого вопроса временной ход десинхронизации в аperiодическом режиме был смоделирован как ответ на события “начало направленного движения” и “возвратное движение”, причем величина ответа на начало направленного движения нелинейно масштабировалась в зависимости от длительности движения.

Результатом анализа являлись бета-коэффициенты модели, представленные для контралатеральных источников на рис. 6. Можно видеть, что как реальные движения, так и представления характеризуются отчетливым временным профилем десинхронизации, причем для движения ответ больше по амплитуде и происходит более резко, т.е. дости-

гает максимума быстрее. Также для движений большей длительности ответ десинхронизации имеет большую амплитуду и длительность. Для проверки достоверности коэффициентов модели были протестированы контрасты для коэффициента, связанного с направленными движениями и возвратными движениями, а также влияние фактора “длительность движения” на коэффициенты перед функциями сплайнов $\text{spl}(\text{movDur}, 5)$. Статистическое сравнение (F-тест) коэффициентов с нулем показало, что эффект от отдельных движений значим для реальных и представляемых движений для контралатеральных и ипсилатеральных источников ($p < 0.0049$), а длительность движения оказывает значимый эффект на амплитуду вызываемого ответа ($p < 0.0014$).

Таким образом, установлено, что отдельные движения, выполняемые в серии друг за другом, вызывают отдельные импульсы десинхронизации, при этом более медленные

(продолжительные) движения вызывают более сильную десинхронизацию.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изменение уровня синхронизации сенсомоторной коры

Анализ различий в формах плотностей распределения вероятностей мощности мюритма показывает несколько ключевых закономерностей, потенциально влияющих на получаемый результат. Во-первых, форма распределений для мощности в референтном состоянии может существенно меняться при смене моторной задачи. Так, у одних испытуемых выполнение движений приводит к увеличению фракции низких значений в смежных попытках зрительного счета, что можно было бы объяснить повышением общего уровня сенсомоторного возбуждения и недостаточным временем между попытками, тогда как у других испытуемых, напротив, уже представление движений приводит к такому эффекту. Таким образом, у одних испытуемых увеличение базового уровня сенсомоторного возбуждения происходит больше при выполнении попыток намеренных движений, а у других — больше при представлении движений. В литературе указывается на вероятность связи эффектов уменьшения и увеличения десинхронизации с неудачным выбором референтного периода (Pfurtscheller, Da Silva, 1999). Тем не менее стандартным рекомендуемым методом вычисления индекса десинхронизации остается вычитание значений в периоде, предворяющем изучаемые события, которым в большинстве случаев является задача “фиксационный крест”. Наши данные показывают, что даже в случае состояний со слабой поведенческой вариабельностью (ЗС) у ряда испытуемых повышается вероятность спонтанной десинхронизации в состоянии моторного покоя. Это вызывает вопрос: насколько важно устанавливать “истинное” распределение значений мощности для моторного покоя и при каком состоянии это необходимо делать? С практической точки зрения, необходимость регистрации изолированного от остального эксперимента условия несет существенные временные издержки и не является необходимым примерно для половины испытуемых. В то же время очевидно, что излишняя возбудимость, фиксируемая в референтном состоянии, “наследуется” от смежного условия с той или иной

моторной задачей и может ухудшать выделение пространственных компонент и искажать абсолютные значения метрик десинхронизации, что является важным при сравнении между испытуемыми. В данном исследовании данный вопрос был решен в пользу объединения референтных состояний во всех условиях, что заведомо занизило показатели у некоторых испытуемых (например, S04).

Аналогичный вопрос встает для распределений в изучаемых (сравниваемых) состояниях, для которых мы наблюдали статистически разные механизмы модуляции средних значений изучаемыми состояниями: амплитудный и импульсный. При амплитудной (см. S03, S07, S08 на рис. 4) модуляции происходит плавное смещение моды распределения, а при импульсной — изменяется отношение фракций значений с фиксированными модами (S01, S05, S10). С точки зрения нейронных механизмов, амплитудная модуляция десинхронизации означает изменение количества (Elul, 1972) синхронно работающих нейронов, тогда как широтно-импульсная модуляция соответствует уменьшению времени синхронной/асинхронной работы. В нашем исследовании амплитудная модуляция чаще наблюдалась при сравнении представления и движения, что может объясняться активацией большего количества нейронов при выполнении движения. Увеличение фракции высоких значений означает кратковременные переходы в синхронизированное состояние, что у нас было выражено для условия представления с видео в аперидическом режиме (ПИ апер). Это может быть связано с наличием в видео пауз, когда испытуемый ждет движения от руки на видео, тогда как при самостоятельном представлении пауз нет за счет постоянной генерации плана следующего движения. В контексте исследования паузы в видео были необходимы для корректного решения задачи связи событий и реакций десинхронизации, но в дальнейших исследованиях паузы можно убрать, сделав движения более частыми, — это может положительно сказаться на величине десинхронизации при имитации движений.

Влияние видеостимулов на силу десинхронизации

Как было предположено выше исходя из формы распределений, вероятным объяснением некоторого уменьшения десинхронизации

ции в условиях с видео было наличие пауз и более редкие движения, что наиболее характерно для режима “ПИ апер” и, вероятно, вызвало заметное снижение десинхронизации (ERDd: с -45.95 до -42.86). Однако это не объясняет отсутствие увеличения десинхронизации по механизму амплитудной модуляции, ожидаемого из теоретических соображений. Так, в исследовании с наиболее близкими к рассматриваемым нами задачами (Eaves et al., 2016a) исследователи наблюдали увеличение десинхронизации в условии “наблюдение + представление” по сравнению с “представлением”. Стоит подчеркнуть, что важным отличием приводимого исследования является то обстоятельство, что перспектива наблюдения за движением была от третьего лица. В эксперименте Eaves и коллег испытуемые наблюдали за движениями актера, обращенного на них лицом, а сами движения были сложными (вытирание лица, работа малярной кистью). Таким образом, их исследование было направлено на изучение имитации сложного двигательного поведения, в то время как в нашем исследовании было простое поведение с наблюдением от первого лица — конфигурация, рассчитанная на развитие иллюзии собственных движений. Другой важной особенностью было то, что в их исследовании движение было строго ритмичное, что более соответствовало режиму “ПИ пер1” из нашего исследования, для которого у нас также наблюдалась наибольшая десинхронизация. Наконец, в работе Eaves перед попытками самостоятельного представления давалась графическая инструкция в виде кадра из видео с ритмическим движением — это могло существенно склонять испытуемых к зрительному представлению, занижая тем самым десинхронизацию при условии “только представление”. Описанная работа приводит убедительные доказательства большей десинхронизации мю-ритма при объединении наблюдения и представления, однако различия в методике предъявления видео и типе движения не дают провести закономерные сравнения с нашим исследованием. Стоит также отметить, что в более новой работе с ТМС от той же группы и аналогичным дизайном исследователи приходят к обратному выводу — синергичного эффекта от наблюдения нет, а все эффекты на кортикоспинальную возбудимость связаны с представлением (Meers et al., 2020).

Другим заслуживающим внимания исследованием, рапортующим об увеличении десинхронизации при объединении наблюдения и представления является работа (Kondo et al., 2015). В их эксперименте видеостимул подавался в той же перспективе, что и в нашем, а движение было сопоставимо по сложности — сжатие кисти. Исследователями было показано, что тренировка в группе испытуемых с инструктирующим видеостимулом в многодневном эксперименте обучения работе с интерфейсом “мозг—компьютер” вызывала увеличение спонтанной десинхронизации с номером сессии, тогда как в группе испытуемых, тренирующихся со статическим стимулом, не было направленной динамики. Это наблюдение согласуется с полученными нами данными: для ряда испытуемых с низкой силой десинхронизации режимы с имитацией ритмического движения вызывали наибольший эффект.

Связь динамики мю-ритма с фазами наблюдаемого движения

В нашем исследовании показано, что представление вслед за видео вызывает ограниченный во времени и зависимый от свойств наблюдаемого движения ответ в виде снижения мощности мю-ритма (десинхронизацию). На данный момент существует целый ряд работ, изучавших изменения кортикоспинальной возбудимости с помощью транскраниальной магнитной стимуляции, применяющейся в разные фазы наблюдаемого циклического предсказуемого движения. В своем большинстве эти работы изучают либо только наблюдение, либо добавляют условия “наблюдение + представление”, и показывают достоверную модуляцию возбудимости моторных зон мышц-агонистов с минимальной временной задержкой (Borroni et al., 2005; Cengiz et al., 2018). Это указывает на способность сенсомоторной системы мозга в реальном времени обрабатывать и симулировать наблюдаемое движение. К аналогичным выводам пришли в (Yokoyma et al., 2021), где исследователи смогли декодировать фазы представляемой ходьбы, наблюдаемой от третьего лица, хотя используемые ими признаки находились в затылочной коре, что свидетельствует в пользу преимущественно зрительного представления движений. В нашей работе уровень связи с отдельными событиями не позволяет детек-

тировать одиночные движения, однако повышение ритмичности и предсказуемости движения в нашем дизайне может увеличить надежность связи амплитудных характеристик ответов, тем самым стать достаточным для считывания их средних на сравнительно коротких периодах времени (менее минуты). Это может быть использовано для оптимизации параметров движений в индивидуальных системах идеомоторных тренировок с ЭЭГ-контролем для вызова наибольшей сенсомоторной активации.

ВЫВОДЫ

- Выполнение и представление движений оказывает тоническое воздействие на амплитуду сенсомоторных ритмов, смещая уровень синхронизации при моторном покое. Наличие и направление воздействия индивидуальны.
- Количественные изменения величины десинхронизации происходят по двум механизмам: за счет переключения между двумя уровнями синхронизации и изменения количества асинхронно работающих нейронов.
- Мысленное повторение наблюдаемого от первого лица движения приводит к десинхронизации сенсомоторного мю-ритма, эффект сильнее для ритмических быстрых движений без пауз.
- Во временном ходе десинхронизации мю-ритма возникают пертурбации, зависящие от фазы и скорости наблюдаемого движения как при его синхронном мышечном повторении, так и при мысленной синхронной имитации (представлении).
- Более продолжительные и медленные движения вызывают значимо более сильную десинхронизацию при попытке их мышечно-го или мысленного повторения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-60011.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Васильев А.Н., Либуркина С.П., Каплан А.Я. Латерализация паттернов ЭЭГ у человека при представлении движений руками в интерфейсе мозг-компьютер. Журн. высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. 2016. 66 (3): 302–312.

- Мокиенко О., Черникова Л., Фролов А., Бобров П.* Воображение движения и его практическое применение. Журн. высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. 2013. 63 (2): 195–195.
- Altschuler E.L., Wisdom S.B., Stone L., Foster C., Galasko D., Llewellyn D.M.E., Ramachandran V.S.* Rehabilitation of hemiparesis after stroke with a mirror. The Lancet. 1999. 353 (9169): 2035–2036.
- Blankertz B., Tomioka R., Lemm S., Kawanabe M., Muller K.-R.* Optimizing spatial filters for robust EEG single-trial analysis. IEEE Signal processing magazine. 2007. 25 (1): 41–56.
- Borroni P., Montagna M., Cerri G., Baldissera F.* Cyclic time course of motor excitability modulation during the observation of a cyclic hand movement. Brain research. 2005. 1065 (1–2): 115–124.
- Braun S., Kleynen M., van Heel T., Kruithof N., Wade D., Beurskens A.* The effects of mental practice in neurological rehabilitation; a systematic review and meta-analysis. Frontiers in human neuroscience. 2013. 7: 390.
- Buccino G.* Action observation treatment: a novel tool in neurorehabilitation. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2014. 369 (1644): 20130185.
- Cengiz B., Vuralli D., Zinnuroğlu M., Bayer G., Golmohammadzadeh H., Günendi Z., Turgut A.E., İrfanoğlu B., Arikani K.B.* Analysis of mirror neuron system activation during action observation alone and action observation with motor imagery tasks. Experimental brain research. 2018. 236 (2): 497–503.
- Cohen M.X.* A tutorial on generalized eigendecomposition for denoising, contrast enhancement, and dimension reduction in multichannel electrophysiology. Neuroimage. 2022. 247: 118809.
- De Vries S., Mulder T.* Motor imagery and stroke rehabilitation: a critical discussion. Journal of rehabilitation medicine. 2007. 39 (1): 5–13.
- Eaves D.L., Behmer Jr L., Vogt S.* EEG and behavioural correlates of different forms of motor imagery during action observation in rhythmical actions. Brain and cognition. 2016a. 106: 90–103.
- Eaves D.L., Riach M., Holmes P.S., Wright D.J.* Motor imagery during action observation: a brief review of evidence, theory and future research opportunities. Frontiers in neuroscience. 2016b. 10: 514.
- Ehinger B.V., Dimigen O.* Unfold: an integrated toolbox for overlap correction, non-linear modeling, and regression-based EEG analysis. PeerJ. 2019. 7: e7838.
- Elul R.* The genesis of the EEG. International review of neurobiology. 1972. 15: 227–272.
- Emerson J.R., Binks J.A., Scott M.W., Kenny R.P., Eaves D.L.* Combined action observation and motor imagery therapy: a novel method for post-stroke motor rehabilitation. AIMS neuroscience. 2018. 5 (4): 236.

- Ertelt D., Small S., Solodkin A., Dettmers C., McNamara A., Binkofski F., Buccino G.* Action observation has a positive impact on rehabilitation of motor deficits after stroke. *Neuroimage*. 2007. 36: T164–T173.
- Fadiga L., Fogassi L., Pavesi G., Rizzolatti G.* Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. *J. neurophysiology*. 1995. 73 (6): 2608–2611.
- Féry Y.-A.* Differentiating visual and kinesthetic imagery in mental practice. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale*. 2003. 57 (1): 1.
- Friesen C.L., Bardouille T., Neyedli H.F., Boe S.G.* Combined action observation and motor imagery neurofeedback for modulation of brain activity. *Frontiers in human neuroscience*. 2017. 10: 692.
- Gerardin E., Sirigu A., Lehericy S., Poline J.-B., Gaymard B., Marsault C., Agid Y., Le Bihan D.* Partially overlapping neural networks for real and imagined hand movements. *Cerebral cortex*. 2000. 10 (11): 1093–1104.
- Grafton S.T., Arbib M.A., Fadiga L., Rizzolatti G.* Localization of grasp representations in humans by positron emission tomography. *Experimental brain research*. 1996. 112 (1): 103–111.
- Guillot A., Collet C., Nguyen V.A., Malouin F., Richards C., Doyon J.* Brain activity during visual versus kinesthetic imagery: an fMRI study. *Human brain mapping*. 2009. 30 (7): 2157–2172.
- Hardwick R.M., Caspers S., Eickhoff S.B., Swinnen S.P.* Neural correlates of action: Comparing meta-analyses of imagery, observation, and execution. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018. 94: 31–44.
- Haufe S., Meinecke F., Görgen K., Dähne S., Haynes J.-D., Blankertz B., Bießmann F.* On the interpretation of weight vectors of linear models in multivariate neuroimaging. *Neuroimage*. 2014. 87: 96–110.
- Hendricks H.T., Van Limbeek J., Geurts A.C., Zwarts M.J.* Motor recovery after stroke: a systematic review of the literature. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2002. 83 (11): 1629–1637.
- Hodges N.J.* Observations on action-observation research: an autobiographical retrospective across the past two decades. *Kinesiology Review*. 2017. 6 (3): 240–260.
- Kondo T., Saeki M., Hayashi Y., Nakayashiki K., Takata Y.* Effect of instructive visual stimuli on neurofeedback training for motor imagery-based brain–computer interface. *Human movement science*. 2015. 43: 239–249.
- Langhorne P., Coupar F., Pollock A.* Motor recovery after stroke: a systematic review. *The Lancet Neurology*. 2009. 8 (8): 741–754.
- Machado S., Lattari E., Souza de Sa A., BF Rocha N., Yuan T.-F., Paes F., Wegner M., Budde H., E Nardi A., Arias-Carrión O.* Is mental practice an effective adjunct therapeutic strategy for upper limb motor restoration after stroke? A systematic review and meta-analysis. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*. 2015. 14 (5): 567–575.
- Meers R., Nuttall H.E., Vogt S.* Motor imagery alone drives corticospinal excitability during concurrent action observation and motor imagery. *Cortex*. 2020. 126: 322–333.
- Moca V.V., Bârzan H., Nagy-Dăbâcan A., Mureșan R.C.* Time-frequency super-resolution with superlets. *Nature communications*. 2021. 12 (1): 1–18.
- Nagai H., Tanaka T.* Action observation of own hand movement enhances event-related desynchronization. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*. 2019. 27 (7): 1407–1415.
- Nedelko V., Hassa T., Hamzei F., Schoenfeld M.A., Dettmers C.* Action imagery combined with action observation activates more corticomotor regions than action observation alone. *J. Neurologic Physical Therapy*. 2012. 36 (4): 182–188.
- Neuper C., Scherer R., Wriessneger S., Pfurtscheller G.* Motor imagery and action observation: modulation of sensorimotor brain rhythms during mental control of a brain–computer interface. *Clinical neurophysiology*. 2009. 120 (2): 239–247.
- Nikulin V.V., Hohlefeld F.U., Jacobs A.M., Curio G.* Quasimovements: A novel motor–cognitive phenomenon. *Neuropsychologia*. 2008. 46 (2): 727–742.
- Nikulin V.V., Nolte G., Curio G.* A novel method for reliable and fast extraction of neuronal EEG/MEG oscillations on the basis of spatio-spectral decomposition. *NeuroImage*. 2011. 55 (4): 1528–1535.
- Parra L.C., Spence C.D., Gerson A.D., Sajda P.* Recipes for the linear analysis of EEG. *Neuroimage*. 2005. 28 (2): 326–341.
- Pfurtscheller G., Da Silva F.L.* Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clinical neurophysiology*. 1999. 110 (11): 1842–1857.
- Sarasso E., Gemma M., Agosta F., Filippi M., Gatti R.* Action observation training to improve motor function recovery: a systematic review. *Archives of physiotherapy*. 2015. 5 (1): 1–12.
- Stinear C.M., Byblow W.D., Steyvers M., Levin O., Swinnen S.P.* Kinesthetic, but not visual, motor imagery modulates corticomotor excitability. *Experimental brain research*. 2006. 168 (1–2): 157–164.
- Tsakiris M., Haggard P.* The rubber hand illusion revisited: visuotactile integration and self-attribution. *Journal of experimental psychology: Human perception and performance*. 2005. 31 (1): 80.
- Vasilyev A., Liburkina S., Yakovlev L., Perepelkina O., Kaplan A.* Assessing motor imagery in brain–computer interface training: psychological and neuro-

- physiological correlates. *Neuropsychologia*. 2017. 97: 56–65.
- Villiger M., Estévez N., Hepp-Reymond M.-C., Kiper D., Kollias S.S., Eng K., Hotz-Boendermaker S. Enhanced activation of motor execution networks using action observation combined with imagination of lower limb movements. *PloS one*. 2013. 8 (8): e72403.
- Vogt S., Di Rienzo F., Collet C., Collins A., Guillot A. Multiple roles of motor imagery during action observation. *Frontiers in human neuroscience*. 2013. 7: 807.
- Yokoyama H., Kaneko N., Watanabe K., Nakazawa K. Neural decoding of gait phases during motor imagery and improvement of the decoding accuracy by concurrent action observation. *Journal of Neural Engineering*. 2021. 18 (4): 046099.

DYNAMICS OF THE EEG SENSORIMOTOR RHYTHM DURING MENTAL REPETITION OF THE OBSERVED MOVEMENT

A. N. Vasilyev^{a, b, #}, A. E. Makovskaya^a, and A. Ya. Kaplan^{a, c}

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b*MEG Center, Moscow University of Psychology and Education, Moscow, Russia*

^c*Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia*

[#]*e-mail: a.vasilyev@anymail.com*

Mental simulation of one's own movement, or imagery of movement, as well as observation of other people's movements are used in neurorehabilitation as methods of stimulation of sensorimotor parts of the brain. The present work tests a new way of representation - mental simulation of movement, synchronous with the movement observed from the first person on a video screen. The objectives of the study were to compare the reactivity of sensorimotor EEG rhythms during voluntary movement representation and representation following a video stimulus, and to identify the relationship between the phases of movement in the video and the dynamics of EEG patterns. The study involved 30 healthy volunteers in whom a 69-channel encephalogram was recorded during their performance and presentation of right thumb movements in two modes: arbitrarily (without an external reference) and synchronously imitating movement on a video clip. During EEG analysis, individual spatial-frequency components with the highest EEG mu-rhythm reactivity (8–14 Hz) were identified in the subjects, followed by quantitative assessment of desynchronization under the studied conditions based on analysis of probability density distributions of mu-rhythm power. A generalized additive model describing the function of responses to single events in the observed movements and their summation during serial execution or presentation of the movements was applied to assess the relationship between the dynamics of mu-rhythm desynchronization and video events. It was shown that the mental kinesthetic simulation of the observed movement did not result in increased desynchronization of sensorimotor rhythms compared to the voluntary representation of the same movement. It was found for the first time that there are perturbations in the temporal course of desynchronization of the mu-rhythm that depend on the phase and speed of the observed movement both during its synchronous muscle repetition and during mental synchronous imitation. The results obtained can be used to optimize movement parameters in individual systems of ideomotor training with EEG control to achieve the greatest sensorimotor activation.

Keywords: motor imager, movement observation, movement imitation, mu-rhythm, desynchronization

**ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА**

УДК 612.821

**АНАЛИЗ МОЗГОВОЙ И МЫШЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ
ПРИ УПРАВЛЕНИИ КОРТИКО-СПИНАЛЬНЫМ НЕЙРОИНТЕРФЕЙСОМ**

© 2023 г. Е. В. Боброва^{1, *}, В. В. Решетникова¹, А. А. Гришин¹, Е. А. Вершинина¹,
М. Р. Исаев^{2, 3}, Д. Р. Пляченко⁴, П. Д. Бобров^{2, 3}, Ю. П. Герасименко¹

¹ФГБУН Институт физиологии РАН им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

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

³Институт трансляционной медицины ГБОУ ВПО

Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: eabobrovy@gmail.com

Поступила в редакцию 01.04.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

Разработан кортико-спинальный нейроинтерфейс, основанный на кинестетическом воображении тыльного сгибания стопы, дополненный робототехническим устройством перемещения конечностей “Биокин” и чрескожной электростимуляцией спинного мозга (ЧЭССМ). Показано, что доля правильных ответов при классификации ЭЭГ-сигналов мозга (ДПО) в условиях работы с нейроинтерфейсом в среднем составляет 68% и значительно увеличивается при добавлении механотерапии и ЧЭССМ на 9%. ЭМГ-активность передней большеберцовой мышцы (ПБМ), осуществляющей тыльное сгибание стопы, во время инструкции вообразить движение увеличена по сравнению с таковой во время инструкции находиться в покое. Добавление механотерапии и ЧЭССМ при работе с нейроинтерфейсом в большей степени влияет не на увеличение активности ПБМ при воображении движения ипсилатеральной стопы, но на уменьшение активности ПБМ при инструкции находиться в покое. Выявленные эффекты, по-видимому, важны для формирования адекватных координационных паттернов управляющих сигналов от ЦНС и мышечной активности при реализации движений и могут использоваться в клинической реабилитации двигательной активности с использованием кортико-спинального нейроинтерфейса.

Ключевые слова: кортико-спинальный нейроинтерфейс, мозг-компьютерные интерфейсы, воображение движений стопы, мышечная активность

DOI: 10.31857/S0044467723040032, EDN: VYRNUG

ВВЕДЕНИЕ

Кинестетическое воображение движений — это ментальное представление ощущений, которые возникают при соответствующих реальных движениях. Хотя воображение движений является известным методом восстановления двигательных функций конечностей, а его влияние на нейропластичность в областях мозга, обеспечивающих регуляцию движений, хорошо известно (Page, 2012; Vurjanová, 2020), общее влияние воображения движений на периферическую двигательную систему еще не полностью изучено. Электромиографические (ЭМГ) исследования мышечной активности во время воображения движений

показали разные результаты (Ranganathan et al., 2004; Personnier et al., 2008; Hashimoto, Rothwell, 1999; Gandevia et al., 1997). В некоторых исследованиях сообщается о сублиминальной (т.е. не вызывающей сокращения мышцы) ЭМГ активности во время воображения движений (Hashimoto, Rothwell, 1999; Gandevia et al., 1997, Dickstein et al., 2005, Guillot et al., 2007). В некоторых исследованиях не выявлена активация мышц во время выполнения задач, связанных с воображением движений, например, приседания на корточках (Mulder et al., 2005) или поднятия по лестнице (Geiger et al., 2019).

Регистрация и машинная классификация специфических изменений активности мозга во время воображения различных движений является одной из основных парадигм для создания неинвазивных нейроинтерфейсов (Бобров, Фролов, 2017; Hramov et al., 2021; Saha et al., 2021). Предложено множество классификаторов активности мозга, а также метрик для численной оценки их работы, таких как доля правильных ответов (ДПО), площадь под ROC-кривой, точность (precision), полнота (recall) и др. (Hramov et al., 2021). Эффективность подобных систем для восстановления двигательных функций верхних конечностей подтверждается многочисленными клиническими исследованиями (см. обзоры (Bai et al., 2020; Kruse et al., 2020)).

Восстановление функций нижних конечностей с помощью воображения движений – сравнительно недавно появившееся и развивающееся направление исследований (см. обзор (Боброва и др., 2019; Camargo-Vargas, Callejas-Cuervo, Mazzoleni, 2021)). Большинство исследований направлено на восстановление функции ходьбы (King et al., 2013, 2014, 2015; Do et al., 2013; García-Cossio et al., 2015; Donati et al., 2016; Villiger et al., 2013), ряд работ – на восстановление движений в голеностопном суставе (Do et al., 2011, 2012; McCrimmon et al., 2014, 2015). Совместно с нейроинтерфейсами используются роботизированные устройства (Do et al., 2013; Xu et al., 2014; García-Cossio et al., 2015; Donati et al., 2016; Li et al., 2021; Pino et al., 2022; Cui et al., 2022; Gao et al., 2022), функциональная электрическая стимуляция (Do et al., 2011; Takahashi et al., 2012; King et al., 2014, 2015; McCrimmon et al., 2014, 2015; Mrachacz-Kersting et al., 2016; Bouton, 2020; Ren et al., 2020), виртуальная реальность (Donati et al., 2016; King et al., 2013; Luu et al., 2016; Ren et al., 2020), тактильная стимуляция опорной поверхности (Cheron et al., 2012). В последние годы стали появляться разработки систем педальирования, напоминающих велосипед, запускаемых при успешном воображении движений нижних конечностей, что детектируется нейроинтерфейсом, с использованием в качестве обратной связи виртуальной реальности (Perez et al., 2021; Cardoso et al., 2019).

Одной из недавно появившихся перспективных систем для нейрореабилитации нижних конечностей является кортико-спинальный интерфейс. Кортико-спинальный нейроинтерфейс использует активность го-

ловного мозга для управления стимуляцией спинного мозга с целью искусственного соединения нейронных сетей головного и спинного мозга для восстановления двигательной функции (Nishimura et al., 2013; Zimmermann, Jackson, 2014). Нейронную активность мозга, отражающую двигательные намерения, преобразуют в команды для стимуляции спинного мозга (Alam et al., 2016; Carogrosso et al., 2016; Yadav et al., 2020). Было показано, что контролируемая мозгом стимуляция спинного мозга более эффективна для восстановления движений, чем стимуляция без обратной связи (McPherson et al., 2015; Carogrosso et al., 2016; Bonizzato et al., 2018). Первая работа, посвященная неинвазивному кортико-спинальному нейроинтерфейсу, появилась в 2022 г. (Insausti-Delgado et al., 2022). В ней описывается тестирование кортико-спинального нейроинтерфейса, основанного на запуске магнитной стимуляции спинного мозга от ЭЭГ-сигналов, на 10 здоровых испытуемых.

Для создания кортико-спинального нейроинтерфейса может быть использована чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга (ЧЭССМ). ЧЭССМ – это неинвазивный метод, который может активировать нейронные сети спинного мозга, управляющие движением. Показано, что ЧЭССМ может инициировать произвольные шаговые движения у здорового человека (Городничев и др., 2012; Gerasimenko et al., 2015) и у пациентов с нарушениями движений (Harkema et al., 2011). ЧЭССМ может воздействовать не только на мышцы через структуры спинного мозга, но и на нейронную активность головного мозга. ЧЭССМ вызывает изменения активности головного мозга (Telkes et al., 2020; Ridder et al., 2013; Bentley et al., 2016; McGeady et al., 2021; Steele et al., 2022; Moens et al., 2012; Manson et al., 2022), при этом электрическая стимуляция мышц подобного эффекта не вызывает (Steele et al., 2022). У здоровых испытуемых при ЧЭССМ выявлено увеличение активности в сенсомоторных областях коры, таламусе, хвостатом ядре, бледном шаре и скорлупе, а уменьшение – в прилежащем ядре и задней теменной коре (Manson et al., 2022); изменения активности 4, 6 и 9-го полей Бродмана (Steele et al., 2022). Сочетание воображения движения со стимуляцией нервов верхних и нижних конечностей повышает возбудимость кортико-спинального тракта у здоровых

людей (Kaneko et al., 2014; Takahashi et al., 2019; Yasui et al., 2019). При изучении влияния ЧЭССМ шейного отдела спинного мозга на долю правильных ответов при управлении нейроинтерфейсом, основанным на классифицировании ЭЭГ при реальных движениях руки, значимых изменений не было выявлено (McGeedy et al., 2021).

Механотерапия широко применяется в двигательной реабилитации (Даминов, 2013; Бодрова, 2012). В сочетании с ЧЭССМ механотерапия становится более эффективной (Harkema et al., 2011, Grishin et al., 2019; Богачева и др., 2015).

Анализ работ, посвященных методам классификации ЭЭГ, показывает, что наиболее популярные и эффективные алгоритмы основаны на поиске оптимальных пространственных фильтров при помощи метода Common Spatial Patterns (CSP, Lotte et al., 2018; Hramov et al., 2021). В работе (Jayaram, Varachant, 2018) на нескольких наборах данных от разных исследовательских групп было показано, что метод CSP с линейным дискриминантным анализом обеспечивает сопоставимую и нередко более высокую точность классификации (оценивалась площадь под ROC-кривой), чем более продвинутые методы выделения признаков и классификации. Поэтому в данной работе для выделения признаков использовался именно метод CSP, как будет описано далее.

В данной статье представлен инновационный метод нейрореабилитации, основанный на кортико-спинальном нейроинтерфейсе, запускающем ЧЭССМ и механотерапию от сигналов мозга при воображении тыльного сгибания правой (ПС) или левой стопы (ЛС). Анализируется активность мозга, оцениваемая по ДПО сигналов ЭЭГ при воображении этих движений и при инструкции находиться в покое, а также активность мышц, обеспечивающих тыльное сгибание стоп, при управлении нейроинтерфейсом, основанным на кинестетическом воображении этих движений, в зависимости от дополнительных воздействий в виде механотерапии с помощью робототехнического устройства перемещения конечностей и/или ЧЭССМ.

МЕТОДИКА

Для проведения экспериментов использовался разработанный авторами статьи кортико-спинальный нейроинтерфейс (рис. 1) – ком-

плекс на базе нейроинтерфейса со зрительной обратной связью, дополненный механотренажером “Биокин” и электростимулятором “БиоСтим-5”, который обеспечивал чрескожную электростимуляцию спинного мозга (ЧЭССМ). Интерфейс программы нейроинтерфейса и принцип работы классификатора были аналогичны подробно описанным в статье (Боброва и др., 2023). При работе нейроинтерфейса на экране монитора в случайном порядке предъявлялись три инструкции испытуемому: воображать тыльное сгибание ПС – треугольник, направленный вправо (П), ЛС – треугольник влево (Л), находиться в покое – треугольник, направленный вверх (R).

Механотренажер обеспечивал пассивное перемещение конечности в случае успешного воображения движения, задаваемого инструкцией. Успешность оценивалась по ДПО, вычисляемой классификатором нейроинтерфейса. Чем выше ДПО при воображении движения стопы, тем больше угол сгибания в голеностопном суставе.

При ЧЭССМ стимулировали дорсальные корешки спинного мозга на уровне L1–L2 на расстоянии 1.5 см от срединной линии позвоночника во время инструкции воображать движение. При инструкции воображать движения ПС стимулировали корешки справа от средней линии, ЛС – слева; ЧЭССМ запускалась независимо от ДПО. Ритмическая стимуляция осуществлялась через кожные электроды заполненными (5 кГц) бифазными импульсами, длительностью 1 мс, с частотой 15 Гц.

ЭЭГ регистрировали с помощью беспроводного электроэнцефалографа SmartBCI (производства компании “Мицар”, Санкт-Петербург), обеспечивающего возможность записи ЭЭГ с 32 отведений с частотой дискретизации 250 Гц. Электроэнцефалограф (вес 50 г) закреплялся в непосредственной близости от места контакта электродов с поверхностью головы, отсутствие длинного шлейфа позволяло минимизировать влияние сетевых помех и артефактов движения на регистрируемую ЭЭГ.

ЭМГ-активность передних большеберцовых мышц (ПБМ, *tibialis anterior*), икроножных (ИМ), четырехглавых мышц бедра (ЧМБ) и двуглавых мышц бедра (ДМБ) правой и левой ног регистрировали с помощью беспроводного миографа DELSYS Trigno.

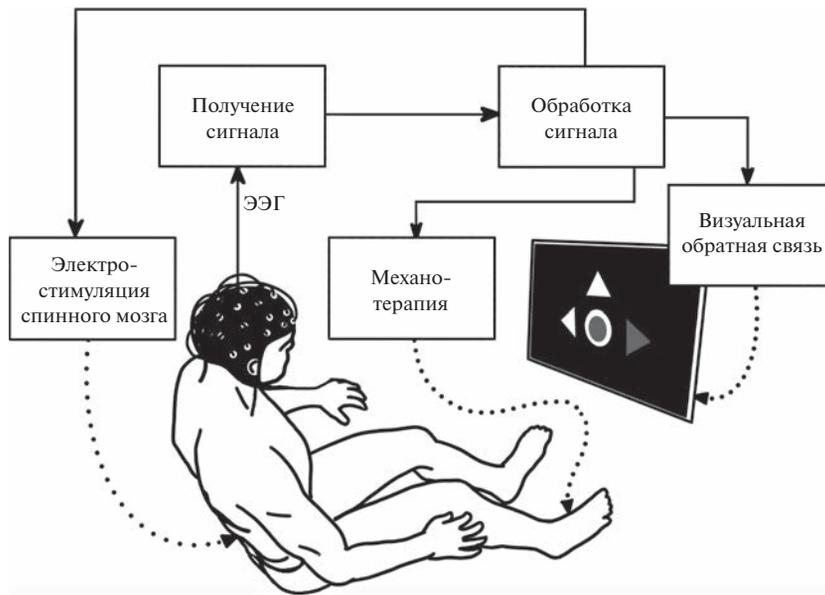


Рис. 1. Блок-схема кортико-спинального нейроинтерфейса. Пояснения в тексте.
Fig. 1. Block diagram of brain-spine neurointerface. Explanations in the text.

Классификация ЭЭГ

Электроэнцефалограмма фильтровалась в диапазоне 5–30 Гц при помощи фильтра Баттерворта 5-го порядка. Для поиска пространственных фильтров использовался метод CSP: отбирались те CSP-компоненты, для которых отношение большей и меньшей дисперсий для двух сравниваемых классов (покой и воображение движений ЛС либо покой и воображение движений ПС) превышало 0.7, при условии, что сумма этих дисперсий равна 1. Если таких компонент не было, то отбирались компоненты с максимальным отношением дисперсий. Минимальное число отобранных компонент равнялось 6. Логарифмы дисперсий отобранных компонент образовывали векторы признаков, которые классифицировались при помощи квадратичного дискриминантного анализа.

Процедура эксперимента

В эксперименте приняли участие 10 испытуемых (6 женщин и 4 мужчин в возрасте 21–35 лет), до этого не имевших опыта управления нейроинтерфейсом. Протокол исследования соответствовал требованиям Хельсинкской декларации и был одобрен Этической комиссией Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Исследования проводили с соблюдением основных биоэти-

ческих правил, все испытуемые дали письменное согласие на участие в экспериментах.

Каждый испытуемый принял участие в 1 сессии, включающей в себя 4 сеанса управления нейроинтерфейсом, основанным на воображении тыльного сгибания ПС или ЛС, с разными условиями: 1) управление нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий, 2) управление нейроинтерфейсом с добавлением механотерапии, т.е. с пассивным приведением в движение стоп с помощью робототехнического устройства перемещения конечностей (механотренажера “БиоКин”) в случае высокого значения ДПО, 3) управление нейроинтерфейсом с включением ЧЭССМ при инструкции испытуемому воображать движение, 4) управление нейроинтерфейсом с обоими видами дополнительных воздействий. Кроме того, в начале эксперимента проводили регистрацию ЭМГ-активности в трех условиях: 1) при пассивном перемещении стоп в механотренажере с максимальной, но комфортной амплитудой движения, 2) при активном повторении испытуемым этих же движений в том же темпе и 3) при воображении этих же движений той же амплитуды и в том же темпе.

Анализ данных

Анализировали интегральные характеристики ЭМГ-активности мышц нижних конеч-

Таблица 1. Показатели работы ИМК. TP — число правильных положительных ответов (воображение движения), TN — число правильных отрицательных ответов (покой), FP и FN — число ложных положительных и отрицательных ответов

Table 1. The BCI performance measures. TP stands for True Positives (motor imagery detection), TN stands for True Negatives (resting state detection), FP stands for False Positives, and FN stands for False Negatives

Доп. условие	Конечность	TP	TN	FP	FN	F-мера	Точность	Полнота	Доля правильных ответов (ДПО), %
Нет	Левая	289 ± 50	262 ± 41	144 ± 41	117 ± 50	0.69 ± 0.07	0.67 ± 0.06	0.71 ± 0.12	68 ± 6
	Правая	288 ± 52	261 ± 44	145 ± 44	118 ± 52	0.68 ± 0.07	0.67 ± 0.06	0.71 ± 0.13	68 ± 7
Механотерапия	Левая	303 ± 36	282 ± 31	124 ± 31	103 ± 36	0.73 ± 0.05	0.71 ± 0.05	0.75 ± 0.09	72 ± 4
	Правая	306 ± 36	280 ± 41	126 ± 41	100 ± 36	0.73 ± 0.04	0.71 ± 0.06	0.75 ± 0.09	72 ± 4
ЧЭССМ	Левая	320 ± 36	287 ± 34	119 ± 34	86 ± 36	0.76 ± 0.05	0.73 ± 0.05	0.79 ± 0.09	75 ± 5
	Правая	320 ± 40	278 ± 47	128 ± 47	86 ± 40	0.75 ± 0.07	0.72 ± 0.08	0.79 ± 0.10	74 ± 7
Механотерапия + ЧЭССМ	Левая	336 ± 30	300 ± 48	106 ± 48	70 ± 30	0.79 ± 0.05	0.77 ± 0.08	0.83 ± 0.07	78 ± 6
	Правая	330 ± 31	291 ± 48	115 ± 48	76 ± 31	0.78 ± 0.05	0.75 ± 0.08	0.81 ± 0.08	76 ± 6

ностей при реальных и воображаемых движениях стоп при разных условиях проведения эксперимента. Рассчитывалось среднее значение модуля сигнала ЭМГ в интервалы времени при инструкции участнику эксперимента вообразить движения ПС, ЛС и в покое (R).

Для оценки влияния условий эксперимента и инструкций испытуемому на ЭМГ-активность мышц и ДПО использовали дисперсионный анализ. Перед проведением дисперсионного анализа проводили разведывательный анализ Explore, который позволяет выявить выбросы и визуализировать распределения. Оценку отклонений распределения от нормального проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. В случае отклонения от нормальности, которое было выявлено для ЭМГ-активности, но не для ДПО, логарифмировали данные с целью симметризации распределения и приближения его к нормальному.

Затем при анализе ЭМГ-активности проводили двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA RM (Analysis of Variance, Repeated Measures) для зависимых переменных — факторы Условие (1/2/3/4) и Инструкция (Л/П/R). Затем, с целью уточнения результатов для выявления влияния условия (т.е. значимости стимуляционных воздействий) проводили однофакторный дисперсионный анализ ANOVA RM — фактор Условие (1/2/3/4) — по отдельности для правой и левой ПБМ для каждой из инструкций Л, П, и R.

Различия в зависимости от экспериментальных условий ДПО сигналов мозга при воображении движений ПС по сравнению с состоянием покоя и ЛС по сравнению с состоянием покоя оценивали методом двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA RM — факторы Условие (1/2/3/4) и Стопа (ПС/ЛС).

В случае выявления значимых эффектов анализировали множественные сравнения. Статистические решения принимались на 5%-м уровне.

Расчеты проводились с использованием программного комплекса SPSS Inc.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Показатели работы ИМК приводятся в табл. 1. Приводятся средние числа правильных положительных и отрицательных ответов, средние числа ложных положительных и отрицательных ответов, F-мера, точность, полнота и доля правильных ответов, а также стандартные отклонения для этих величин, ДПО.

Анализ значимости различий ДПО при разных условиях проведения экспериментов при воображении движений ПС и ЛС проводили методом двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA RM, факторы Условие (1/2/3/4) и Стопа (ПС/ЛС). Этот анализ выявил главные эффекты, свидетельствующие о значимости главного эффекта только для фактора Условие, $F(3.27) = 12$, $p < 0.001$, $\eta^2 =$

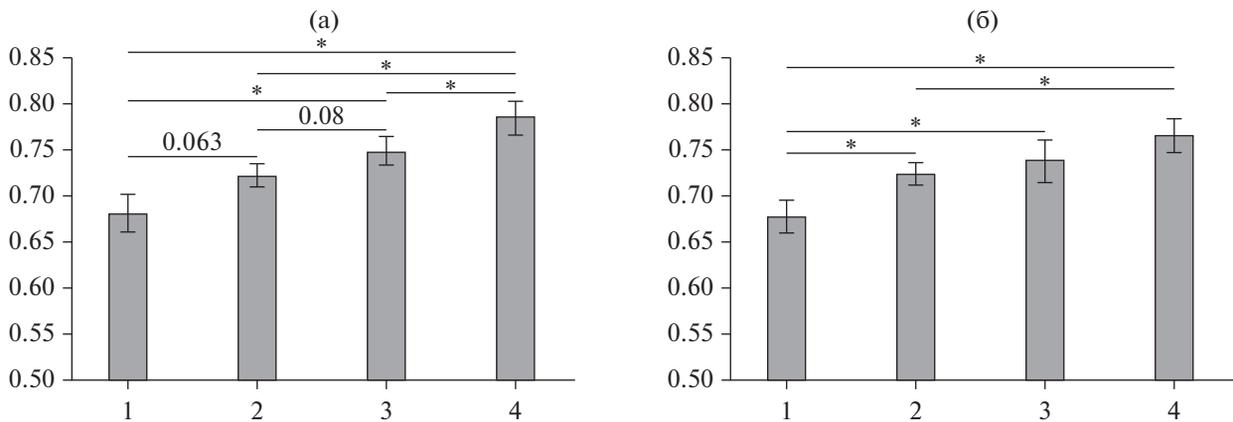


Рис. 2. Доля правильных ответов при классификации сигналов мозга при воображении движений левой (а) и правой (б) стопы по сравнению с покоем. Звездочки (*) между столбцами – значимые отличия точности классификации сигналов мозга при разных условиях эксперимента: 1 – при работе с нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий, 2 – при добавлении механотерапии, 3 – при добавлении ЧЭССМ, 4 – при добавлении обоих воздействий. * – $p < 0.05$, для тенденций значимости величины p представлены на графиках вместо *.

Fig. 2. The accuracy of classification of brain signals during the imagination of movements of the left (a) and the right (б) foot compared to the rest. Asterisks (*) between the columns indicate significant differences in the accuracy of classifying brain signals under different experimental conditions: 1 – when working with the neural interface without additional impact, 2 – with the addition of mechanotherapy, 3 – with the addition of TESCS, 4 – with the addition of both impacts. * – $p < 0.05$, in a case of trends in significance, p values are presented on the graphs instead of*.

= 0.571, но не для фактора Воображаемая стопа и не для взаимодействия факторов. Следовательно, отличий в ДПО при воображении движения ПС по сравнению с покоем и ЛС по сравнению с покоем не выявлено ни для одного из условий проведения эксперимента. Отличия же ДПО в зависимости от условия проведения эксперимента на основании анализа множественных сравнений таковы:

1. ДПО при всех условиях с дополнительными воздействиями выше, чем при работе с нейроинтерфейсом без них (рис. 2а, б). Все эти различия статистически значимы, за исключением тенденции ($p = 0.063$) при добавлении механотерапии (т.е. при сравнении усл. 1 и 2) в условиях воображения движений ЛС.

2. При воображении движений как ПС, так и ЛС ДПО выше при совместном воздействии механотерапии и ЧЭССМ (усл. 4), чем при добавлении только механотерапии (усл. 2), т.е. добавление ЧЭССМ к механотерапии значительно увеличивает ДПО (рис. 2 (а, б)).

3. Сравнение усл. 3 и 4 показывает, что добавление механотерапии к ЧЭССМ значительно увеличивает ДПО только при воображении движений ЛС (рис. 2 (а)), кроме того, при воображении движений ЛС есть тенденция ($p = 0.08$) большей ДПО при добавлении ЧЭССМ, чем механотерапии (рис. 2 (а)).

Несмотря на то, что, согласно инструкции, испытуемые должны были только воображать, но не осуществлять движения в ходе работы с нейроинтерфейсом, у большинства испытуемых была выявлена *мышечная активность*, наиболее выраженная в ПБМ – той мышце, которая в реальности осуществляет тыльное сгибание стопы, которое следовало воображать в эксперименте (табл. 2). В связи с этим далее будут описаны особенности ЭМГ-активности именно этой мышцы – ПБМ.

Активность ПБМ чаще, но не всегда синхронизирована с инструкцией воображать движения. У некоторых испытуемых она возникает при инструкции, но длится дольше и может захватывать еще один или несколько следующих отрезков времени, в которые предъявляются уже другие инструкции. У одного из испытуемых попытки воображать движение вызвали почти непрерывную активность ПБМ. В ряде случаев активность может возникать на мышце, контралатеральной стопе, движение которой воображается, а механотерапия и/или ЧЭССМ синхронизирует активность мышцы с инструкцией и увеличивает амплитуду ЭМГ.

Для количественной оценки этих наблюдений был проведен дисперсионный анализ ЭМГ-активности ПБМ во временные интер-

Таблица 2. ЭМГ-активность (в мкВ ± SD) мышц правой (П) и левой (Л) ног (ЧМБ – четырехглавая мышца бедра, ДМБ – двуглавая мышца бедра, ПБМ – передняя большеберцовая мышца, ИМ – икроножная мышца) при разных условиях эксперимента: 1 – при работе с нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий, 2 – при добавлении механотерапии, 3 – при добавлении ЧЭССМ, 4 – при добавлении обоих воздействий

Table 2. EMG activity (in $\mu\text{V} \pm \text{SD}$) of the muscles of the right (П) and left (Л) legs (ЧМБ – quadriceps femoris, ДМБ – biceps femoris, ПБМ – tibialis anterior, ИМ – gastrocnemius) under different experimental conditions: 1 – neural interface control without additional impact, 2 – with the addition of mechanotherapy, 3 – with the addition of TESCS, 4 – with the addition of both impacts

Условие	ЧМБ Л	ДМБ Л	ПБМ Л	ИМ Л	ЧМБ П	ДМБ П	ПБМ П	ИМ П
1	1.7 ± 0.4	1.7 ± 0.4	4.2 ± 3.1	1.7 ± 0.3	1.8 ± 0.5	2.1 ± 0.8	4.2 ± 2.3	1.7 ± 0.4
2	1.7 ± 0.4	1.6 ± 0.3	7.0 ± 6.6	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.3	6.6 ± 4.9	1.8 ± 0.3
3	2.0 ± 0.4	1.7 ± 0.2	3.8 ± 1.9	1.6 ± 0.2	2.1 ± 0.6	1.9 ± 0.5	4.0 ± 0.7	1.6 ± 0.3
4	2.0 ± 0.4	1.8 ± 0.4	6.5 ± 4.7	1.7 ± 0.3	2.2 ± 0.6	1.9 ± 0.4	6.1 ± 5.1	1.7 ± 0.3

Таблица 3. Главные эффекты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA RM, факторы Условие (1/2/3/4) и Инструкция(Л/П/Р)

Table 3. Main effects of two-way analysis of variance ANOVA RM Factors condition (1/2/3/4) and instruction (Л/П/Р)

Мышца	Факторы	Tests of Within-Subjects Effects (Гринхауз–Гейзер тест)
Левая ПБМ	Инструкция	$F(1.2, 10.8) = 14.6, p = 0.002, \eta^2 = 0.619$
Левая ПБМ	Условие * инструкция	$F(2.2, 19.6) = 7.1, p = 0.004, \eta^2 = 0.619$
Правая ПБМ	Инструкция	$F(1.1, 9.6) = 10.9, p = 0.008, \eta^2 = 0.547$
Правая ПБМ	Условие * инструкция	$F(2.5, 17.7) = 6.5, p = 0.008, \eta^2 = 0.420$

валы, когда предъявлялась инструкция вообразить сгибание ЛС (Л) или ПС (П), а также при инструкции находиться в покое (R). Двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA RM, факторы Условие (1/2/3/4) и Инструкция (Л/П/Р), выявил главные эффекты, представленные в табл. 3. Как можно видеть из табл. 3, получено значимое влияние фактора Инструкция (Л/П/Р), а также значимое взаимодействие факторов на ЭМГ-активность ПБМ, но не значимое влияние для фактора Условие, т.е. не выявляется значимых изменений в зависимости от наличия/отсутствия стимуляционных воздействий.

Результаты множественных сравнений представлены на рис. 3 и описаны ниже.

1) При инструкции вообразить *ипсилатеральные* движения (ПС для правой ПБМ и ЛС – для левой ПБМ) ЭМГ-активность ПБМ в среднем по всем испытуемым значимо больше, чем при инструкции находиться в покое для всех четырех условий проведения эксперимента, за исключением ЭМГ-активности правой ПБМ при работе с нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий (рис. 3 (б)). При управлении нейроинтерфей-

сом без дополнительных воздействий увеличение ЭМГ-активности по сравнению с ЭМГ-активностью при инструкции находиться в покое при воображении движений ЛС составляет в среднем по испытуемым 14.8%, при добавлении механотерапии для ПС и ЛС – соответственно 98.3% и 150.0%, при добавлении ЧЭССМ – 51.1% и 35.3%, при добавлении механотерапии и ЧЭССМ одновременно – 156.0% и 129.1%.

2) При инструкции вообразить *контралатеральные* движения стопы ЭМГ-активность как правой, так и левой ПБМ значимо не отличается от ЭМГ-активности при инструкции находиться в покое для всех условий проведения эксперимента.

3) Сравнение ЭМГ-активности ПБМ при воображении движений *ипси-и контралатеральной* стопы показало, что:

– ЭМГ *правой* ПБМ (рис. 3 (б)) при воображении движений ипсилатеральной ПС значимо больше, чем при воображении движений контралатеральной ЛС для всех условий, когда имеют место стимуляционные воздействия (на 78.3% при механотерапии, на 42.4% при ЧЭССМ и на 140.3% при одновре-

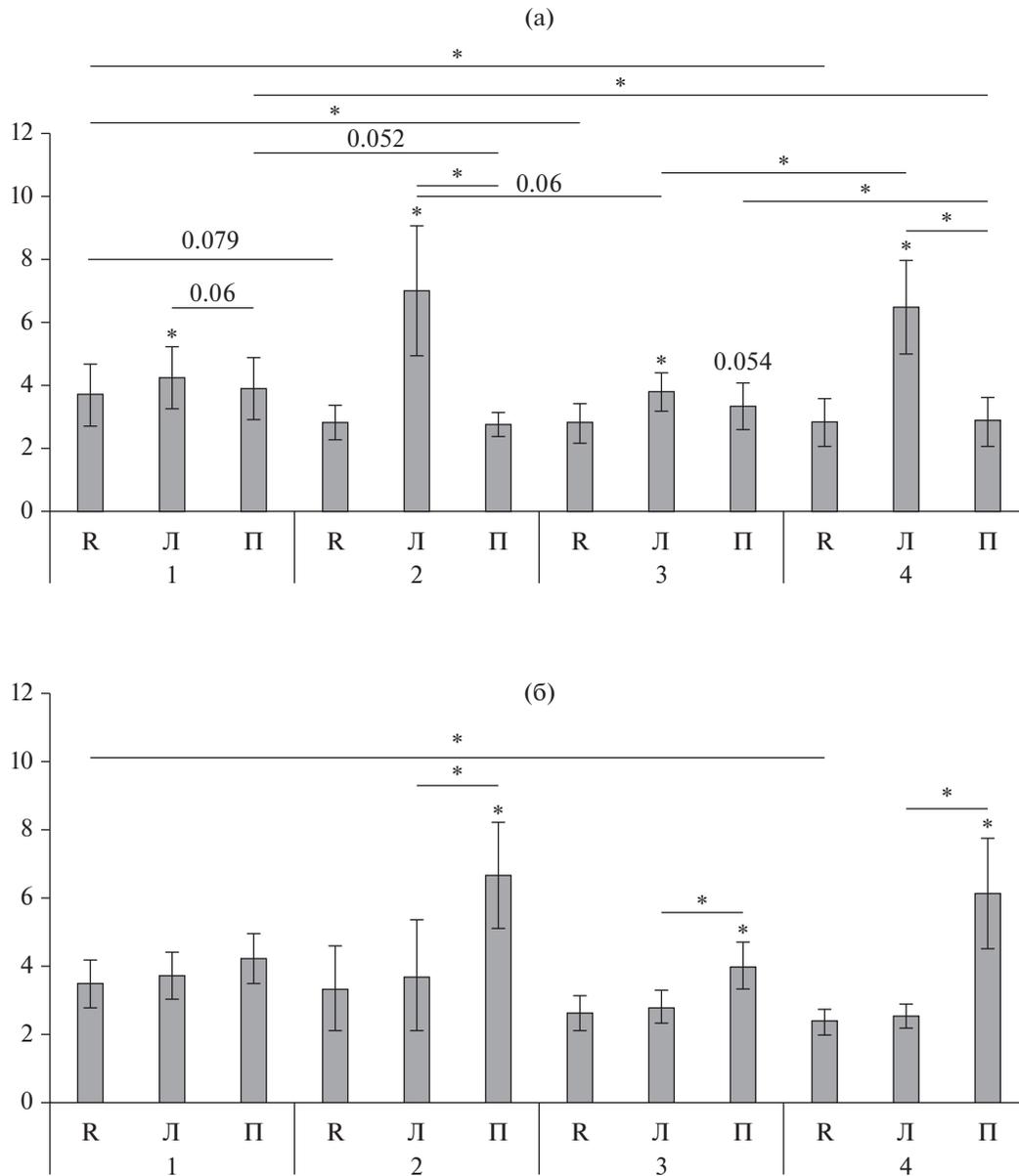


Рис. 3. ЭМГ-активность левой (а) и правой (б) передней большеберцовой мышцы (мкВ) при инструкциях находиться в покое (R), вообразить движения левой (Л) и правой (П) стопы. * над столбцами – значимые отличия от ЭМГ при инструкции находиться в покое ($p < 0.05$); * между соседними столбцами – значимые отличия между ЭМГ при воображении движений правой и левой стопы при одном из условий эксперимента: 1 (при работе с нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий) или 2 (при добавлении механотерапии), или 3 (при добавлении ЧЭССМ), или 4 (при добавлении обоих воздействий) ($p < 0.05$); * между не соседними столбцами – значимые отличия между ЭМГ при разных условиях эксперимента. Для тенденций значимости величины p представлены на графиках вместо *.

Fig. 3. EMG activity of the left (a) and right (б) tibialis anterior (μV) when instructed to be at rest (R), to imagine movements of the left (Л) and of the right (П) foot. * above the columns – significant differences in EMG when subject was instructed to be at rest ($p < 0.05$); * between adjacent columns – significant differences between EMG when subject was instructed to imagine the movements of the right and left foot under one and the same experimental condition: 1 (when working with the neural interface without additional impact), or 2 (with the addition of mechanotherapy), or 3 (with the addition of TESCS), or 4 (with the addition of both impacts) ($p < 0.05$); * between non-adjacent columns – significant differences between EMG under different experimental conditions. In a case of trends in significance, p values are shown in the graphs instead of *.

Таблица 4. Главные эффекты однофакторных дисперсионных анализов ANOVA RM, фактор Условие (1/2/3/4)
Table 4. Main effects of univariate analyses of variance ANOVA RM Factor condition (1/2/3/4)

Мышца	Инструкция	Tests of Within-Subjects Effects
Правая ПБМ	Вообразить движение ПС (П)	F(3.27) = 2.96, $p = 0.05$, $\eta^2 = 0.245$
Правая ПБМ	Вообразить движение ЛС (Л)	
Правая ПБМ	Находиться в покое (R)	
Левая ПБМ	Вообразить движение ПС (П)	F(3.27) = 4.8, $p = 0.008$, $\eta^2 = 0.349$
Левая ПБМ	Вообразить движение ЛС(Л)	F(3.27) = 2.97, $p = 0.05$, $\eta^2 = 0.248$
Левая ПБМ	Находиться в покое (R)	F(3.27) = 4.5, $p = 0.011$, $\eta^2 = 0.333$

менном воздействии механотерапии и ЧЭССМ);

– ЭМГ *левой* ПБМ (рис. 3 (а)) при воображении движений ипсилатеральной ЛС значимо больше, чем при воображении движений контралатеральной ПС при стимуляционных воздействиях, включающих механотерапию: на 39.4% при механотерапии и на 43.8% при одновременном воздействии ЧЭССМ и механотерапии. При работе с нейроинтерфейсом без воздействий имеет место тенденция ($p = 0.06$), а при добавлении ЧЭССМ значимых отличий нет.

Поскольку двухфакторный анализ не выявил значимых главных эффектов для фактора Условие, с целью детализации влияния условия был дополнительно проведен однофакторный дисперсионный анализ ANOVA RM, фактор Условие (1/2/3/4) по отдельности для правой и левой ПБМ для каждой из инструкций Л, П, и R. При проведении этого анализа были получены значимые главные эффекты для следующих условий (табл. 4): для правой ПБМ – только при условии находиться в покое, для левой ПБМ при инструкции находиться в покое, а также при воображении движений ЛС и ПС.

Результаты множественных сравнений также представлены на рис. 3 и описаны ниже.

1) Сравнение ЭМГ-активности *при разных условиях проведения эксперимента* при воображении движений *ипсилатеральной* стопы не выявило значимых различий.

2) Сравнение ЭМГ-активности *при разных условиях проведения эксперимента* при воображении движений *контралатеральной* стопы выявило уменьшение в ЭМГ-активности левой ПБМ при добавлении к работе с нейроинтерфейсом стимуляционных воздействий, включающих механотерапию (значимое при совместных воздействиях механотерапии и

ЧЭССМ, тенденция, $p = 0.052$, при добавлении только механотерапии). Для правой ПБМ значимых отличий не выявлено.

3) Сравнение ЭМГ-активности *при разных условиях проведения эксперимента* при инструкции находиться *в покое* выявило уменьшение ЭМГ-активности левой ПБМ при всех видах стимуляционных воздействий (значимое при воздействиях, включающих ЧЭССМ, при добавлении механотерапии – тенденция, $p = 0.079$), значимое уменьшение ЭМГ-активности правой ПБМ – лишь при совместных воздействиях механотерапии и ЧЭССМ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В условиях управления нейроинтерфейсом были выявлены изменения мозговой и мышечной активности в зависимости от дополнительных стимуляционных воздействий.

ДПО при классификации ЭЭГ-сигналов мозга в условиях работы с кортико-спинальным нейроинтерфейсом при всех дополнительных воздействиях увеличивалась, в большей степени при совместных воздействиях механотерапии и ЧЭССМ. По-видимому, механотерапия и ЧЭССМ приводят к активации кортикальных нейронных сетей, обеспечивающих воображение движений (что проявляется в увеличении ДПО). Влияние механотерапии на изменение ЭЭГ-активности связано, по-видимому, с увеличением восходящего афферентного потока в структуры головного мозга при механотерапии, приводящей к пассивному растяжению мышц, обеспечивающих движение стопы. Увеличение ДПО при ЧЭССМ находится в соответствии с имеющимися в литературе сведениями о влиянии ЧЭССМ на активность головного мозга (Telkes et al., 2020; Ridder et al., 2013; Bent-

ley et al., 2016; McGeady et al., 2021; Steele et al., 2022; Moens et al., 2012; Manson et al., 2022).

По сравнению с ЭМГ-активностью других мышц нижних конечностей, зарегистрированных в нашем эксперименте, наибольшая ЭМГ-активность при управлении нейроинтерфейсом наблюдалась в ПБМ — мышце, обеспечивающей реальное осуществление воображаемого тыльного сгибания стопы. Наличие ЭМГ-активности в мышце при воображении движения соответствует имеющимся в литературе данным о возникновении сублиминальной (неосознаваемой) мышечной активности при воображении движений (Hashimoto, Rothwell, 1999; Gandevia et al., 1997, Dickstein et al., 2005, Guillot et al., 2007).

Активность ПБМ во время инструкции вообразить движение ипсилатеральной стопы была значимо увеличена по сравнению с активностью ПБМ во время инструкции находиться в покое при всех условиях проведения эксперимента, за исключением активности правой ПБМ при воображении движений ПС в условиях работы с нейроинтерфейсом без дополнительных стимуляционных воздействий (рис. 3 (б)). Такое отличие в активности правой и левой ПБМ при воображении движений ипсилатеральной стопы может быть связано с межполушарными различиями системы регуляции движений: специализацией правого полушария на формировании целостного представления о состоянии тела — “схемы тела” и движениях, осуществляемых с использованием обратных связей, левого — на регуляции быстрых баллистических движений, мелкой моторики, речи (Harrington, Naaland, 1991; Naaland et al., 2004; Bobrova et al., 2013; 2015; 2017; Sainburg, 2005; Sainburg, Duff, 2006). Кроме того, это отличие может быть связано с асимметрией процессов внимания: из трех разных, но взаимосвязанных сетей внимания (сети оповещения, ориентации и исполнительного контроля (alerting, orienting, and executive control networks)) сеть оповещения асимметрична и включает правую лобную и правую теменную кору, а также таламус (Posner, Rothbart, 2007). Очевидно, что задача воображения движения требует от испытуемого сильной концентрации внимания.

При добавлении стимуляционных воздействий, когда ДПО увеличивалась, активность ПБМ при воображении движений ипсилатеральной стопы была всегда значимо больше, чем в покое. Увеличение активности ПБМ при воображении движения ипсилатераль-

ной стопы по сравнению с покоем в большей степени было выражено при условиях, активирующих пассивное перемещение стопы (т.е. при механотерапии, а также при совместном воздействии механотерапии и ЧЭССМ). Однако значимых отличий от активности ПБМ при воображении движений ипсилатеральной стопы при управлении нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий не выявлено. Лишь значимо большие величины ЭМГ-активности при условиях, включающих механотерапию, чем при добавлении ЧЭССМ, выявлены для левой ПБМ (рис. 3 (а)).

Тем не менее значимые различия в активности обеих ПБМ в зависимости от наличия/отсутствия дополнительных воздействий выявлены, но выявлены они для временных интервалов при инструкции находиться в покое, а также для левой ПБМ при инструкции вообразить движение противоположной стопы. В эти временные интервалы одновременное добавление механотерапии и ЧЭССМ приводит к уменьшению активности ПБМ по сравнению с таковой при управлении нейроинтерфейсом без дополнительных воздействий. Аналогичный эффект наблюдается для левой ПБМ при ЧЭССМ и в виде тенденции — при добавлении механотерапии. Это, как можно предполагать, связано с тем, что дополнительная стимуляция помогает синхронизировать воображение движений с инструкцией и “вытормозить” мышечную активность в периоды, когда задаваемое инструкцией намерение осуществить конкретное движение отсутствует. Аналогичных сведений в литературе нами не обнаружено, хотя есть сведения о роли сетей спинного мозга, включающих тормозные интернейроны и обеспечивающих торможение движения во время его мысленного воображения (Столбков и др., 2018; Grosprêtre et al., 2016). Такого рода эффекты, по-видимому, важны для формирования адекватных координационных паттернов в “оркестре” (по образному выражению Н.А. Бернштейна) управляющих сигналов от ЦНС при реализации движений.

Рассматривая результаты в целом, отметим, что влияние дополнительных стимуляционных воздействий на ЭМГ-активность было в большей степени выражено для левой, чем для правой ПБМ, причиной чего, как уже предполагалось выше, может быть межполушарная асимметрия системы регуляции движений и внимания (Harrington, Naaland, 1991; Naaland et al., 2004; Bobrova et al., 2013;

2015; 2017; Sainburg, 2005; Sainburg, Duff, 2006; Posner, Rothbart, 2007).

ВЫВОДЫ

1. Апробирована работа с кортико-спинальным нейроинтерфейсом, основанным на кинестетическом воображении тыльного сгибания стопы, в условиях наличия или отсутствия дополнительных стимуляционных воздействий в виде механотерапии и ЧЭССМ.

2. При работе с кортико-спинальным нейроинтерфейсом активность ПБМ – мышцы, осуществляющей в реальности воображение этого движения, выше, чем у остальных мышц нижних конечностей (камбаловидных, латеральных широких мышц бедра и двуглавых мышц бедра).

3. При работе с кортико-спинальным нейроинтерфейсом без дополнительных стимуляционных воздействий активность левой, но не правой ПБМ, выше во временные интервалы, когда испытуемый получал инструкцию вообразить движение ипсилатеральной стопы, чем при инструкции находиться в покое. Это отличие, как предполагается, связано с асимметрией системы регуляции движений и внимания.

4. В условиях добавления механотерапии в случае успешного распознавания воображаемого движения стопы (оцененного по ДПО) и/или добавления ЧЭССМ при инструкции вообразить ипсилатеральное движение стопы активность обеих ПБМ значимо выше, чем при инструкции находиться в покое.

5. Дополнительные воздействия в виде механотерапии и ЧЭССМ приводят к увеличению ДПО сигналов мозга, что, по-видимому, свидетельствует об активации кортикальных нейронных сетей, обеспечивающих воображение движений.

6. Подключение механотерапии и ЧЭССМ при работе кортико-спинального нейроинтерфейса в большей степени влияет не на активность ПБМ, движение которых воображается, но на синхронизацию их активности с намерением осуществить конкретное движение (в нашем случае – синхронизация с инструкцией), которая проявляется в вытормаживании активности ПБМ, движение которых согласно инструкции не следует воображать в соответствующий временной интервал.

7. Влияние дополнительных стимуляционных воздействий на ЭМГ-активность было в большей степени выражено для левой, чем

для правой ПБМ, причиной чего может быть межполушарная асимметрия системы регуляции движений и внимания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научно-го проекта № 22-25-00624.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Фролов А.А., Бобров П.Д. Интерфейс мозг-компьютер: Нейрофизиологические предпосылки и клиническое применение. Журн. высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова. 2017. 67 (4): 365–376.
- Боброва Е.В., Решетникова В.В., Вершинина Е.А., Гришин А.А., Исаев М.Р., Бобров П.Д., Герасименко Ю.П. Оценка эффективности управления мозг-компьютерным интерфейсом при обучении воображению движений верхних и нижних конечностей. Журн. высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова. 2022. 73 (1): 52–61.
- Боброва Е.В., Решетникова В.В., Фролов А.А., Герасименко Ю.П. Воображение движений нижних конечностей для управления системами “интерфейс мозг-компьютер”. Журн. высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова. 2019. 69 (5): 529–540.
- Богачева И.Н., Мошонкина Т.Р., Боброва Е.В., Гришин А.А., Якупов Р.Н., Балыкин Ю.М., Герасименко Ю.П. Эффект чрескожной электрической стимуляции спинного мозга и механотерапии в регуляции активности мышц ног. Вестник ТвГУ. Серия: Биология и экология. 2015. 2: 7–17.
- Бодрова Р.А. Механотерапия с биологической обратной связью: эффективная реабилитация при травме спинного мозга. Доктор.Ру. 2012. 10 (78): 46–47.
- Городничев Р.М., Пивоварова Е.А., Пухов А., Моисеев С.А., Савохин А.А., Мошонкина Т.Р., Щербакова Н.А., Килимник В.А., Селионов В.А., Козловская И.Б., Эджертон Р., Герасименко Ю.П. Чрезкожная электрическая стимуляция спинного мозга: неинвазивный способ активации генераторов шагательных движений у человека. Физиология человека. 2012. 38 (2): 46–56.
- Даминов В.Д. Роботизированная механотерапия в нейрореабилитации. Вестник АГИУВ. 2013. 3: 83–88.
- Столбков Ю.К., Мошонкина Т.Р., Орлов И.В., Козловская И.Б., Герасименко Ю.П. Воображаемые движения как средство совершенствования и реабилитации моторных функций. Успехи физиологических наук. 2018. 49 (2): 45–59.
- Alam M., Rodrigues W., Pham B.N., Thakor N.V. Brain-machine interface facilitated neurorehabilitation via spinal stimulation after spinal cord injury: recent progress and future perspectives. Brain Res. 2016. 1646: 25–33.
- Bai Z., Fong K.N.K., Zhang J.J., Chan J., Ting K.H. Immediate and long-term effects of BCI-based rehabilitation of the upper extremity after stroke: a

- systematic review and meta-analysis. *J Neuroeng Rehabil.* 2020. 17 (1): 57.
- Bentley L.D., Duarte R.V., Furlong P.L., Ashford R.L., Raphael J.H.* Brain activity modifications following spinal cord stimulation for chronic neuropathic pain: a systematic review. *Eur. J. Pain.* 2016. 20: 499–511.
- Bobrova E.V., Bogacheva I.N., Lyakhovetskii V.A., Fabinskaja A.A., Fomina E.V.* Memorization of sequences of movements of the right and left hand by right- and left-handers. *Hum. Physiol.* 2015. 41: 629–635.
- Bobrova E.V., Bogacheva I.N., Lyakhovetskii V.A., Fabinskaja A.A., Fomina E.V.* Memorization of sequences of movements of the right or the left hand by right- and left-handers: vector coding. *Hum. Physiol.* 2017. 43. 13–21.
- Bobrova E.V., Lyakhovetskii V.A., Borshchevskaya E.R.* The role of “prehistory” in the reproduction of sequential movements of the right and left hands: encoding of positions, movements, and sequence structure. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2013. 43: 56–62.
- Bonizzato M., Pidpruzhnykova G., DiGiovanna J., Shkorbatova P., Pavlova N., Micera S., Courtine G.* Brain-controlled modulation of spinal circuits improves recovery from spinal cord injury. *Nat. Commun.* 2018. 9: 1–14.
- Bouton C.E.* Chapter 22 – Merging brain-computer interface and functional electrical stimulation technologies for movement restoration. *Handbook of Clinical Neurology.* Eds: Ramsey N.F., Millán J. del R. Elsevier, 2020. 168: 303–309.
- Burianová H., Marstaller L., Rich A.N., Williams M.A., Savage G., Ryan M., Sowman P.F.* Motor neuroplasticity: A MEG-fMRI study of motor imagery and execution in healthy ageing. *Neuropsychologia.* 2020. 146: 107539.
- Camargo-Vargas D., Callejas-Cuervo M., Mazzoleni S.* Brain-computer interfaces systems for upper and lower limb rehabilitation: a systematic review. *Sensors.* 2021. 21 (13): 4312.
- Capogrosso M., Milekovic T., Borton D., Wagner F., Moraud E.M., Mignardot J.B., Buse N., Gandar J., Barraud Q., Xing D., Rey E., Duis S., Jianzhong Y., Ko W.K., Li Q., Detemple P., Denison T., Micera S., Bezdard E., Bloch J., Courtine G.* A brain-spine interface alleviating gait deficits after spinal cord injury in primates. *Nature.* 2016. 539: 284–288.
- Cardoso V.F., Delisle-Rodriguez D., Romero-Laiseca M.A., Loterio F.A., Gurve D., Floriano A., Valadão C., Silva L., Krishnan S., Frizzera-Neto A., Freire Bastos-Filho T.* Effect of a brain-computer interface based on pedaling motor imagery on cortical excitability and connectivity. *Sensors.* 2021. 21 (6): 2020.
- Cheron G., Duvinage M., De Saedeleer C., Castermans T., Bengoetxea A., Petieau M., Seetharaman K., Hoellinger T., Dan B., Dutoit T., Syllos L.F., Lacquaniti F., Ivanenko Y.* From spinal central pattern generators to cortical network: integrated BCI for walking rehabilitation. *Neural Plast.* 2012: 375148.
- Cui Z., Li Y., Huang S., Wu X., Fu X., Liu F., Wan X., Wang X., Zhang Y., Qiu H., Chen F., Yang P., Zhu S., Li J., Chen W.* BCI system with lower-limb robot improves rehabilitation in spinal cord injury patients through short-term training: a pilot study. *Cogn. Neurodyn.* 2022. 16: 1283–1301.
- De Ridder D., Plazier M., Kamerling N., Menovsky T., Vanneste S.* Burst spinal cord stimulation for limb and back pain. *World Neurosurg.* 2013. 80: 642–649.
- Dickstein R., Gazit-Grunwald M., Plax M., Dunsky A., Marcovitz E.* EMG activity in selected target muscles during imagery rising on tiptoes in healthy adults and poststroke hemiparetic patients. *J. Motor Behavior.* 2005. 37 (6): 475–483.
- Do A.H., Wang P.T., King C.E., Abiri A., Nenadic Z.* Brain-computer interface controlled functional electrical stimulation system for ankle movement. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2011. 8:49.
- Do A.H., Wang P.T., King C.E., Chun S.N., Nenadic Z.* Brain-computer interface controlled robotic gait orthosis. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2013. 10:111.
- Donati A., Shokur S., Morya E., Campos D., Moiola R., Gitti C., Augusto P., Tripodi S., Pires C., Pereira G., Brasil F., Gallo S., Lin A., Takigami A., Aratanha M., Bleuler H., Cheng G., Rudolph A., Nicoletis M.* Long-term training with a brain-machine interface-based gait protocol induces partial neurological recovery in paraplegic patients. *Scientific Reports.* 2016. 6: 30383.
- Gandevia S.C., Wilson L.R., Inglis J.T., Burke D.* Mental rehearsal of motor tasks recruits α -motoneurons but fails to recruit human fusimotor neurons selectively. *J. Physiol.* 1997. 505 (1): 259–266.
- Gao W., Cui Z., Yu Y., Mao J., Xu J., Ji L., Kan X., Shen X., Li X., Zhu S., Hong Y.* Application of a brain-computer interface system with visual and motor feedback in limb and brain functional rehabilitation after stroke: case report. *Brain Sciences.* 2022. 12 (8): 1083.
- García-Cossio E., Severens M., Nienhuis B., Duysens J., Desain P., Keijsers N., Farquhar J.* Decoding sensorimotor rhythms during robotic-assisted treadmill walking for brain computer interface (BCI) applications. *PLoS One.* 2015. 10 (12): e0137910.
- Geiger D.E., Behrendt F., Schuster-Amft C.* EMG muscle activation pattern of four lower extremity muscles during stair climbing, motor imagery, and robot-assisted stepping: a cross-sectional study in healthy individuals. *BioMed. Research International.* 2019. 2019: 9351689.
- Gerasimenko Y., Gorodnichev R., Puhov A., Moshonkina T., Savochin A., Selionov V., Roy R.R., Lu D.C., Edgerton V.R.* Initiation and modulation of locomotor circuitry output with multisite transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord in noninjured humans. *J. Neurophysiol.* 2015. 113 (3): 834–842.
- Grishin A.A., Moshonkina T.R., Bobrova E.V., Gerasimenko Yu.P.* A device for the rehabilitation therapy of patients with motor pathology using mechanotherapy, transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord, and biological feedback. *Biomed. Eng.* 2019. 53: 227–230.
- Grosprêtre S., Lebon F., Papaxanthis C., Martin A.* New evidence of corticospinal network modulation induced by motor imagery. *J. Neurophysiol.* 2016. 115 (3): 1279–1288.
- Guillot A., Lebon F., Rouffet D., Champely S., Doyon J., Collet C.* Muscular responses during motor imagery as a function of muscle contraction types. *International J. Psychophysiol.* 2007. 66 (1): 18–27.
- Haaland K.Y.* Hemispheric asymmetries for kinematic and positional aspects of reaching. *Brain.* 2004. 127: 1145–1158.

- Harkema S., Gerasimenko Y., Hodes J., Burdick J., Angeli C., Chen Y., Ferreira C., Willhite A., Rejc E., Grossman R.G., Edgerton V.R. Effect of epidural stimulation of the lumbosacral spinal cord on voluntary movement, standing, and assisted stepping after motor complete paraplegia: a case study. *Lancet*. 2011. 377 (9781): 1938–1947.
- Harrington D.L., Haaland K.Y. Hemispheric specialization for motor sequencing: Abnormalities in levels of programming. *Neuropsychologia*. 1991. 29: 147–163.
- Hashimoto R., Rothwell J.C. Dynamic changes in corticospinal excitability during motor imagery,” *Exp. Brain Res.* 1999. 125 (1): 75–81.
- Hramov A.E., Maksimenko V.A., Pisarchik A.N. Physical principles of brain–computer interfaces and their applications for rehabilitation, robotics and control of human brain states. *Physics Reports*. 2021. 918: 1–133.
- Insausti-Delgado A., López-Larraz E., Nishimura Y., Ziemann U., Ramos-Murguialday A. Non-invasive brain-spine interface: continuous control of trans-spinal magnetic stimulation using EEG. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022. 10: 975037.
- Jayaram V., Barachant A. MOABB: trustworthy algorithm benchmarking for BCIs. *Journal of neural engineering*. 2018. 15 (6). 066011.
- Kaneko F., Hayami T., Aoyama T., Kizuka T. Motor imagery and electrical stimulation reproduce corticospinal excitability at levels similar to voluntary muscle contraction. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2014. 11: 94.
- King C.E., Wang P.T., Chui L.A., Do A.H., Nenadic Z. Operation of a brain-computer interface walking simulator for individuals with spinal cord injury. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2013. 10:77.
- King C.E., Wang P.T., McCrimmon C.M., Chou C.C.Y., Do A.H., Nenadic Z. Brain-computer interface driven functional electrical stimulation system for overground walking in spinal cord injury participant. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2014. 2014: 1238–1242.
- King C.E., Wang P.T., McCrimmon C.M., Chou C.C.Y., Do A.H., Nenadic Z. The feasibility of a brain-computer interface functional electrical stimulation system for the restoration of overground walking after paraplegia. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2015. 12: 80.
- Li C., Wei J., Huang X., Duan Q., Zhang T. Effects of a brain-computer interface-operated lower limb rehabilitation robot on motor function recovery in patients with stroke. *J. Healthcare Engineering*. 2021. 2021: 4710044.
- Lotte F., Bougrain L., Cichocki A., Clerc M., Congedo M., Rakotomamonjy A., Yger F. A review of classification algorithms for EEG-based brain–computer interfaces: a 10 year update. *Journal of neural engineering*. 2018. 15 (3): 031005.
- Kruse A., Suica Z., Taeymans J., Schuster-Amft C. Effect of brain-computer interface training based on non-invasive electroencephalography using motor imagery on functional recovery after stroke—a systematic review and meta-analysis *BMC neurology*. 2020. 20 (1): 1–14.
- Luu T.P., He Y., Brown S., Nakagome S., Contreras-Vidal J. Gait adaptation to visual kinematic perturbations using a real-time closed-loop brain–computer interface to a virtual reality avatar. *J. Neural Eng.* 2016. 13: 036006.
- Manson G.A., Atkinson D.A., Shi Z., Sheynin J., Karmonik C., Markley R.L., Sayenko D.G. Transcutaneous spinal stimulation alters cortical and subcortical activation patterns during mimicked-standing: A proof-of-concept fMRI study. *Neuroimage: Reports*. 2022. 2 (2): 100090.
- McGeedy C., Vučković A., Zheng Y.-P., Alam M. EEG monitoring is feasible and reliable during simultaneous transcutaneous electrical spinal cord stimulation. *Sensors*. 2021. 21 (19): 6593.
- McPherson J.G., Miller R.R., Perlmutter S.I., McPherson J.G., Robert R., Miller S.I.P. Targeted, activity-dependent spinal stimulation produces long-lasting motor recovery in chronic cervical spinal cord injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. 78: 12193–12198.
- Moens M., Sunaert S., Mariën P., Brouns R., De Smedt A., Droogmans S., Van Schuerbeek P., Peeters R., Poelaert J., Nuttin B. Spinal cord stimulation modulates cerebral function: an fMRI study. *Neuroradiology*. 2012. 54 (12): 1399–1407.
- Mrachacz-Kersting N., Jiang N., Stevenson A.J., Niazi I.K., Kostic V., Pavlovic A., Radovanovic S., Djuric-Jovicic M., Agosta F., Dremstrup K., Farina D. Efficient neuroplasticity induction in chronic stroke patients by an associative brain-computer interface. *J. Neurophysiol.* 2016. 115 (3): 1410–21.
- Mulder T., De Vries S., Zijlstra S. Observation, imagination and execution of an effortful movement: more evidence for a central explanation of motor imagery. *Experimental Brain Research*. 2005. 163 (3): 344–351.
- Nishimura Y., Perlmutter S.I., Fetz E.E. Restoration of upper limb movement via artificial corticospinal and musculoskeletal connections in a monkey with spinal cord injury. *Front. Neural Circuits*. 2013. 7: 57.
- Page S.J. An overview of the effectiveness of motor imagery after stroke: a neuroimaging approach. The neurophysiological foundations of mental and motor imagery. Eds: Guillot A., Collet C. Oxford: Oxford Academic, 2012. 145–160 pp.
- Pérez M.Q., Beltrán E.T.M., Bernal S.L., Celdrán A.H., Pérez G.M. Breaching subjects' thoughts privacy: a study with visual stimuli and brain-computer interfaces. *J. Healthc. Eng.* 2021. 9 (2021): 5517637.
- Personnier P., Paizis C., Ballay Y., Papaxanthis C. Mentally represented motor actions in normal aging. II. The influence of the gravito-inertial context on the duration of overt and covert arm movements. *Behavioural Brain Research*. 2008. 186 (2): 273–283.
- Pino A., Tovar N., Barria P., Baleta K., Múnera M., Cifuentes C.A. Brain–computer interface for controlling lower-limb exoskeletons. in: *interfacing humans and robots for gait assistance and rehabilitation*. Springer: Cham, 2022. 237–258 pp.
- Posner M.I., Rothbart M.K. Research on attention networks as a model for the integration of psychological science. *Annu. Rev. Psychol.* 2007. 58: 1–23.
- Ranganathan V.K., Siemionow V., Liu J.Z., Sahgal V., Yue G.H. From mental power to muscle power—gaining strength by using the mind. *Neuropsychologia*. 2004. 42 (7): 944–956.

- Ren S., Wang W., Hou Z.-G., Liang X., Wang J., Shi W. enhanced motor imagery based brain-computer interface via FES and VR for lower limb. *IEEE Trans. Neural Syst.* 2020. 28 (8): 1846–1855.
- Saha S., Mamun K.A., Ahmed K.I.U., Mostafa R., Naik G.R., Darvishi S., Khandoker A.H., Baumert M. Progress in Brain Computer Interface: Challenges and Potentials. *Frontiers in Systems Neuroscience.* 2021. 15: P. 4.
- Sainburg R.L. Handedness: differential specializations for control of trajectory and position. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 2005. 33: 206–213.
- Sainburg R.L., Duff S.V. Does motor lateralization have implications for stroke rehabilitation? *J. Rehabil. Res. Dev.* 2006. 43: 311.
- Steele A.G., Manson G.A., Horner P.J., Sayenko D.G., Contreras-Vidal J.L. Effects of transcutaneous spinal stimulation on spatiotemporal cortical activation patterns: a proof-of-concept EEG study. *J. Neural. Eng.* 2022. 19 (4): 046001.
- Takahashi M., Takeda K., Otaka Y., Osu R., Hanakawa T., Gouko M., Ito K. Event related desynchronization-modulated functional electrical stimulation system for stroke rehabilitation: A feasibility study. *J. NeuroEngineering and Rehabilitation.* 2012. 9: 56.
- Takahashi Y., Kawakami M., Yamaguchi T., Idogawa Y., Tanabe S., Kondo K., Liu M. Effects of leg motor imagery combined with electrical stimulation on plasticity of corticospinal excitability and spinal reciprocal inhibition. *Front. Neurosci.* 2019. 13: 149.
- Telkes L., Hancu M., Panicioli S., Grey R., Briotte M., McCarthy K., Raviv N., Pilitsis J.G. Differences in EEG patterns between tonic and high frequency spinal cord stimulation in chronic pain patients. *Clinical Neurophysiology.* 2020. 131 (8): 1731–1740.
- Yadav A.P., Li D., Nicolelis M.A.L. A brain to spine interface for transferring artificial sensory information. *Sci. Rep.* 2020. 10: 900–915.
- Yasui T., Yamaguchi T., Tanabe S., Tatemoto T., Takahashi Y., Kondo K., Kawakami M. Time course of changes in corticospinal excitability induced by motor imagery during action observation combined with peripheral nerve electrical stimulation. *Exp. Brain Res.* 2019. 237: 637–645.
- Zimmermann J.B., Jackson A. Closed-loop control of spinal cord stimulation to restore hand function after paralysis. *Front. Neurosci.* 2014. 8: 87–88.

ANALYSIS OF BRAIN AND MUSCLE ACTIVITY DURING CONTROL OF BRAIN-SPINE NEUROINTERFACE

E. V. Bobrova^{a, #}, V. V. Reshetnikova^a, A. A. Grishin^a, E. A. Vershinina^a,
M. R. Isaev^{b, c}, D. R. Plyachenko^d, P. D. Bobrov^{b, c}, and Yu. P. Gerasimenko^a

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

^b*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^c*Institute of Translational Medicine of Pirogov of Russian National Research Medical University, Moscow, Russia*

^d*Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: eabobrov@gmail.com*

A brain-spine neurointerface based on the kinesthetic imagination of foot dorsiflexion with additional activation of foot movement by Biokin robotic device (mechanotherapy), and transcutaneous electrical spinal cord stimulation (TESCS) has been developed. Accuracy of classification of EEG-signals during the neurointerface control was on average 68% and significantly increases with the addition of mechanotherapy and TESCS by 9%. The EMG activity of the tibialis anterior (TA) – the muscle, which performs dorsiflexion of the foot, significantly increased during the instruction to imagine movement compared to that during the instruction to be at rest. The addition of mechanotherapy and TESCS during the neurointerface control has a greater effect not on the increase in TA activity when imagining the movement of the ipsilateral foot, but on the decrease in TA activity at rest. The revealed effects are apparently important for the formation of adequate coordination patterns of control signals from the CNS and of muscle activity during the implementation of movements and can be used in the clinical rehabilitation of motor activity using the cortico-spinal neurointerface.

Keywords: brain-spine neurointerface, brain-computer interfaces, imagery of foot movements, muscle activity

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ:
ВОСПРИЯТИЕ ВНЕШНИХ СТИМУЛОВ,
ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ, ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ**

УДК 612.8.02+612.825

**ОБРАТНЫЕ ТОРМОЗНЫЕ СВЯЗИ ЧЕРЕЗ ГАМК-Б-РЕЦЕПТОРЫ
СИНХРОНИЗИРУЮТ ИНТЕРИКТАЛЬНЫЕ РАЗРЯДЫ В КОРЕ**

© 2023 г. В. Г. Марченко¹ *, М. И. Зайченко¹ **

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

*e-mail: vgmarchenko3@gmail.com

**e-mail: mariya-zajchenko@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.09.2022 г.

После доработки 23.01.2023 г.

Принята к публикации 27.02.2023 г.

Современные экспериментальные данные показывают, что интериктальные разряды состоят из короткого спайка и медленной волны, которая рассматривается как длительная гиперполяризация. На модели синхронизации интериктальных разрядов было проведено исследование обратных тормозных связей. У крыс, находящихся в состоянии легкого наркотического сна, после нанесения блокаторов ГАМК-А-рецепторов на кору интериктальные разряды возникали в соседних участках коры независимо друг от друга, а затем происходила их синхронизация. В экспериментах, в которых интериктальные разряды возникали одновременно, длительности медленной волны (тормозной фазы) были одинаковы. В процессе регистрации в этих и других опытах происходило увеличение временной задержки между моментами генерации интериктальных разрядов. В условиях усиления синхронизации происходило увеличение длительности медленной волны (тормозной фазы) интериктальных разрядов. У интериктальных разрядов, которые возникали первыми, наблюдалась большая длительность торможения по сравнению с длительностью в соседней точке, так как к собственному торможению в нейронной сети добавляется торможение от соседних сетей по обратным тормозным связям. При возникновении возбуждения вслед за ним по обратной связи начиналось торможение, которое ограничивало период возбуждения, и таким образом создавалось временное окно интеграции, и это также происходило в соседних нейронных сетях коры.

Ключевые слова: синхронизация, интериктальные разряды, ГАМК-Б-рецепторы, обратные тормозные связи

DOI: 10.31857/S004446772304007X, EDN: WHMBVJ

Пространственно-временная синхронизированная активность нейронов играет центральную роль в ощущениях, движении и познании (Knoblich et al., 2019; Trevelyan, 2016). Процессы интеграции и взаимодействия происходят при синхронизации электрической активности нейронных сетей коры, которые расположены в одной или нескольких взаимосвязанных структурах мозга (Lévesque et al., 2019). Синхронная активность нейронных сетей в физиологических условиях отражается специфическими осцилляторными паттернами ЭЭГ, которые ассоциируются с различными поведенческими состояниями и когнитивными функциями, однако чрезмер-

ная синхронизация может привести к фокальной эпилептиформной активности, характеризующейся интериктальными и иктальными разрядами у больных эпилепсией и в моделях на животных (Lévesque et al., 2019).

В коре существует несколько механизмов взаимодействия между нейронными сетями, которое находит свое отражение в синхронизации электрической активности, — через электрические синапсы, посредством электрических полей, объемной передачи, через общий вход, посредством обратной связи между нейронами и созданием временного окна интеграции (Gray, Singer, 1989). Причем

это взаимодействие осуществляется как в локальном пуле клеток коры, так и между удаленными областями. Ключевую роль в этом взаимодействии играет процесс торможения, напрямую осуществляя синхронизацию нейронов, определяя параметры колебаний и поддерживая их когерентность в пространстве (Isaacson, Scanziani, 2011). Синхронное ГАМК-ергическое торможение является мощным механизмом синхронизации нейронов при генерации физиологических паттернов активности. Механизм синхронизации посредством торможения действительно работает во время генерации некоторых типов эпилептиформной активности (Khazipov, 2016).

Основным тормозным нейромедиатором в мозге является ГАМК. Интернейроны могут участвовать в синхронизации нейронных сетей, действуя не только через ГАМК-А-, но и через ГАМК-Б-рецепторы. Активация постсинаптической калиевой проводимости ГАМК-Б-рецепторами включает G-белок-опосредованные каскады, и поэтому тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП), опосредованные ГАМК-Б-рецепторами, медленные, длятся сотни миллисекунд (Khazipov, 2016).

Для нас наибольший интерес представляло торможение посредством ГАМК-Б-рецепторов, поэтому исследование механизмов синхронизации интериктальных спайков проводилось нами в ситуации, когда ГАМК-А-рецепторы были заблокированы. При блокировании ГАМК-А-рецепторов в коре возникают интериктальные спайки, которые в дальнейшем синхронизируются. Такая экспериментальная модель является очень удобной для исследования механизмов синхронизации (Марченко, Зайченко, 2015).

Было обнаружено, что активация ГАМК-Б-рецепторов в периформной коре имеет двойные эффекты *in vivo* – с одной стороны, подавляет спонтанную активность в пирамидных клетках, а с другой стороны, способствует периодической синхронной эпилептиформной активности в тех же клетках (Gerrard et al., 2018; Lévesque et al., 2019; Jurado-Parras et al., 2016).

ГАМК-Б-рецепторы принимали непосредственное участие в генерации медленной активности (Serrats et al., 2017). Медленная кинетика рецепторов ГАМК-Б аналогична медленным течениям состояний Up и Down,

позволяя рецепторам ГАМК-Б оказывать сильный синаптический эффект и таким образом контролировать частоту и синхронизацию медленных колебаний (Wang, 2010).

Еще одним важным механизмом для синхронизации является электрический контакт через щелевые соединения каналов между нейронами (gap junctions) (Wang, Wu, 2021). Следует отметить, что такой механизм синхронизации работает даже при блокаде ГАМК-А-рецепторов (Gibson et al., 2005). Электрические синапсы могут опосредовать сильную и точную во времени (обычно до ± 1 мс, но возможно < 1 мкс в благоприятных нейронных системах) синхронизацию как подпороговых мембранных потенциалов, так и потенциалов действия при соответствующих условиях (Connors, 2017).

Велика роль электрических синапсов в эпилептогенезе, так как они образуют прямые межклеточные связи между нейронами, способствуя гиперсинхронности нейронной активности, связанной с судорогами (Li et al., 2019). Синхронизация активности в корковых нейронных сетях осуществляется посредством электрических синапсов интернейронов. Электрические синапсы могут играть важную роль в синхронизации нейронных сетей в физиологических и патологических условиях, включая эпилептические расстройства (Lévesque et al., 2019).

Синхронизация может осуществляться и посредством полевых потенциалов (эфаптическая связь). Этот полевой потенциал имеет большую амплитуду и распространяется на большие расстояния по коре практически мгновенно (Марченко и др., 2018).

Наряду с другими показателями эпилептической активности, важным компонентом являются интериктальные разряды (Ding et al., 2019). Интериктальные спайки наблюдаются и при экспериментальной эпилепсии у животных. Они появляются при нанесении блокаторов ГАМК-А-рецепторов на кору мозга – пенициллина (Марченко и др., 2018), биксукуллина (Zheng et al., 2020), пикротоксина (Bink et al., 2018), которые блокируют синаптическое торможение, а также 4-аминопиридина (4-AP) (Köhling et al., 2016; Amakhin et al., 2016). Запускать интериктальные спайки может также специфическая фотостимуляция парвальбуминовых (PV) или соматостатиновых (SOM) интернейронов (Yekhlef et al., 2015). Интериктальные разряды, регистри-

руемые в кортикальных нейронах, проявляются пароксизмальными деполяризирующими сдвигами мембранного потенциала, приводящими к устойчивым разрядам потенциала действия с последующей сильной гиперполяризацией. Они обычно состоят из большой амплитуды короткого спайка (продолжительностью 50–100 мс), за которым обычно следует медленная волна (длительностью 200–500 мс) (de Curtis, Avoli, 2016), которая представляет собой гиперполяризацию (Lévesque et al., 2019). Важным свойством интериктальных разрядов как у пациентов, так и у экспериментальных животных является синхронизация, независимо от того, в каких условиях происходила их генерация (Ridler et al., 2018; Lévesque et al., 2019; Lévesque et al., 2020).

В то же время, несмотря на большой интерес к проблеме синхронизации, многие механизмы ее возникновения в коре остаются неисследованными. В задачу данной работы входила попытка выяснить, какие свойства коры определяют взаимосвязи между соседними нейронными сетями, которые отражаются в синхронизации интериктальных разрядов.

МЕТОДИКА

При всех манипуляциях с животными соблюдалась Директива 2010/63/EU о защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. опыты были проведены на 12 взрослых крысах линии Вистар. В соответствии с Директивой, в каждой серии было использовано минимальное количество животных, необходимых для получения статистически достоверных результатов. Протокол исследований утвержден этической комиссией Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН. Животных содержали в условиях искусственного светового режима (день 8.00–20.00; ночь 20.00–8.00). Во всех экспериментах использовали взрослых животных в возрасте старше 3 месяцев.

Хирургическая процедура. Подробно операция на животных была изложена в предыдущей работе (Марченко, Зайченко, 2015). При проведении хирургической процедуры в качестве наркоза использовался хлоралгидрат из расчета 400 мг/кг. Во время хлоралгидратного наркоза активность мозга напоминает то, что наблюдается во время естественного сна (Ward-Flanagan et al., 2022). В процессе регистрации электрической активности нар-

коз добавлялся в количестве 5–10% от первоначальной дозы для поддержания животного в состоянии легкого наркотического сна. Над черепом удаляли кожу и затем над правым полушарием для регистрирующих электродов просверливали 3 или 4 отверстия диаметром 0.5 мм в передне-заднем направлении между брегмой и лямбдой таким образом, что расстояния между ними составляли 2 мм. Рядом с крайними отверстиями для электродов в кости просверливали отверстия 2 мм в диаметре для аппликации веществ – блокаторов ГАМК-А-рецепторов. Первая точка регистрации находилась в 1 мм от брегмы. Регистрация проводилась в первичной моторной, первичной сенсомоторной коре (Paxinos, Watson, 1998).

Регистрация электрической активности. Для длительной и непрерывной регистрации электрокортикограммы (ЭКоГ) в острых опытах использовали нихромовые электроды диаметром 150 мкм в изоляции, которые с помощью стереотаксиса вводили в отверстия в кости до твердой мозговой оболочки. Индифферентный электрод располагался на кости над лобной пазухой. Интериктальные разряды, представляющие собой первоначальный острый пик (спайк) длительностью несколько десятков миллисекунд и последующую медленную волну, вызывали аппликацией на поверхность коры пенициллина (Arnal-Real et al., 2021), разведенного в физиологическом растворе на одно или одновременно на оба отверстия в объеме 0.03–0.05 мл в необходимой концентрации до 1 000 000 ед. в 1 мл. Электрическую активность регистрировали до и после применения пенициллина. Регистрацию ЭКоГ крыс проводили практически непрерывно в течение всего эксперимента с помощью усилителя “НейроБиоЛаб” в диапазоне частот 1–70 Гц с подавлением артефактов 50 Гц сети электропитания. С использованием системы сбора данных NBL 140P-4 суммарная электрическая активность оцифровывалась с частотой дискретизации 100 кГц и накапливалась на жестком диске компьютера в формате abf с помощью программы AxoScore (Axon Instruments/ Molecular Devices).

Обработка данных. В течение каждого опыта последовательно визуально выбирались отрезки ЭКоГ длительностью 1 или 2 мин (в зависимости от характера активности), на которых вначале отсутствовала синхронизация между интериктальными разрядами в двух точках коры, а далее возникала синхро-

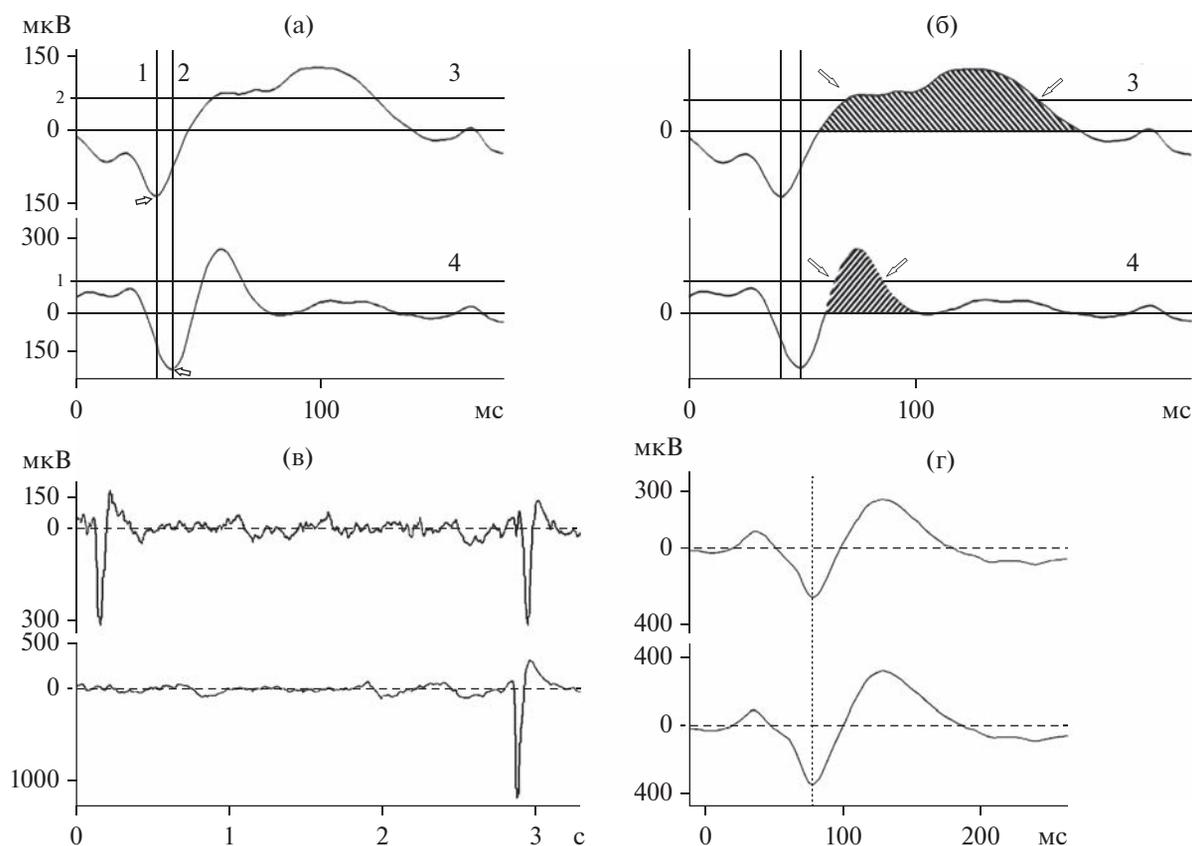


Рис. 1. Метод определения временной задержки между возникновением пиков интериктальных разрядов, определение длительности медленной фазы (волны) интериктального разряда. (а) — определение временной задержки между возникновением интериктальных разрядов с помощью вертикальных курсоров 1, 2. (б) — определение длительности медленной волны на уровне половины амплитуды (горизонтальные курсоры 3, 4). (в) — отрезок ЭКоГ с несинхронными и синхронными интериктальными разрядами, (г) — одновременное возникновение интериктальных разрядов.

Fig. 1. Method for determining the time delay between the occurrence of interictal discharge peaks, determining the duration of the slow phase (wave) of the interictal discharge. (а) — determination of the time delay between the occurrence of interictal discharges using vertical cursors. (б) — determination of the duration of the slow wave at the half amplitude level (horizontal cursors). (в) — section of ECoG with non-synchronous and synchronous interictal discharges, (г) — simultaneous occurrence of interictal discharges.

низация. С помощью программы Spike 2 электрическая активность переводилась в электронные таблицы. Определялись точки экстремума интериктальных спайков — самой нижней точки острого пика (рис. 1 (а) стрелки).

Временная задержка между моментами возникновения интериктальных разрядов в точках коры, находящихся на расстоянии 2 мм, определялась как временной интервал между точками экстремума первой фазы интериктальных разрядов с помощью вертикальных курсоров 1 и 2 (на рис. 1 (а)). Длительность медленной волны интериктального разряда, следующей после пика, (заштрихованные области на рис. 1 (б)), определялась в мил-

лисекундах равной длине отрезка на середине амплитуды посредством горизонтальных курсоров 3 и 4 (на рис. 1 (б)) на пересечении горизонтальных курсоров с линией ЭКоГ (стрелки). Для каждой пары интериктальных разрядов определялось отношение длительности медленной волны интериктального разряда.

Статистическая обработка. С помощью программы статистического анализа Statistica 7 и Excel 10 проводилась обработка полученных данных. Рассчитывались средние величины временной задержки между моментами возникновения интериктального разряда, средние значения длительности медленной волны интериктального разряда для каждого

опыта и распределение по всем опытам. Степень синхронизации между интериктальными разрядами в каждом временном отрезке длительностью от 1 до 2 мин определялась как стандартное отклонение временной задержки между возникновением интериктальных спайков. Чем меньше величина разброса стандартного отклонения, тем сильнее синхронизация. Распределение значений исследованных параметров было проверено на нормальность по критерию Колмогорова–Смирнова (Basic Statistics, раздел Descriptive Statistics). Так как данные не соответствовали критерию нормальности, то для оценки различий между длительностями медленной волны интериктальных разрядов использовали непараметрический критерий Манна–Уитни (Nonparametric Statistics). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Модель обратных связей на программе Neuron. С помощью программы Neuron – симуляционной среды для моделирования отдельных нейронов и сетей (Carnevale, Hines, 2006) – была построена простая симуляционная модель популяции нейронов коры, состоящей из двух простых нейронных сетей, каждая из которых включала 4 возбудительных нейрона и 2 тормозных. Модель была построена на основании функциональных связей (Марченко, Зайченко, 2022). В каждой нейронной сети возбудительные нейроны были связаны между собой, а нейронные сети между собой были связаны обратными тормозными связями.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После блокады ГАМК-А-рецепторов в коре происходит генерация интериктальных разрядов в разных участках коры. Необходимо отметить, что синхронизация возникает не сразу, а через несколько минут. В процессе регистрации активность интериктальных разрядов визуально можно было разделить на три этапа. Вначале эпилептиформные разряды возникают с задержкой в случайном порядке в разных точках коры. На первом этапе спайки в соседних участках коры возникают неодновременно. При этом происходит увеличение их амплитуды за счет одновременной активации элементов в локальной нейронной сети – явление локальной синхронизации. На втором этапе интериктальные разряды возникают как в случайном порядке, так и почти

одновременно в соседних участках коры (рис. 1 (в)). На следующем этапе, после того как в одной точке коры возникает интериктальный разряд, в соседней точке коры происходит генерация интериктального разряда, или с небольшой задержкой, как на рис. 1 (а, б), или одновременно (рис. 1 (г)).

Длительность временной задержки. В условиях синхронизации длительность временной задержки между возникновением интериктальных разрядов в соседних точках коры составляла в среднем в разных опытах от 0 до 66 мс и сильно различалась у разных животных (рис. 2 (а)). При этом наблюдались два типа временных задержек. В некоторых экспериментах разряды возникали с задержкой от 0 до 2.7 мс (рис. 3 (б)), а в других опытах задержка составляла от 2.7 до 66 мс (рис. 2 (б)). Существенно, что в отсутствие синхронизации (случайное возникновение интериктальных разрядов) временная задержка между интериктальными разрядами была больше 70 мс и в некоторых случаях составляла несколько секунд.

Синхронизация. Стандартное отклонение величины временной задержки между моментами возникновения интериктальных разрядов в точках коры, находящихся на расстоянии 2 мм, было выбрано в качестве количественного критерия синхронизации в отрезках длительностью до 2 минут. Этот показатель в индивидуальных опытах уменьшался от 1500 в период отсутствия синхронизации до минимального значения 0.7 (рис. 2 (г)), когда синхронизация была максимальной. Критерием полной синхронизации в отрезке ЭКОГ являлось наличие только пар интериктальных разрядов и отсутствие одиночных разрядов. Это совпадало с моментом, когда каждому интериктальному разряду в одной точке коры соответствовал интериктальный разряд в другой. Если же разряды возникали не по парам, то стандартное отклонение было значительно больше. Как видно на рис. 2 (в), в одном опыте в точке ноль (не представлена на рисунке) значение стандартного отклонения было 1215, 28 – в точке 1, и в точке 3 – 11.2. В точках 4, 5, 6, 7 величина стандартного отклонения временной задержки была минимальной (полная синхронизация) и незначительно колебалась в течение длительного времени, и на рис. 2 (в) это выглядит как плато.

Степень синхронизации (величина стандартного отклонения) на первом и на втором этапах составляла в среднем 488. Минималь-

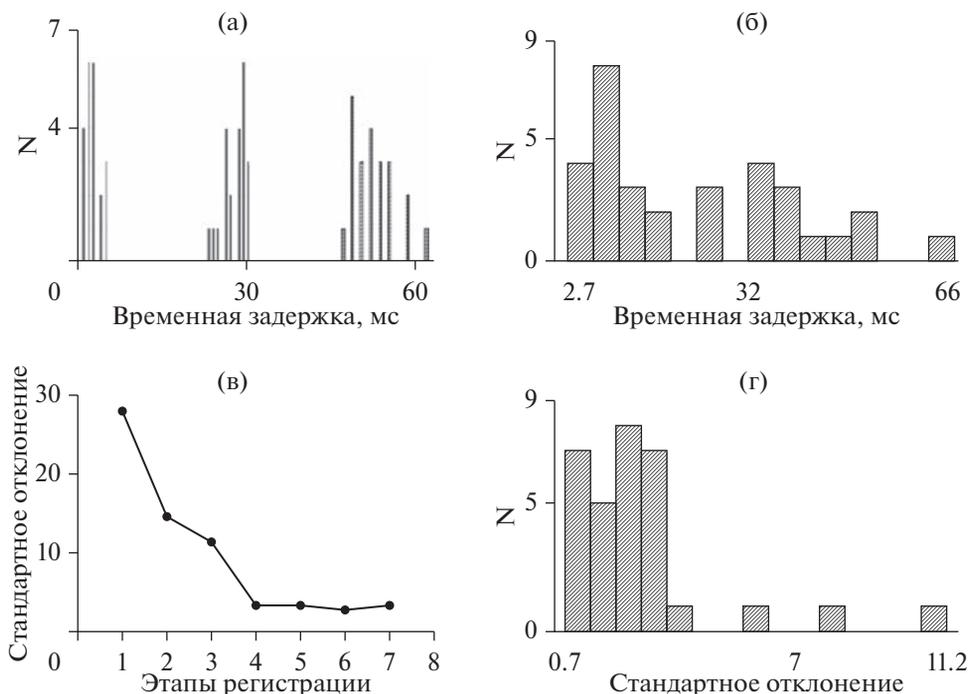


Рис. 2. Временная задержка между возникновением интериктальных разрядов и стандартное отклонение временной задержки. (а) – примеры распределения временных задержек в двухминутных отрезках в 3 опытах. (б) – распределение средних величин временной задержки в условиях синхронизации во всех опытах (12). (в) – изменение стандартного отклонения (степени синхронизации) во время проведения одного опыта. (г) – распределение величины стандартного отклонения по всем опытам в условиях синхронизации.

Fig. 2. Time delay between the occurrence of interictal discharges and the standard deviation of the time delay. (а) – distribution of the time delays in two-minute intervals in three experiments. (б) – distribution of the mean values of the delays under synchronization conditions. (в) – change in the standard deviation (degree of synchronization) during the experiment. (г) – distribution of the value of the standard deviation over the experiments under synchronization conditions.

ное значение 14, максимальное 1583 (полное отсутствие синхронизации). На третьем этапе в условиях полной синхронизации среднее значение для всех опытов составляло 2.6, а диапазон значений, в котором наблюдалась сильная синхронизация, составлял от 0.7 до 11.2 (рис. 2 (г)).

Общий вход. В некоторых опытах были получены результаты, показывающие одинаковые параметры возникновения интериктальных разрядов. В этих случаях величины задержки были близки к нулевым значениям – интериктальные разряды возникали или одновременно, или с очень короткой задержкой, в среднем менее 2.7 мс (рис. 3 (б)). При этом степень синхронизации была минимальной – значения стандартного отклонения (мера рассеивания от средней) колебались от 0.5 до 1.7 (рис. 3 (а)). Важным свойством интериктальных разрядов, возникающих с очень короткой времен-

ной задержкой, являлась одинаковая длительность медленной волны интериктального разряда. Это хорошо показывает отношение длительности медленной волны в одной точке коры к другой, которое было около единицы, разница этих величин была близка к погрешности измерения (рис. 3 (в)). Необходимо отметить, что величина временной задержки между моментами возникновения интериктальных разрядов в соседних точках коры и отношение длительностей второй фазы, как правило, существенно увеличивалось в процессе регистрации в одном опыте (рис. 3 (г)). Это говорит о том, что если в начале регистрации интериктальные разряды в соседних нейронных сетях инициируются из одного источника, то со временем функция генератора переходит к одной из соседних нейронных сетей в результате изменения нейронных связей в коре.

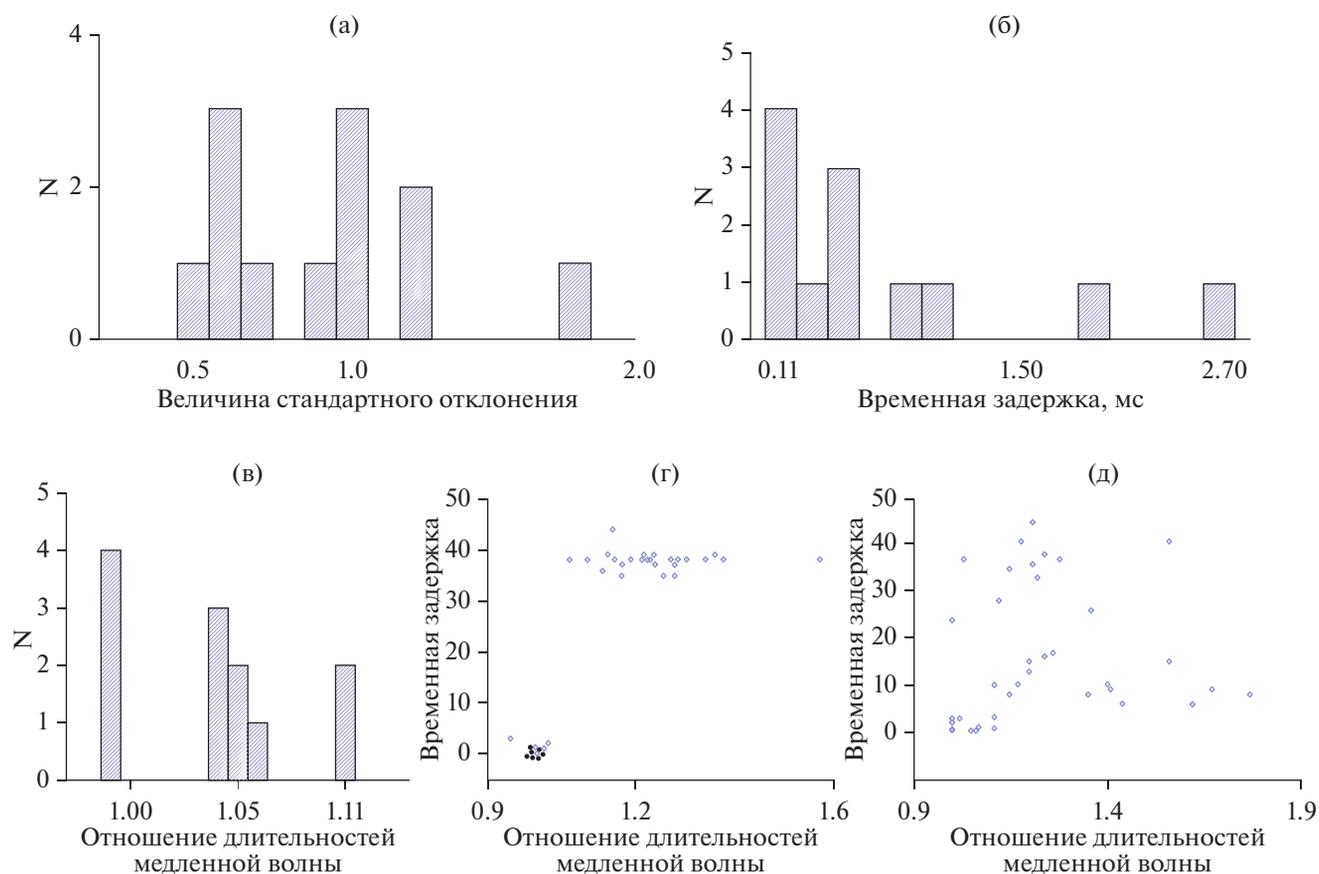


Рис. 3. Параметры синхронизации при коротких временных задержках между возникновением интериктальных разрядов (до 3 мс). (а) – распределение значений стандартного отклонения (степени синхронизации). (б) – распределение величины временной задержки. (в) – отношение длительностей медленной волны интериктального разряда в 2 точках коры, расположенных на расстоянии 2 мм. (г) – гистограмма рассеивания значений отношений длительности медленной волны интериктального разряда в точке 1 (генератор) к длительности в точке 2 (ведомый) к временной задержке в этих точках коры в течение всего опыта от начала (точки в левом нижнем углу) до конца (точки вверху) одного опыта. (д) – то же, что и на (г), но для всех случаев с короткой временной задержкой по средним значениям.

Fig. 3. Synchronization parameters for short time delays between the occurrence of interictal discharges. (а) – distribution of the standard deviation values (degree of synchronization). (б) – distribution of the time delay value. (в) – ratio of durations of slow wave interictal discharges in cortical points at a distance of 2 mm. (г) – histogram of scatter values of the ratio of the duration of the slow wave of interictal discharge in point 1 (generator) to the duration in point 2 (slave) to the time delay in these cortical points at the beginning and end of one experiment. (д) – the same as in (г), but for all experiments with a short time delay.

Переход функции генератора к соседней нейронной сети влечет за собой изменение свойств медленной волны интериктальных разрядов. Отношение величин их длительностей у каждого животного (как правило) значительно меняется с увеличением временной задержки между возникновением интериктальных разрядов (рис. 3 (д)).

Свойства интериктальных разрядов в отсутствие синхронизации. Существенный интерес для нас представляли свойства интериктальных разрядов в ситуации, когда отсутствовала связь между соседними нейронными сетями

или она была неустойчивой, когда интериктальные разряды возникли как отдельно, так и с большой задержкой. Определение степени синхронизации в этой ситуации (проведенное формально и служащее контролем для сравнения с периодом полной синхронизации) показало, что этот показатель (стандартное отклонение) находился в диапазоне от 14 до 1583 (рис. 4 (а)). Средние величины длительности медленной волны интериктального разряда в одной точке коры (1) находились в диапазоне от 23 до 55 мс, а в другой (2) от 29 до 51 мс (рис. 4 (б)), соответственно, и

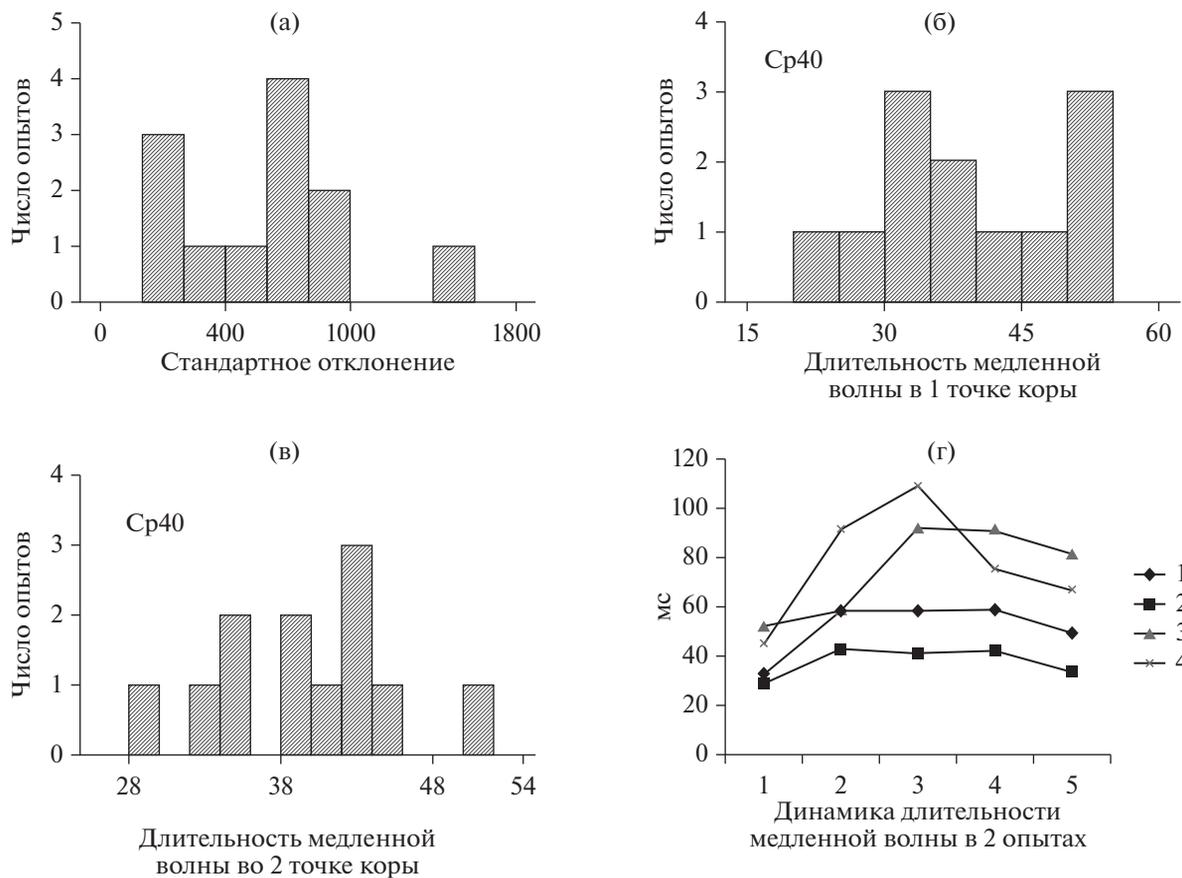


Рис. 4. Параметры синхронизации и длительности медленных фаз без синхронизации между интериктальными разрядами в 2 точках коры в 12 опытах. (а) – распределение величины стандартного отклонения временной задержки при отсутствии синхронизации. (б) – распределение длительностей медленной волны в точке 1 (генератор). (в) – распределение длительностей медленной волны в точке 2 (ведомый). (г) – изменение длительности медленной волны в течение эксперимента в 2 опытах (1, 2 и 3, 4 соответственно) в двух точках коры.

Fig. 4. Parameters of synchronization and durations of slow phases without synchronization between interictal discharges in 2 cortical points in 12 experiments. (a) – distribution of the value of the standard deviation of the time delay in the absence of synchronization. (б) – distribution of slow wave durations at point 1 (oscillator). (в) – distribution of slow wave durations in point 2 (slave). (г) – distribution of slow wave durations during the experiment in 2 experiments (1, 2 and 3, 4, respectively) at two points of the cortex.

средние значения были одинаковы – 40 мс. Существенно, что с увеличением синхронизации длительность медленной волны существенно увеличивалась в каждом опыте, как в 1-й, так и во 2-й точках коры (рис. 4 (г)). Хотя через какое-то время этот показатель начал уменьшаться.

Длительность медленной волны интериктального разряда. В процессе регистрации происходило увеличение длительности медленной волны интериктального разряда как в одной точке коры, так и в другой, находящейся на расстоянии 2 мм. Это наглядно показы-

вает отношение длительности медленной волны интериктального разряда в условиях синхронизации к ее длительности на этапе отсутствия синхронизации как в 1-й, так и во 2-й точках коры. В некоторых опытах длительность медленной волны при синхронизации была почти в 3 раза длиннее, чем при отсутствии синхронизации (рис. 5 (а, б)). Так, в условиях синхронизации максимальная средняя длительность медленной волны интериктального разряда для каждого опыта была длиннее в 1.43–2.77 раз в одной точке коры, в среднем в 1.78 раз (рис. 5 (а)), в другой – в

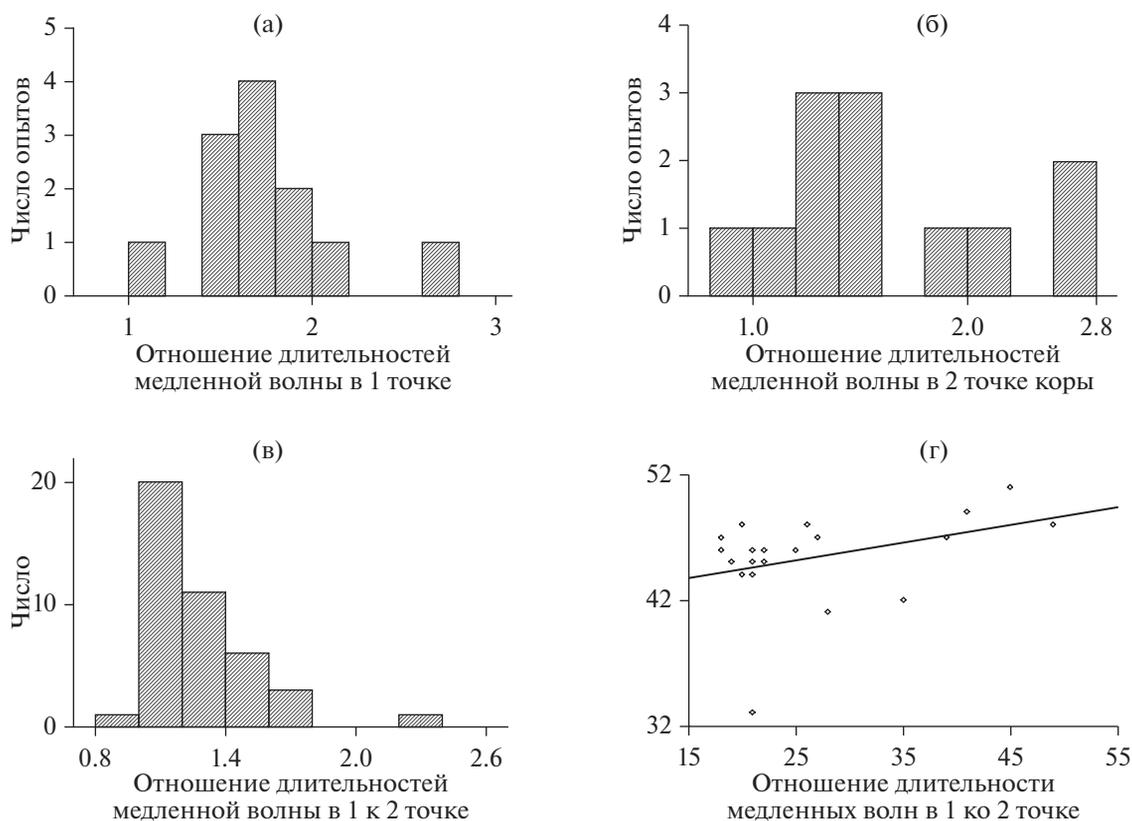


Рис. 5. Параметры длительности медленной фазы интериктального разряда. (а) — отношение средних значений длительности медленных фаз в каждом опыте в условиях сильной синхронизации и при ее отсутствии (контроль) в 1-й точке коры (генератор). (б) — то же, что и на (а), но во 2-й точке. (в) — отношение средних значений длительности медленных фаз в условиях сильной синхронизации между двумя точками коры во всех опытах. (г) — гистограмма рассеивания длительностей медленной фазы в точке 1 (ордината) и точке 2 (абсцисса) коры в одном опыте.

Fig. 5. Parameters of the slow phase duration of the interictal discharge. (a) — ratio of average values of slow phase duration in each experiment under conditions of strong synchronization and in its absence in the 1st point of the cortex (generator). (б) — the same as in (a), but in the 2nd point. (в) — ratio of average values of slow phases duration in conditions of strong synchronization between two points of the cortex in all experiments. (г) — histogram of dispersion of slow phase durations at point 1 (ordinate) and point 2 (abscissa) of the cortex in one experiment.

1.0–2.43 раз, в среднем в 1.63 раз (рис. 5 (б)), по сравнению с длительностью на начальном этапе при отсутствии синхронизации. Длительности медленных волн достоверно различались по критерию Mann–Whitney U test с $p = 0.002$ и $p = 0.003$ в одной и другой точке коры соответственно. Самым важным результатом работы является то, что в условиях полной синхронизации длительность медленной волны в точке коры, в которой интериктальный разряд генерируется первым, существенно длиннее по сравнению с точкой, в которой разряд возникал с задержкой. Как показали наши результаты, отношение длительности медленной волны в точке генерации к длительности во второй точке было от

1.0 до 1.77 (рис. 5 (в)) и достоверно различалось с $p < 0.0001$. Особенно наглядно это видно на диаграмме рассеивания, на которой представлено сравнение этих показателей в одном опыте (рис. 5 (г)).

Исследования на симуляционной модели в среде “NEURON” роли обратных тормозных связей в синхронизации нейронной активности показали, что в процессе работы модели спайки генерировались в обеих нейронных сетях. Синхронизация между сетями происходила только тогда, когда активировалась тормозная обратная связь между ними. В отсутствие обратной тормозной связи синхронизация между спайками не возникала.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основными результатами нашей работы являются:

1. После нанесения блокатора ГАМК-А-рецепторов пенициллина по мере усиления синхронизации между интериктальными разрядами происходит удлинение медленной волны во всех точках коры. Существенно, что в тех опытах, в которых наблюдалась временная задержка между возникновением интериктальных разрядов, длительность медленной волны в интериктальном разряде, возникшем первым (генератор), была достоверно длиннее, чем в соседнем.

2. Если задержка была минимальной, то длительности медленной волны были практически одинаковыми (контроль).

3. Известно на основании работ, сделанных в предпоследней декаде прошлого века, что после блокады ГАМК-А-рецепторов основным действующим лицом гиперполяризации являются ГАМК-Б-рецепторы. Тормозные ГАМК-ергические нейронные сети являются основными участниками интериктальных спайков в CA1 (Muldoon et al., 2015). В исследованиях на срезах гиппокампа с использованием блокатора ГАМК-А-рецепторов пенициллина было определено, что после гиперполяризация нейрона содержала компоненты, определяемые ГАМК-Б-рецепторами и кальций-зависимыми калиевыми токами (Domann et al., 1991). В моторной коре *in vivo* с применением пенициллина медленная послегиперполяризация включала в себя медленный кальций-зависимый калиевый ток и синаптический ГАМК-Б-ответ. После применения ЭГТА (EGTA) послегиперполяризация в клетках моторной коры была немного короче, чем в контрольных условиях. Эти эксперименты предполагают, что медленная послегиперполяризация частично определяется кальций-зависимыми калиевыми токами (Witte, 1994). Было показано, что во многих областях мозга поздняя фаза гиперполяризации отражает постсинаптическую активацию ГАМК-Б-рецепторов. Медленный ТПСР имеет свойства, сходные с ответом, вызванным активацией ГАМК-Б-рецепторов. ГАМК-Б-рецепторы опосредуют медленный ТПСР, который блокируется антагонистом ГАМК-Б-рецепторов факлофеном (Nicoll et al., 1990). Применение антагониста ГАМК-Б-рецепторов CGP55845A блокировало все моносинаптические поздние IPSP в

пирамидных нейронах среза гиппокампа (Pham et al., 1998). Такие же исследования проводились на коре. В коре интериктальные спайки завершались большим постпотенциалом, блокированным внеклеточным применением факлофена и саклофена. В контрольных условиях, до введения бикуккуллина, саклофен и факлофен также полностью отменяли поздний тормозной постсинаптический потенциал, опосредованный ГАМК-Б-рецепторами (de Curtis et al., 1999). На срезах гиппокампа мышей при применении бикуккуллина максимальное уменьшение длительности гиперполяризации в гранулярных клетках гиппокампа происходит при применении блокатора ГАМК-Б-рецепторов CGP 55845 (Mircheva et al., 2010).

Детальный анализ данных об обратных тормозных анатомических и функциональных связях в коре и роли ГАМК-Б-рецепторов в механизмах синхронизации интерикальных разрядов дан на основании экспериментальных и теоретических работ (Марченко, Зайченко, 2022). Самым вероятным механизмом синхронизации интерикальных разрядов в условиях блокады ГАМК-А-рецепторов являются тормозные обратные связи посредством ГАМК-Б-рецепторов.

Результаты нашей работы также показали, что в условиях блокады ГАМК-А-рецепторов существует два типа синхронизации интерикальных разрядов в коре мозга крыс, в которых принимает непосредственное участие торможение посредством ГАМК-Б-рецепторов. Исходя из литературных данных, известных в настоящее время (Марченко, Зайченко, 2022), можно сделать вывод, что механизмы синхронизации в нейронных сетях неокортекса обеспечиваются коротким временным окном интеграции, которое создается и обратным торможением.

В некоторых наших опытах в условиях полной синхронизации интерикальные разряды возникали одновременно (с задержкой 0 мс) или при минимальной задержке не более 3 миллисекунд в точках коры, расположенных на расстоянии 2 мм. Характерно, что длительности медленной волны интерикального разряда у них были почти одинаковые. Короткая временная задержка между разрядами в соседних точках коры наиболее вероятно связана с тем, что пространственная синхронизация нейронов в разных областях коры может создаваться, когда на общий возбуждающий вход пирамидных нейронов

одновременно подаются сигналы от сенсорных структур или других областей коры, или от таламуса, через активацию ГАМК-В-рецепторов и создание временного окна интеграции (Chittajallu et al., 2013). Таким же образом создается синхронизация спайк-волны разрядов в таламокортикальных нейронных сетях с помощью обратных связей и созданием временных окон интеграции (Terlau et al., 2020).

Синхронизация активности соседних возбуждающих клеток и интернейронов может происходить в результате стимуляции общего входа. Действительно, стимуляция пирамидных клеток слоя 2/3 вызывала синхронные ВПСП с постоянной латентностью в обеих клетках в паре пирамида/интернейрон, имеющих обратные связи друг с другом. Причем связи между пирамидными и тормозными клетками более эффективны при наличии обратной связи (Otsuka, Kawaguchi, 2009). Отметим, что длительности медленной волны интериктального разряда в нашей работе в двух соседних точках коры были или одинаковые, или близкие по величине. Можно предположить, что при этом действовали обратные связи между пирамидными нейронами и интернейронами, как было показано в экспериментальных работах (Otsuka, Kawaguchi, 2009; Terlau et al., 2020).

Обратное торможение является обязательным параметром синхронизации интериктальных разрядов. Наше исследование показало, что в период, когда интериктальные разряды возникали спонтанно, то есть не были синхронизированы в соседних точках коры, длительность их медленной волны (торможения) была одинаковой и короткой. В условиях максимальной синхронизации интериктальные разряды сначала возникали в одной точке коры (генератор), а затем в соседних точках с задержкой. При этом наблюдалось увеличение длительности медленной волны интериктального разряда в точке коры, в которой разряд возник раньше (генератор) по сравнению с соседней точкой. Можно предположить с большой долей уверенности, что это происходит вследствие действия обратных тормозных связей между этими нейронными сетями коры таким же образом, как ранее было показано в экспериментальных работах. Так, синхронизация пирамидных нейронов осуществлялась посредством обратных тормозных связей при стимуляции интернейронов (Hilscher et al., 2017). Посредством обратного торможения разных типов

интернейронов в условиях наибольшей синхронизации увеличение длительности торможения происходит вследствие того, что на медленную волну интериктального разряда генератора, которая является тормозной фазой, добавляется торможение, инициируемое от соседней точки коры по обратным связям (Morishima et al., 2017).

Предполагалось, что наиболее вероятным механизмом синхронизации интериктальных спайков в нейронных сетях коры является создание с помощью торможения узкого временного окна, в течение которого возможна активность нейронов (Muldoon et al., 2015) и, соответственно, их интеграция, отражением которой и является синхронизация. Временное окно синхронизации создается за счет обратных тормозных связей соматостатиновых и парвальбуминовых интернейронов неокортекса (Jang et al., 2020) и клеток Мартинонги в гиппокампе (Simonnet et al., 2017).

Как показали наши опыты, при случайном возникновении интериктальных разрядов сразу после блока ГАМК-А-рецепторов (отсутствие синхронизации) длительность второй фазы интериктального разряда была короткой и отличалась в разных точках коры. Необходимо отметить, что временное окно в наших опытах создавалось постепенно с момента блока ГАМК-А-рецепторов в течение нескольких минут. В локальных нейронных сетях это отражалось в увеличении амплитуды интериктального спайка (возбуждающей фазы) интериктального разряда, и таким образом наблюдалась локальная синхронизация. В то же время происходило создание временного окна в удаленных нейронных сетях и усиление степени пространственной синхронизации.

Результаты, полученные на симуляционной модели, также показали, что для синхронизации активности в простых нейронных сетях необходима обратная тормозная связь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение длительности медленной волны интериктального разряда (тормозной фазы) в условиях усиления синхронизации и большая ее длительность в точке генерации по сравнению с длительностью в соседней точке, а также возникновение интериктального разряда с существенной временной задержкой в условиях полной синхронизации в соседней точке свидетельствуют об участии

обратного торможения в механизмах синхронизации в нейронных сетях коры крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Марченко В.Г., Зайченко М.И. Динамика пространственной синхронизации эпилептиформных разрядов в неокортексе крыс. Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2015. 65 (1): 113–125.
- Марченко В.Г., Рысакова М.П., Зайченко М.И. Распространение внутренних электрических полей как возможный механизм синхронизации интериктальных спайков в неокортексе крыс. Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2018. 68 (2): 250–262.
- Марченко В.Г., Зайченко М.И. ГАМК Б торможение через обратные связи участвует в синхронизации интериктальных спайков в коре. Успехи физиологических наук. 2022. 53 (1): 1–24.
- Amakhin D.V., Ergina J.L., Chizhov A.V., Zaitsev A.V. Synaptic conductances during interictal discharges in pyramidal neurons of rat entorhinal cortex front. Cell. Neurosci. 2016. 10: 233.
- Bink H., Sedigh-Sarvestani M., Fernandez-Lamo I., Kini L., Ung H., Kuzum D., Vitale F., Litt B., Contreras D. Spatiotemporal evolution of focal epileptiform activity from surface and laminar field recordings in cat neocortex. J. Neurophysiol. 2018. 119 (6): 2068–2081.
- Chittajallu R., Pelkey K.A., McBain C.J. Neurogliaform cells dynamically regulate somatosensory integration via synapse-specific modulation. Nat. Neurosci. 2013. 16 (1): 13–15.
- Connors B.W. Synchrony and so much more: Diverse roles for electrical synapses in neural circuits. Dev Neurobiol. 2017. 77 (5): 610–624.
- de Curtis M., Avoli M. GABAergic networks jump-start focal seizures. Epilepsia. 2016. 57 (5): 679–687.
- de Curtis M., Radici C., Forti M. Cellular mechanisms underlying spontaneous interictal spikes in an acute model of focal cortical epileptogenesis. Neuroscience. 1999. 88 (1): 107–117.
- Ding L., Satish S., Zhou C., Gallagher M.J. Cortical activation in generalized seizures. Epilepsia. 2019. 60 (9): 1932–1941.
- Domann R., Dorn T., Witte O.W. Afterpotentials following penicillin-induced paroxysmal depolarizations in hippocampal pyramidal cells in vitro. Pflügers Arch. 1991. 417: 469–478.
- Gerrard L.B., Tantirigama M.L.S., Bekkers J.M. Pre- and Postsynaptic Activation of GABA B Receptors Modulates Principal Cell Excitation in the Piriform Cortex. Front Cell Neurosci. 2018. 12: 28.
- Gibson J.R., Beierlein M., Connors B.W. Functional properties of electrical synapses between inhibitory interneurons of neocortical layer 4. J. Neurophysiol. 2005. 93 (1): 467–80.
- Gray C.M., Singer W. Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1989. 86 (5): 1698–702.
- Hilscher M.M., Leão R.N., Edwards S.J., Leão K.E., Kullander K. ChRNA2-Martinotti cells synchronize layer 5 type a pyramidal cells via rebound excitation. PLoS Biol. 2017. 15 (2): e2001392.
- Isaacson J.S., Scanziani M. How inhibition shapes cortical activity. Neuron. 2011. 72 (2): 231–243.
- Jang H.J., Chung H., Rowland J.M., Richards B.A., Kohl M.M., Kwag J. Distinct roles of parvalbumin and somatostatin interneurons in gating the synchronization of spike times in the neocortex. Sci. Adv. 2020. 6 (17): eaay5333.
- Jurado-Parras M.T., Delgado-García J.M., Sánchez-Campusano R., Gassmann M., Bettler B., Gruart A. Presynaptic GABAB receptors regulate hippocampal synapses during associative learning in behaving mice. PLoS One. 2016. 11 (2): e0148800.
- Khazipov R. GABAergic Synchronization in Epilepsy. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016. 6 (2): a022764.
- Knoblich U., Huang L., Zeng H., Li L. Neuronal cell-subtype specificity of neural synchronization in mouse primary visual cortex. Nat. Commun. 2019. 10 (1): 2533.
- Köhling R., D'Antuono M., Benini R., de Guzman P., Avoli M. Hypersynchronous ictal onset in the perirhinal cortex results from dynamic weakening in inhibition. Neurobiol. Dis. 2016. 87: 1–10.
- Knowles W.D., Schneiderman J.H., Wheal H.V., Stafstrom C.E., Schwartzkroin P.A. Hyperpolarizing potentials in guinea pig hippocampal CA3 neurons. Cell Mol Neurobiol. 1984. 4 (3): 207–230.
- Kubista H., Boehm S., Hotka M. The paroxysmal depolarization shift: reconsidering its role in epilepsy. Epileptogenesis and Beyond. Int. J. Mol. Sci. 2019. 20 (3): 577.
- Lévesque M., Biagini G., Avoli M. Neurosteroids and Focal Epileptic Disorders. Int. J. Mol. Sci. 2020. 21 (24): 9391.
- Lévesque M., Ragsdale D., Avoli M. Evolving mechanistic concepts of epileptiform synchronization and their relevance in curing focal epileptic disorders. Curr. Neuropharmacol. 2019. 17 (9): 830–842.
- Li Q., Li Q.-Q., Jia J.-N., Liu Z.-Q., Zhou H.-H., Mao X.-Y. Targeting gap junction in epilepsy: Perspectives and challenges. Biomed Pharmacother. 2019. 109: 57–65.
- Mircheva Y., Peralta M.R. 3rd, Tóth K. Interplay of entorhinal input and local inhibitory network in the hippocampus at the origin of slow inhibition in granule cells. J. Neurosci. 2019. 39 (33): 6399–6413.
- Morishima M., Kobayashi K., Kato S., Kobayashi K., Kawaguchi Y. Segregated excitatory-inhibitory recurrent subnetworks in layer 5 of the rat frontal cortex. Cereb. Cortex. 2017. 27 (12): 5846–5857.
- Muldoon S.F., Villette V., Tressard T., Malvache A., Reichinnek S., Bartolomei F., Cossart R. GABAergic inhibition shapes interictal dynamics in awake epileptic mice. Brain. 2015. 138 (Pt 10): 2875–2890.
- Nicoll R.A., Malenka R.C., Kauer J.A. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. Physiol Rev. 1990. 70 (2): 513–565.
- Otsuka T., Kawaguchi Y. Cortical inhibitory cell types differentially form intralaminar and interlaminar subnetworks with excitatory neurons. J. Neurosci. 2009. 29 (34): 10533–40.

- Paxinos G., Watson C.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. San Diego: Academic Press, 1998.
- Pham T.M., Nurse S., Lacaille J.C.* Distinct GABAB actions via synaptic and extrasynaptic receptors in rat hippocampus in vitro. *J. Neurophysiol.* 1998. 80 (1): 297–308.
- Ridler T., Matthews P., Phillips K.G., Randall A.D., Brown J.T.* Initiation and slow propagation of epileptiform activity from ventral to dorsal medial entorhinal cortex is constrained by an inhibitory gradient. *J. Physiol.* 2018. 596 (11): 2251–2266.
- Serrats J., Cunningham M. O., Davies C. H.* GABA B receptor modulation-to B or not to be B a prognostic medicine? *Curr. Opin. Pharmacol.* 2017. 35: 125–132.
- Simonnet J., Nassar M., Stella F., Cohen I., Mathon B., Boccara C. N., Miles R., Fricker D.* Activity dependent feedback inhibition may maintain head direction signals in mouse presubiculum. *Nat. Commun.* 2017. 8: 16032.
- Terlau J., Yang J.-W., Khastkhodaei Z., Seidenbecher T., Luhmann H.J., Pape H.-C., Lüttjohann A.* Spike-wave discharges in absence epilepsy: segregation of electrographic components reveals distinct pathways of seizure activity. *J. Physiol.* 2020. 598 (12): 2397–2414.
- Trevelyan A.J.* Do cortical circuits need protecting from themselves? *Trends Neurosci.* 2016. 39 (8): 502–511.
- Wang Y., Neubauer F.B., Lüscher H.R., Thurley K.* GABAB receptor-dependent modulation of network activity in the rat prefrontal cortex in vitro. *Eur. J. Neurosci.* 2010. 31 (9): 1582–1594.
- Wang G., Wu X.* The potential antiepileptogenic effect of neuronal Cx36 gap junction channel blockage. *Transl. Neurosci.* 2021. 12(1): 46–51.
- Witte O.W.* Afterpotentials of penicillin-induced epileptiform neuronal discharges in the motor cortex of the rat in vivo. *Epilepsy Res.* 1994. 18 (1): 43–55.
- Yekhlef L., Breschi G.L., Lagostena L., Russo G., Taverna S.* Selective activation of parvalbumin- or somatostatin-expressing interneurons triggers epileptic seizure like activity in mouse medial entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.* 2015. 113 (5): 1616–30.
- Zheng Yu., Zhang K., Dong L., Tian C.* Study on the mechanism of high-frequency stimulation inhibiting low-Mg²⁺-induced epileptiform discharges in juvenile rat hippocampal slices. *Brain Res Bull.* 2020. 165: 1–13.

REVERSE INHIBITORY CONNECTIONS THROUGH GABA B-RECEPTORS SYNCHRONIZE INTERICTAL DISCHARGES IN THE CORTEX

V. G. Marchenko^{a, #} and M. I. Zaichenko^{a, ##}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: vgmarchenko3@gmail.com*

^{##}*e-mail: mariya-zajchenko@yandex.ru*

Modern experimental data show that interictal discharges consist of a short spike and a slow wave, which is regarded as a prolonged hyperpolarization. On the model of interictal discharges synchronization, a study of reciprocal inhibitory connections was carried out. In rats in light narcotic sleep, after application of GABA A-receptor blockers to the cortex, interictal discharges occurred in neighboring cortical areas independently of each other, and then synchronization occurred. In the experiments in which the interictal discharges occurred simultaneously, the durations of the slow wave (inhibitory phase) were the same. During the registration in these and other experiments, there was an increase in the time delay between the moments of interictal discharges generation. Under conditions of increased synchronization, the duration of the slow wave (inhibitory phase) of interictal discharges increased. Interictal discharges, which occurred first, had a longer duration of inhibition compared to the duration in the neighboring point, because the inhibition from the neighboring networks via feedback inhibitory connections is added to its own inhibition in the neuronal network. When excitation occurred, it was followed by inhibition via feedback, which limited the period of excitation, and thus created a temporary integration window, and this also happened in the neighboring neural networks of the cortex.

Keywords: synchronization, interictal discharges, GABA B-receptors, reverse inhibitory connections

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 612.822+615.21+591.18+591.513

САЛИФЕН ПРЕДОТВРАЩАЕТ ВЫЗВАННЫЕ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ
ГИПОКСИЕЙ НАРУШЕНИЯ СПОСОБНОСТИ К ОБУЧЕНИЮ
И ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГАМК_B-РЕЦЕПТОРОВ
В НЕОКОРТЕКСЕ КРЫС

© 2023 г. В. И. Миронова¹, А. В. Притворова¹ *, В. К. Акулова¹, В. А. Михайленко¹,
В. А. Отеллин¹, Л. И. Хожай¹, Н. Э. Ордян¹

¹ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: pritvorovaav@infran.ru

Поступила в редакцию 30.12.2022 г.

После доработки 30.12.2022 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

В работе изучали последствия воздействия острой нормобарической гипоксии в раннем постнатальном периоде развития (2-е постнатальные сутки) на способность к обучению и экспрессию ГАМК_B-рецепторов в неокортексе (медиальной префронтальной коре) крыс подросткового возраста (55–60-е постнатальные сутки), а также возможность коррекции выявленных нарушений отечественным препаратом салифеном – производным ГАМК. Показано, что перинатальная гипоксия ухудшает формирование и сохранение памятного следа в тестах “распознавание нового объекта” и “условный рефлекс пассивного избегания”, а также снижает способности к пространственному обучению в тесте “водный лабиринт Морриса”. Анализ результатов Вестерн-блоттинга показал увеличение количества белка ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной области неокортекса крыс, подвергавшихся перинатальной гипоксии. Введение салифена в течение 14 суток после гипоксического воздействия в дозе 15 мг/кг улучшало когнитивные способности крыс, а также нормализовало уровень экспрессии белка ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной коре крыс. Результаты данного исследования представляют интерес для решения прикладной задачи неонатологии – поиска эффективных средств для фармакологической коррекции последствий перинатальной гипоксии.

Ключевые слова: перинатальная гипоксия, ГАМК_B-рецепторы, медиальная префронтальная кора, память и обучение, салифен, крысы Вистар

DOI: 10.31857/S0044467723040081, EDN: WHMWYZ

Пренатальное развитие – критически важный период формирования структур мозга, вовлеченных в когнитивные функции, включая память и обучение. Любые нарушения этого процесса могут привести к изменению функционирования нейронных сетей, имеющему долгосрочные последствия (Babenko et al., 2015; Desplats, 2015). Наиболее частой причиной патологии развития головного мозга является гипоксия-ишемия плода и новорожденного (Пальчик, Шабалов, 2006). К настоящему времени накоплен большой массив данных в клинической практике и фундаментальной науке о последствиях гипоксии/ишемии плода и новорожденного, включающих чрезвычайно широкий спектр

нарушений структуры и функций головного мозга, которые проявляются в виде моторных, психических и когнитивных отклонений в последующем онтогенезе и определяются как перинатальная энцефалопатия (Володин и др., 2001; Семченко и др., 1999; Nalivaeva et al., 2018; Zhuravin et al., 2019). Понимание механизмов формирования патологических состояний развивающегося мозга вследствие перенесенной перинатальной гипоксии важно для разработки стратегий фармакотерапии данных аномалий развития, поскольку в настоящее время в реестре лекарственных препаратов отсутствуют средства для фармакологической коррекции структурных повреждений мозга, являющихся последствием воздействия гипоксии в

ранний послеродовой период. Исследования в моделях на животных дают бесспорные преимущества для решения этой задачи.

Установлено, что перинатальная гипоксия провоцирует пролонгированную гибель нейронов и последующее сокращение численности популяций нейронов в разных областях неокортекса (Моргун и др., 2013; Отеллин и др., 2012; Nalivaeva et al., 2018; Northington et al., 2011; Реѝа, Ramirez, 2005), причем особо уязвима к гипоксии популяция ГАМК-ергических нейронов (Хожай, Отеллин, 2014; Louzoun-Kaplan et al., 2008; Nisimov et al., 2018; Robinson et al., 2006). В развивающемся мозге γ -аминомасляная кислота (ГАМК) является основным нейромедиатором, а ГАМК-ергическая трансмиссия играет принципиальную роль в регуляции нейро- и синаптогенеза на ранних стадиях развития (Gaiarsa et al., 2011; Gozlan, Ben-Ari, 2003; Wu, Sun, 2015). Полагают, что спровоцированное гипоксией нарушение ГАМК-ергической трансмиссии в развивающемся мозге может являться одной из причин неврологических отклонений в детском возрасте и впоследствии, во взрослой жизни (Robinson et al., 2006; Van de Berg et al., 2003).

ГАМК реализует свои эффекты через активацию ионотропных ГАМК_A/ГАМК_C- и метаботропных ГАМК_B-рецепторов (Bettler et al., 2004; Macdonald, Olsen, 1994). В последние годы особое внимание уделяется изучению роли так называемых медленных метаботропных ГАМК_B-рецепторов в механизмах памяти и обучения и при нарушении этих процессов, в том числе в результате перинатальной гипоксии (Enna, Bowery, 2004; Heaney, Kinney, 2016; Kumar et al., 2013), а также в связи с разработкой методов фармакологической коррекции постгипоксических повреждений мозга новорожденных. Нарушения функции/активности ГАМК_B-рецепторов сопровождают значительное число неврологических и психиатрических расстройств, а сами рецепторы рассматриваются как мишень для разработки терапевтических подходов к лечению широкого спектра нарушений структуры и функций головного мозга различного генеза (Fritzius, Bettler, 2020; Heaney, Kinney, 2016). Исследования роли ГАМК_B-рецепторов в когнитивных процессах отличает крайняя противоречивость полученных данных, однако все авторы сходятся во мнении, что надлежащее функционирование ГАМК_B-рецепторов — необходимый компонент обучения.

Реакции ГАМК_B-рецепторов на воздействие гипоксии исследованы крайне мало и в основном в гиппокампе, а работы, посвященные изучению роли кортикальных ГАМК_B-рецепторов в постгипоксических нарушениях мозга, в мировой литературе единичны.

В наших предыдущих исследованиях воздействия перинатальной гипоксии на мозг лабораторных животных был обнаружен нейрорепрессивный эффект нового отечественного препарата салифена (Миронова и др., 2019; Отеллин и др., 2016), разработанного на кафедре органической химии Российского педагогического университета им. А.И. Герцена (Васильева и др., 2018). Салифен представляет собой производное ГАМК, композицию γ -амино- β -фенилмасляной (фенибута) и салициловой кислот, является агонистом ГАМК_B-рецепторов и заявлен как “средство, сохраняющее популяцию ГАМК-ергических нейронов после острой перинатальной гипоксии” (Васильева и др., 2018, Lapin, 2001). Также было продемонстрировано корректирующее действие препарата на рефлекторную деятельность и стрессорное поведение крыс, подвергавшихся воздействию перинатальной гипоксии (Ордян и др., 2017, 2019). В настоящей работе мы продолжили исследование эффектов салифена в разработанной нами модели энцефалопатии новорожденных, являющейся следствием воздействия гипоксии в ранний постнатальный период развития.

Целью данной работы было изучение воздействия острой перинатальной гипоксии и последующего применения салифена на когнитивные процессы (память и обучение) и содержание ГАМК_B-рецепторов в образцах нервной ткани неокортекса (медиальной префронтальной коре) у крыс адолесцентного возраста (55–60 дней).

МЕТОДИКА

Работа выполнена на крысах линии Вистар из коллекции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, содержащихся в стандартных условиях вивария без ограничения в доступе к воде и пище. При проведении экспериментов соблюдались требования, сформулированные в Директивах Совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании лабораторных животных. Протоколы опытов были утверждены Комиссией

Таблица 1. Протокол эксперимента
Table 1. The research design

Экспериментальные группы	Постнатальные сутки			
	2	3–16	55	60
Серия 1:		Инъекции:	} Распознавание нового объекта	} УРПИ
Контроль ($n = 6$)	-----	физраствора		
Гипоксия ($n = 6$)	Гипоксия (1 ч)	физраствора		
Гипоксия + салифен ($n = 6$)	Гипоксия (1 ч)	салифена		
Серия 2:		Инъекции:	} Тест Морриса	
Контроль ($n = 8$)	-----	физраствора		
Гипоксия ($n = 8$)	Гипоксия (1 ч)	физраствора		
Гипоксия + салифен ($n = 8$)	Гипоксия (1 ч)	салифена		
Серия 3:		Инъекции:	} Вестерн-блоттинг	
Контроль ($n = 6$)	-----	физраствора		
Гипоксия ($n = 6$)	Гипоксия (1 ч)	физраствора		
Гипоксия + салифен ($n = 6$)	Гипоксия (1 ч)	салифена		

по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Перинатальная гипоксия. Для изучения воздействия острой перинатальной гипоксии на развивающийся мозг ранее нами была разработана клинически и физиологически обоснованная модель энцефалопатии новорожденных с учетом особенностей недоношенных детей (Отеллин и др., 2012, 2015), поскольку степень развития головного мозга двухдневных крысят, подвергавшихся гипоксии в наших экспериментах, по структурно-функциональным показателям соответствует уровню развития мозга у недоношенных детей (Clancy et al., 2001). Непосредственно после рождения число крысят в помете выравнивали, оставляя по 8–10 крысят. В возрасте 2-го постнатального дня крысят случайным образом отбирали из разных пометов в 3 группы по 6–8 животных:

– крысята, подвергавшиеся в барокамере воздействию гипоксии и получавшие подкожные инъекции салифена через сутки после воздействия гипоксии в терапевтической дозе 15 мг/кг в течение 14 дней (группа “гипоксия + салифен”);

– крысята, подвергавшиеся аналогичному гипоксическому воздействию, которым вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме в те же сроки, что и салифен (группа “гипоксия”);

– контрольная группа крысят, которых помещали в барокамеру без гипоксического воздействия на 1 ч, а через сутки вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме в течение 14 дней (группа “контроль”).

Протокол эксперимента представлен в табл. 1. Крысята подвергались воздействию нормобарической гипоксии в барокамере, куда подавалась газовая смесь, содержащая 7.6–7.8% кислорода, 0.15–0.21% углекислого газа, 91.8% азота, при температуре 21.3–23.0°C и нормальном атмосферном давлении (760 мм рт. ст.), как было описано ранее (Отеллин и др., 2012). Длительность воздействия составляла 1 ч. Эксперименты выполнены на самцах. Субстанция салифена любезно предоставлена чл.-корр. РАН И.Н. Тюренковым (Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград). Доза препарата выбрана по результатам предшествующих экспериментальных исследований (Миронова и др., 2019; Отеллин и др., 2016; Тюренков и др., 2012).

Тестирование когнитивных функций проводили у крыс в возрасте 55–60 дней, что соответствует adolescentному периоду развития. Формирование долговременной памяти оценивали в тестах “распознавание нового объекта” и “условный рефлекс пассивного избегания” (УРПИ).

Распознавание нового объекта. Тест основан на естественном стремлении грызунов исследовать новое, используется для исследования внимания, измеряет способность животного обнаруживать изменение в физических свойствах объекта или в его пространственном расположении (Antunes, Biala, 2012). В первый день теста крысу помещали в камеру размером $90 \times 90 \times 50$ см и непрозрачными стенками и в течение 5 мин позволяли исследовать камеру, регистрацию параметров не осуществляли. На следующий день в центре камеры были размещены два одинаковых объекта (A1 и A2) на расстоянии 20 см друг от друга. Крысу помещали на 5 мин в камеру и фиксировали время исследования животным каждого объекта. Через 24 ч знакомый объект (A1) заменяли на новый (B1) и тестирование повторяли. В качестве предъявляемых объектов использовали пирамиды (знакомый объект, A1 и A2) и куб (новый объект, B1). Фиксировали время, затраченное животным на исследование знакомого и нового объекта. Исследованием объекта считали обнюхивание, когда нос животного находился на расстоянии не более 2 см от объекта. Полученные результаты выражались в индексе распознавания (ИР), отражающем отношение времени исследования нового объекта к суммарному времени исследования нового и знакомого объектов. ИР рассчитывался по формуле
$$\text{ИР} (\%) = \left(\frac{N}{N + F} \right) \times 100,$$
 где N – время (с) исследования нового объекта (B1), F – время исследования известного объекта (A1). Уменьшение ИР расценивали как ухудшение когнитивных процессов, поскольку в норме грызуны проводят больше времени рядом с новым объектом, а равное время исследования нового и знакомого объектов свидетельствует о когнитивном дефиците.

Условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ). Камера для выработки УРПИ состояла из двух отсеков, разделенных отверстием с дверцей: светлого (50×50 см) и темного (15×15 см) с электрифицированным полом (Буреш и др., 1991). Перед началом эксперимента животные привыкали к экспериментальной установке в течение 3 дней. На стадии обучения (обусловливания) крысу помещали в светлый отсек, который животное стремилось покинуть в силу врожденного предпочтения грызунами темных и закрытых участков пространства. Сразу же после перехода крысы в темный отсек камеры дверца закрывалась, а животное получало удар током (сила тока 1 мА, частота

50 Гц) длительностью 5 с. Затем животное возвращалось в домашнюю клетку. Воспроизведение УРПИ тестировали через 24 ч после обучения. Для этого крысу вновь помещали в светлый отсек и фиксировали латентный период входа животного в темный отсек камеры. Длительность тестирования составляла 3 мин.

Водный лабиринт Морриса. Способность к пространственному обучению животных анализировали в водном лабиринте Морриса. Мы применяли одну из модификаций теста (Буткевич, Михайленко, 2017; Левина и др., 2018; Vorhees, Williams, 2006). Водный лабиринт представлял собой бассейн диаметром 120 см и высотой 50 см, заполненный водой до уровня 35 см. Температуру воды в бассейне поддерживали на уровне $22 \pm 3^\circ\text{C}$. В бассейне находилась прозрачная платформа диаметром 10 см, скрытая под водой на глубине 1 см. Бассейн был условно разделен на квадранты. В качестве визуальных ориентиров выступали элементы обстановки экспериментального помещения, положение которых оставалось стабильным на протяжении всего времени исследования. Каждая крыса обучалась поиску скрытой платформы, находящейся в одном из квадрантов бассейна. Положение платформы не менялось, точки старта располагались в остальных трех квадрантах, порядок варьировали случайным образом. Эксперименты по пространственному обучению проводили в течение 4 дней. Крыс опускали в воду в одной из стартовых точек по периметру бассейна, выбранных таким образом, чтобы расстояние от них до платформы было приблизительно равным. Регистрировали время нахождения скрытой платформы (латентный период, с). Если крыса была неспособна найти платформу в течение 60 с, она помещалась на платформу принудительно на 20 с. В этом случае латентный период принимали за 60 с. Первые четыре попытки с перерывом между ними в 15 с составляли первый тест. Следующий второй аналогичный тест предъявлялся крысе через четыре мин отдыха в сухой клетке. Анализировали средний латентный период поиска платформы по сумме двух тестов в течение 4 дней обучения.

Вестерн-блоттинг. Уровень белка ГАМК_B-рецепторов в неокортексе определяли методом Вестерн-блоттинга. Животных декапитировали на 55-й постнатальный день, извлекали мозг из черепной коробки, выделяли на льду ткань неокортекса. Образцы содержали медиальную префронталь-

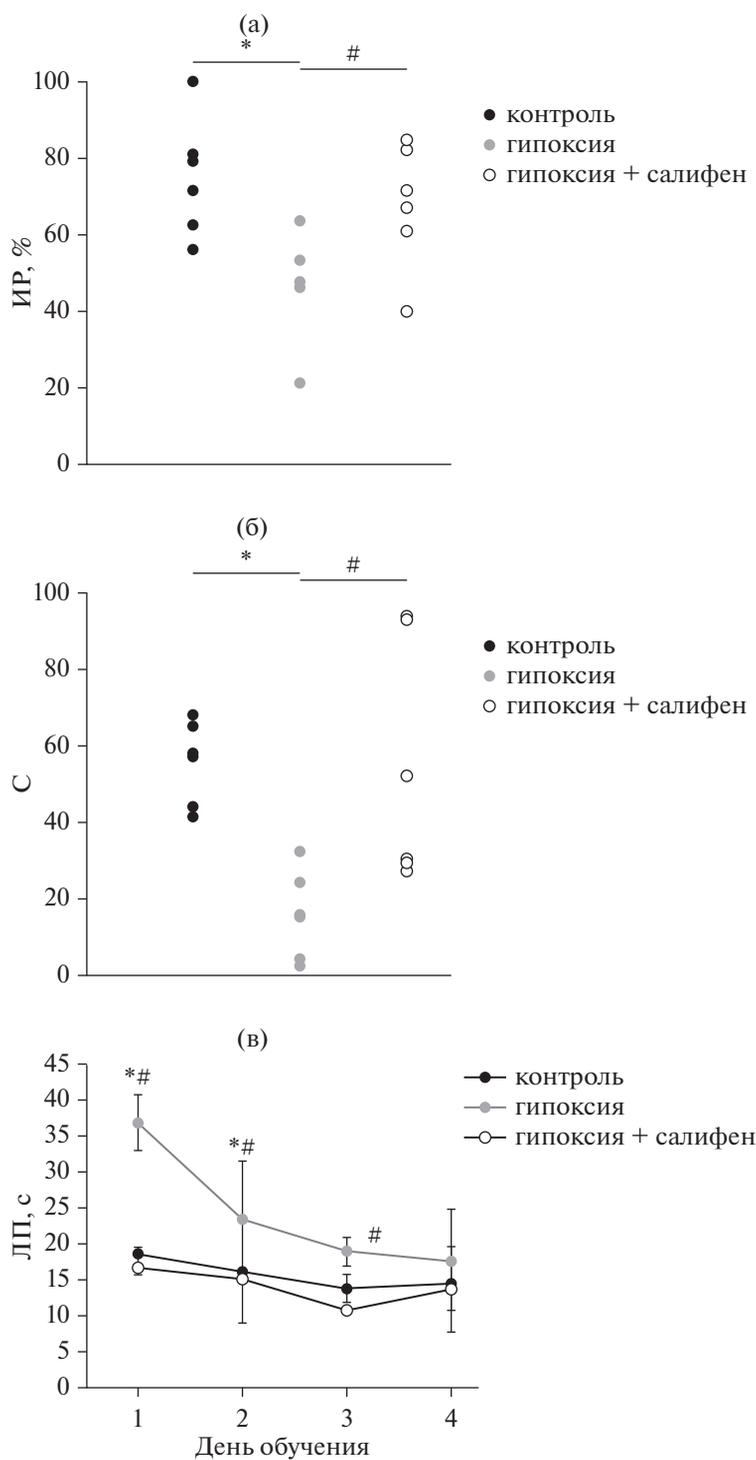
ную кору, включая цингулярную, пре- и инфраламбическую области (Bregma 4.20–2.52 мм) (Paxinos and Watson, 2007). Материал гомогенизировали в десятикратном объеме лизирующего буфера (0.02 M TRIS, 0.15 M NaCl, 0.001 M EDTA, 1% Triton X-100, pH 7.5), в который добавляли коктейль ингибиторов протеаз (Sigma, США) и ингибиторов фосфатаз (Roche Diagnostic, Канада) согласно инструкции производителя. Подготовленные гомогенаты центрифугировали 20 мин при 4°C и 12000 g. Общую концентрацию белка в пробах определяли по методу Лоури. Индивидуальные пробы, содержащие одинаковое количество белка (20 мкг), смешивали с буфером Лэммли, после чего белок денатурировали путем нагрева до 95°C в течение 5 мин. Разделение белков проходило с помощью метода гель-электрофореза в 10%-м бис-АА-акриламидном геле по Лэммли (SDS-PAGE) на оборудовании Bio-Rad Laboratories (США) с использованием маркера молекулярной массы (Bio-Rad Precision Plus Protein, США). Белковые фракции из геля электрофоретически переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Amersham, Великобритания) в течение 1 часа. После переноса мембрану инкубировали в течение 30 минут в блокирующем растворе (сухое молоко, разведенное в Трис-буфере с 0.1% Tween-20, pH 7.6). После блокировки мембрану инкубировали в течение ночи при 4°C в растворе первичных антител, разведенных в блокирующем растворе. Поскольку считается, что субъединица V1 ГАМК_B-рецептора важна для лиганд-рецепторного взаимодействия (Galvez et al., 2001), мы использовали поликлональные кроличьи антитела к ГАМК_{B1}-субъединице для определения содержания ГАМК_B-рецепторов в образцах нервной ткани неокортекса крыс (1 : 1000; Abscam, Великобритания). После тщательной промывки мембраны инкубировали 1 ч в соответствующих вторичных антителах, конъюгированных с пероксидазой хрена, разведенных в блокирующем растворе (1 : 5000, Sigma, США). Визуализацию белков проводили с помощью хемилюминесцентной системы ECL-Prime и рентгеновской пленки (Retina, США), которую проявляли фотонабором (Cargestream Health, Франция). Пленки сканировали с помощью фотосканера CanoScan 8800F, полученные изображения анализировали с помощью программы Image J, оценивая оптиче-

скую плотность полос для белка ГАМК_B-рецепторов. Результаты определения уровня экспрессии исследованного вещества были нормированы на общее содержание белка. Данные представлены в относительных единицах – в процентах по отношению к контрольному значению, которое принято за 100%.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA, пакет программ STATISTICA 8.0) с предварительной проверкой совокупностей на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка и последующими попарными апостериорными сравнениями групп между собой с помощью post-hoc-критерия Бонферрони. Различия между выборками считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$. Результаты представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После перенесенной на 2-й постнатальный день острой гипоксии у крыс adolescentного возраста (55–60-й постнатальный день) обнаружены нарушения формирования долговременной памяти и ухудшение пространственного обучения, что было выявлено в тестах “распознавание нового объекта”, “УРПИ” и “водный лабиринт Морриса”. Однофакторный дисперсионный анализ показал значимое влияние фактора воздействия гипоксии на индекс распознавания в тесте “распознавание нового объекта” ($F_{(2,15)} = 11.42$, $p = 0.007$). Крысы, подвергнутые перинатальной гипоксии, в одинаковой мере исследовали знакомый и новый объекты во второй день теста, что отразилось в сниженном индексе распознавания по сравнению с контрольными животными ($p < 0.01$). Это свидетельствует об ухудшении когнитивных процессов (рис. 1 (а)). У крыс, подвергавшихся гипоксии на 2-е постнатальные сутки, выявлено нарушение способности к воспроизведению УРПИ. Дисперсионный анализ показал значимый эффект воздействия гипоксии на латентный период входа в темный отсек камеры ($F_{(2,15)} = 38.19$, $p = 0.0001$). Последующие post-hoc-сравнения отдельных групп животных выявили значимые различия между группами “гипоксия” и “контроль” ($p < 0.01$). Крысы, подвергавшиеся гипоксии, демонстрировали меньший латентный



период входа в темный отсек камеры по сравнению с контрольными, что свидетельствует о нарушении у них формирования долговременной памяти (рис. 1 (б)). После воздействия перинатальной гипоксии у крыс подросткового возраста обнаружены нарушения способности к пространственному обучению в

водном лабиринте Морриса (рис. 1 (в)). Однофакторный дисперсионный анализ показал значимое влияние воздействия перинатальной гипоксии на латентный период поиска скрытой платформы ($F_{(2,21)} = 15.74, p = 0.0014$). Средний латентный период поиска скрытой платформы по сумме 1-го и 2-го испытаний

Рис. 1. Влияние острой перинатальной гипоксии и инъекций салифена на фоне острой перинатальной гипоксии на когнитивные функции adolescentных крыс. (а) — индекс распознавания в тесте “распознавание нового объекта”; (б) — латентный период входа в темный отсек камеры для выработки УРПИ через 24 ч после обучения, с; (в) — кривые обучения в тесте “водный лабиринт Морриса”, с. Данные о времени нахождения платформы усреднены для четырех попыток в двух тестах каждого дня обучения и представлены в виде средних по группе и стандартных ошибок средних. * — значимые различия между группами “контроль” и “гипоксия”, $p < 0.05$; # — значимые различия между группами “гипоксия” и “гипоксия + салифен”, $p < 0.05$.

Fig. 1. Effects of acute perinatal hypoxia and salifen injections following acute perinatal hypoxia on cognitive functions in adolescent rats. (a) — recognition index in the novel object recognition test; (б) — latency to step into the darkened chamber in the passive avoidance task 24 hours after the acquisition phase, s; (в) — learning curves in the “Morris water maze”, s. Data from 4 trials in 2 tests of each training day are averaged and presented as group mean + S. E. M. * — significant difference, $p < 0.05$ for “control” versus “hypoxia” groups; # — significant difference, $p < 0.05$ for “hypoxia” versus “hypoxia + salifen” groups.

был значительно повышен у крыс, подвергавшихся гипоксии, по сравнению с контрольными животными ($p < 0.01$).

Введение салифена оказало положительное влияние на долговременную память и пространственное обучение крыс, подвергнутых гипоксическому воздействию в перинатальный период развития. Во всех использованных тестах (УРПИ, распознавание нового объекта, водный лабиринт Морриса) эти животные по исследованным параметрам когнитивной деятельности практически не отличались от контрольных животных (рис. 1 (а–в)), при этом *post-hoc*-анализ выявил значимые различия между группами “гипоксия” и “гипоксия + салифен” ($p < 0.01$).

Однофакторный дисперсионный анализ показал значимый эффект воздействия перинатальной гипоксии на уровень белка ГАМК_B-рецептора в медиальной префронтальной коре adolescentных крыс ($F_{(2,15)} = 17.72$, $p = 0.002$). Результаты Вестерн-блоттинга демонстрируют повышение экспрессии белка ГАМК_B-рецептора в медиальной префронтальной области неокортекса крыс adolescentного возраста (55-й постнатальный день), подвергавшихся перинатальной гипоксии на 2-й день жизни, в сравнении с интактными животными на 35% ($p < 0.01$). Инъекции салифена на фоне перинатальной гипоксии снижали уровень белка ГАМК_B-рецептора в неокортексе животных до контрольных значений (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Предполагается, что нарушение ГАМК_B-рецепторного сигналинга в мозге является триггером многих неврологических и психиатрических расстройств (Fritzius, Bettler, 2020; Terunuma, 2018). При этом роль ГАМК_B-рецепторов в

постгипоксическом повреждении структуры и функций мозга исследована мало и активно изучается в настоящее время. Проведенное нами исследование показало, что острая перинатальная гипоксия вызывает повышение экспрессии белка ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной области неокортекса adolescentных крыс, сопровождающееся нарушением когнитивных функций. Хроническое введение производного ГАМК салифена предотвращало вызванные гипоксией изменения пула ГАМК_B-рецепторов медиальной префронтальной коры и когнитивную дисфункцию у крыс.

ГАМК_B-рецепторы представляют собой метаботропные гетеродимерные трансмембранные белки, сопряженные с G-белками и обеспечивающие медленное продолжительное синаптическое торможение в центральной нервной системе (Bettler et al., 2004; Frangaj, Fan, 2018). ГАМК_B-рецепторы могут располагаться как пре-, так и постсинаптически, обеспечивая регуляцию процессов возбуждения и торможения в нейронных контурах (Koulen et al., 1998). Пресинаптические ГАМК_B-рецепторы делятся на ауторецепторы, располагающиеся на ГАМК-ергических терминалях, и гетерорецепторы — на терминалях, выделяющих другие медиаторы: глутамат, ацетилхолин, норадреналин, дофамин, серотонин (Kobayashi et al., 2012; Waldmeier et al., 2008). Блокируя выброс различных нейромедиаторов, ГАМК_B-рецепторы могут осуществлять как тормозные, так и возбуждающие эффекты на уровне нейронных контуров. В нашем эксперименте перинатальная гипоксия вызывала увеличение экспрессии ГАМК_B-рецепторов в неокортексе крыс и, как следствие, можно предположить усиление торможения выброса возбуждающих нейромедиаторов, и в первую

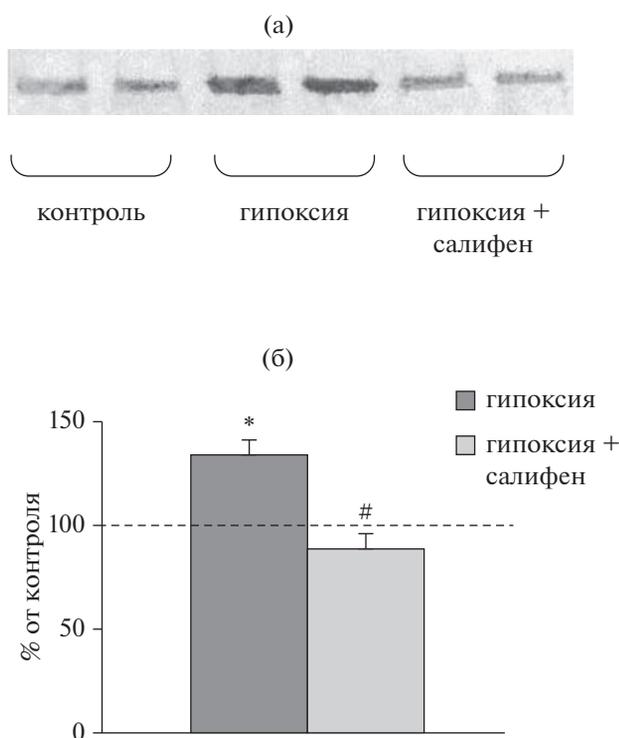


Рис. 2. Влияние острой перинатальной гипоксии и инъекций салифена на фоне острой перинатальной гипоксии на уровень белка ГАМК_B-рецептора в медиальной префронтальной коре adolescentных крыс. (а) — образец вестерн-блотта; (б) — количественная обработка результатов вестерн-блоттинга, условные единицы оптической плотности. Данные представлены в % от контрольных значений. Пунктирная линия — контроль (100%). * — значимые различия между группами “контроль” и “гипоксия”, $p < 0.05$; # — значимые различия между группами “гипоксия” и “гипоксия + салифен”, $p < 0.05$.

Fig. 2. Effect of acute perinatal hypoxia and salifen injections following acute perinatal hypoxia on GABA_B receptor protein levels in medial prefrontal cortex of adolescent rats. (a) — representative image of western-blot; (б) — quantification of the data, conventional units of optical density scale. Data are shown as a percentage of control levels. The dotted line — control group (100%). * — significant difference, $p < 0.05$ for “contro” versus “hypoxia” groups; # — significant difference, $p < 0.05$ for “hypoxia” versus “hypoxia + salifen” groups.

очередь глутаматергической трансмиссии, поскольку показано, что для неокортекса характерно постсинаптическое расположение ГАМК_B-рецепторов, при этом большинство ГАМК_B-рецепторов располагается на глутаматергических синапсах (Chalifoux, Carter, 2011; Kasten, Boehm, 2015; Rose, Wickman, 2020). Параллельно животные, подвергавшиеся гипоксии, демонстрировали ухудшение когнитив-

ных функций. Следует заметить, что в процессах консолидации памяти в тестах “УРПИ”, “водный лабиринт Морриса” и “распознавание нового объекта” важную роль играет медиальная префронтальная кора (Akirav, Maroun, 2006; Sutherland et al., 1982; Zhang et al., 2011). Известно, что префронтальные отделы неокортекса наряду с гиппокампом играют существенную роль в интегративной деятельности мозга, связанной с обучением и памятью (Euston et al., 2012; Jones, 2002; Morici et al., 2015). Показано, что вызванные гипоксией повреждения префронтальной коры вызывают нарушения обучения и памяти (Силачев и др., 2008; Kauser et al., 2014). Эти нарушения связывают в первую очередь с гибелью нейронов, в особенности ГАМК-ергических (Louzoun-Kaplan et al., 2008; Nisimov et al., 2018; Robinson et al., 2006), однако роль рецепторного звена ГАМК-ергической системы префронтальных отделов неокортекса в вызванных гипоксией когнитивных нарушениях практически не исследована, особенно это касается воздействия перинатальной гипоксии. В нашем исследовании животные после перенесенной в раннем онтогенезе гипоксии демонстрировали ухудшение показателей когнитивной деятельности в тестах “УРПИ”, “распознавание нового объекта” и водном лабиринте Морриса, что предполагает нарушение функции медиальной префронтальной коры, как один из возможных механизмов когнитивной дисфункции. Мы изучали вовлечение в нарушение обучения и памяти, вызванных перинатальной гипоксией, ГАМК_B-рецепторов медиальной префронтальной области неокортекса у крыс.

О важности ГАМК_B-рецепторов для процессов обучения и памяти говорят исследования на нокаутных животных: “выключение” гена субъединицы ГАМК_{B1} и/или ГАМК_{B2} вызывает существенные нарушения когнитивных функций (Heaney, Kinney, 2016; Jurado-Parras et al., 2016; Schuler et al., 2001). Блокада ГАМК_B-рецепторов улучшает когнитивные функции у приматов и крыс, очевидно, посредством облегчения глутаматергической и холинергической нейротрансмиссии (Almasi et al., 2018; Vanuelos et al., 2014; Kleschevnikov et al., 2012; Li et al., 2016), тогда как чрезмерная стимуляция ГАМК_B-рецепторов подавляет когнитивное поведение у лабораторных животных, что было показано в различных тестах и моделях (DeSousa et al., 1994; Heaney, Kinney, 2016; Terunuma et al.,

2014). Обнаруженное нами в настоящем исследовании ухудшение показателей в тестах, оценивающих способность запоминать и воспроизводить информацию, и параллельное увеличение экспрессии ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной коре крыс после перинатальной гипоксии вполне согласуются с этими данными.

В различных моделях гипоксии/ишемии *in vivo* и *in vitro* были получены противоречивые результаты оценки экспрессии ГАМК_B-рецепторов в разных областях мозга. На переживающих срезах гиппокампа было показано, что гипоксия/ишемия снижала экспрессию субъединицы ГАМК_{B2}, а уровень экспрессии субъединицы ГАМК_{B1} не изменялся (Cimarosti et al., 2009). В модели гипоксии/ишемии *in vivo* продемонстрировано снижение экспрессии обеих субъединиц в гиппокампе половозрелых грызунов (Vollenweider et al., 2006) и неокортексе 4-дневных крысят (Anju et al., 2010). Однако в модели ишемического очага в сенсомоторной области неокортекса крыс, вызванного фототромбозом кровеносных сосудов, показано повышение плотности ГАМК_B-рецепторов вокруг зоны поражения (Que et al., 1999). Противоречия в данных о воздействии гипоксии/ишемии на экспрессию ГАМК_B-рецепторов в мозге авторы объясняют различными моделями, возрастом экспериментальных животных, разными временными отрезками после гипоксии/ишемии, а также интерпретируют результаты с позиций компенсаторного или патологического процесса. В литературе высказывается мысль, что зачастую невозможно определить, являются ли изменения в функции, экспрессии и связывании ГАМК_B-рецепторов, сопутствующие заболеванию, отражением патологического или компенсаторного процесса и, в зависимости от этого, усиление или ослабление этих модификаций может способствовать успешной терапии. Несмотря на эти ограничения, анализ активности ГАМК_B-рецепторного пула отделов мозга при различных условиях может дать важную информацию для поиска новых терапевтических стратегий лечения неврологических и психиатрических заболеваний. Высказываются предположения, что препараты, модулирующие активность ГАМК_B-рецепторов, имеют терапевтический потенциал для лечения широкого спектра психических и неврологических отклонений. Эта группа препара-

тов находится в фокусе внимания ученых и медиков в настоящее время.

Мы изучали влияние отечественного препарата салифена, производного ГАМК, на нарушения когнитивных процессов и изменения экспрессии белка ГАМК_B-рецепторов в неокортексе, являющиеся следствием перенесенной острой перинатальной гипоксии. У крыс, получавших инъекции салифена после гипоксического воздействия, результаты тестов “УРПИ” и “распознавание нового объекта”, оценивающих формирование долговременной памяти, а также теста “водный лабиринт Морриса”, оценивающего пространственное обучение, не отличались от показателей контрольных групп. Количество белка ГАМК_B-рецептора в медиальной префронтальной области неокортекса животных из группы “перинатальная гипоксия + салифен” также не отличалось от контрольных значений. Ранее было показано, что салифен и его аналоги оказывают нейропротективное действие в моделях фокальной церебральной ишемии (Vavers et al., 2016) и энцефалопатии новорожденных (Отеллин и др., 2016, 2020), а в последнем случае – для ГАМК-нейронов неокортекса. Нейропротективный эффект активации ГАМК-ергической трансмиссии в различных отделах мозга в условиях гипоксии описан и в мировой литературе: в моделях гипоксии/ишемии *in vivo* и *in vitro* показан нейропротективный эффект применения агонистов ГАМК_B-рецепторов (Babcock et al., 2002; Cimarosti et al., 2009; Wu, Sun, 2015). Таким образом, салифен оказывает нейропротективный эффект и нормализует уровень экспрессии ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной коре подростков крыс, подвергавшихся острой перинатальной гипоксии, что можно интерпретировать как нормализацию ГАМК-ергической трансмиссии в этой области мозга. Показан модулирующий эффект препаратов с ГАМК_B-рецепторным компонентом действия на экспрессию данных рецепторов в гиппокампе и префронтальной коре крыс при различных экспериментальных условиях (Ковалев и др., 2021; Fairfax et al., 2004; Li et al., 2014). Можно предположить, что салифен, помимо нейропротективного эффекта, воздействовал на мембранную экспрессию ГАМК_B-рецепторов в нейронах медиальной префронтальной коры, восстанавливая их количество до контрольного уровня, что и было продемонстрировано результатами Вестерн-блоттинга. Далее, восстановление пула кор-

тикальных ГАМК_B-рецепторов в результате хронического применения салифена у крыс, подвергавшихся перинатальной гипоксии, снижало вызванное гипоксией избыточное торможение синаптической передачи и восстанавливало импульсную активность в нейронных контурах, что нормализовало функцию медиальной префронтальной коры и, как следствие, когнитивные способности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе показано, что острая перинатальная гипоксия вызывает нарушения когнитивных процессов и повышение экспрессии белка ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной области неокортекса у adolescentных крыс. Новый отечественный препарат салифен, представляющий собой производное ГАМК, применяемый после острой перинатальной гипоксии, предотвращает индуцируемые гипоксией нарушения в когнитивной сфере и изменения содержания ГАМК_B-рецепторов в медиальной префронтальной коре крыс. Результаты данного исследования представляют интерес для решения прикладной задачи неонатологии — поиска эффективных средств для фармакологической коррекции последствий перинатальной гипоксии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта РФ № 16-15-10272.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: “Высшая школа”, 1991. 399 с.
- Буткевич И.П., Михайленко В.А.* Пренатальное влияние флуоксетина на адаптивное поведение и когнитивную сферу у самцов крыс в препубертатный период развития. Рос. физиол. журн. 2017. 103 (7): 744–754.
- Васильева О.С., Макаренко С.В., Отеллин В.А., Хожай Л.И., Тюренков И.Н.* Средство, сохраняющее популяцию ГАМК-ергических нейронов после острой перинатальной гипоксии. Патент на изобретение РФ № 2672884 С1. 2018. Бюл. № 32.
- Володин Н.Н., Медведев М.И., Рогаткин С.О.* Актуальные проблемы перинатальной неврологии на современном этапе. Журн. неврологии и психиатрии. 2001. 7: 4–8.
- Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М.* Анализ поведенческих и нейроцепторных эффектов атомoksetина и фенибута у мышей CD-1 с различной устойчивостью внимания. Эксперим. и клин. фармакол. 2021. 84 (4): 3–11.
- Левина А.С., Захаров Г.А., Ширяева Н.В., Вайдо А.И.* Сравнительная характеристика поведения крыс двух линий, различающихся по порогу возбудимости нервной системы, в модели пространственного обучения в водном лабиринте Морриса. Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. 68 (3): 366–377.
- Миронова В.И., Акулова В.К., Хожай Л.И., Притворова А.В., Ордян Н.Э., Отеллин В.А.* Экспрессия фактора роста эндотелия сосудов в мозге крыс после перинатальной гипоксии и при фармакологической коррекции. Нейрохимия. 2019. 36 (2): 170–176.
- Моргун А.В., Кувачева Н.В., Таранушенко Т.Е., Хилажева Е.Д., Малиновская Н.А., Горина Я.В., Пожиленкова Е.А., Фролова О.В., Салмина А.Б.* Современные представления о патогенезе перинатального ишемического повреждения клеток нейроваскулярной единицы головного мозга: молекулы-мишени для нейропротекции. Вестник РАМН. 2013. 12: 26–35.
- Ордян Н.Э., Акулова В.К., Миронова В.И., Отеллин В.А.* Вызванные перинатальной гипоксией поведенческие нарушения у ювенильных крыс и их коррекция производным ГАМК. БЭБиМ. 2017. 164 (8): 140–144.
- Ордян Н.Э., Акулова В.К., Пивина С.Г., Отеллин В.А., Тюренков И.Н.* Нарушения вследствие перинатальной гипоксии поведенческой и гормональной стресс-реакций крыс adolescentного возраста и их коррекция новым производным ГАМК. Журн. эволюц. биохимии и физиол. 2019. 55 (1): 59–64.
- Отеллин В.А., Хожай Л.И., Ватаева Л.А.* Влияние гипоксии в раннем перинатальном онтогенезе на поведение и структурные характеристики головного мозга крыс. Журн. эволюц. биохимии и физиол. 2012. 48 (5): 467–473.
- Отеллин В.А., Хожай Л.И., Тюренков И.Н.* Воздействие перинатальной гипоксии на структуры гематоэнцефалического барьера у крыс при введении салифена. Морфология. 2015. 148 (6): 34–37.
- Отеллин В.А., Хожай Л.И., Тюренков И.Н.* Влияние фенибута на количество ГАМК-ергических нейронов в неокортексе у крыс в ювенильном и препубертатном периодах после острой гипоксии в перинатальный период. Эксперим. и клин. фармакол. 2020. 83 (2): 3–7.
- Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т., Тюренков И.Н.* Отдаленные последствия перинатальной гипоксии и их возможная фармако-

- логическая коррекция: реакции нервных клеток и синапсов неокортекса. Морфология. 2016. 150 (6): 7–12.
- Пальчик А.Б., Шабалов Н.П.* Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 256 с.
- Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В.* По-станоксическая энцефалопатия. Омск: Омск. гос. мед. акад. 1999. 446 с.
- Силачев Д.Н., Шрам С.И., Шакова С.М., Романова Г.А., Мясоедов Н.Ф.* Формирование пространственной памяти у крыс с ишемическим повреждением префронтальной коры мозга; эффекты синтетического аналога АКТГ (4-7). Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2008. 58 (4): 458–466.
- Тюренок И.Н., Куркин Д.В., Волотова Е.В., Литвинов А.А., Бакулин Д.А.* Влияние различных композиций фенибута с органическими кислотами на неврологический, когнитивный и поведенческий дефицит у крыс при фокальной ишемии головного мозга. Сибирский медицинский журн. 2012. 8: 61–63.
- Хожай Л.И., Отеллин В.А.* Распределение ГАМК-ергических нейронов в неокортексе у крыс в постнатальном периоде после перинатальной гипоксии. Морфология. 2014. 146 (4): 7–10.
- Akirav I., Maroun M.* Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cereb. Cortex.* 2006. 16 (12): 1759–1765.
- Almasi A., Zarei M., Raoufi S., Sarihi A., Salehi I., Komaki A., Hashemi-Firouzi N., Shahidi S.* Influence of hippocampal GABA_B receptor inhibition on memory in rats with acute β -amyloid toxicity. *Metab. Brain Dis.* 2018. 33 (6): 1859–1867.
- Anju T.R., Abraham P.M., Antony S., Paulose C.S.* Alterations in cortical GABAB receptors in neonatal rats exposed to hypoxic stress: role of glucose, oxygen, and epinephrine resuscitation. *Mol. Cell. Biochem.* 2010. 343 (1–2): 1–11.
- Antunes M., Biala G.* The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure and its modifications. *Cogn. Process.* 2012. 13 (2): 93–110.
- Babcock A.M., Everingham A., Paden C.M., Kimura M.* Baclofen is neuroprotective and prevents loss of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II immunoreactivity in the ischemic gerbil hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 2002. 67 (6): 804–811.
- Babenko O., Kovalchuk I., Metz G.A.* Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. 48: 70–91.
- Bañuelos C., Beas B.S., McQuail J.A., Gilbert R.J., Frazier C.J., Setlow B., Bizon J.L.* Prefrontal cortical GABAergic dysfunction contributes to age-related working memory impairment. *J. Neurosci.* 2014. 34 (10): 3457–3466.
- Bettler B., Kaupmann K., Mosbacher J., Gassmann M.* Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol. Rev.* 2004. 84 (3): 835–867.
- Chalifoux J.R., Carter A.G.* GABAB receptor modulation of synaptic function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2011. 21 (2): 339–344.
- Cimarosti H., Kantamneni S., Henley J.M.* Ischaemia differentially regulates GABA(B) receptor subunits in organotypic hippocampal slice cultures. *Neuropharmacology.* 2009. 56 (8): 1088–1096.
- Clancy B., Darlington R.B., Finlay B.L.* Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience.* 2001. 105 (1): 7–17.
- DeSousa N.J., Beninger R.J., Jhamandas K., Boegman R.J.* Stimulation of GABAB receptors in the basal forebrain selectively impairs working memory of rats in the double Y-maze. *Brain Res.* 1994. 641 (1): 29–38.
- Desplats P.A.* Perinatal programming of neurodevelopment: epigenetic mechanisms and the prenatal shaping of the brain. *Adv. Neurobiol.* 2015. 10: 335–361.
- Enna S.J., Bowery N.G.* GABA(B) receptor alterations as indicators of physiological and pharmacological function. *Biochem. Pharmacol.* 2004. 68 (8): 1541–1548.
- Euston D.R., Gruber A.J., McNaughton B.L.* The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron.* 2012. 76 (6): 1057–1070.
- Fairfax B.P., Pitcher J.A., Scott M.G.H., Calver A.R., Pangalos M.N., Moss S.J., Couve A.* Phosphorylation and chronic agonist treatment atypically modulate GABA_B receptor cell surface stability. *J. Biol. Chem.* 2004. 279 (13): 12565–12573.
- Frangaj A., Fan Q.R.* Structural biology of GABA_B receptor. *Neuropharmacology.* 2018. 136: 68–79.
- Fritzius T., Bettler B.* The organizing principle of GABA_B receptor complexes: Physiological and pharmacological implications. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2020. 126 (Suppl. 6): 25–34.
- Gaiarsa J.-L., Kuczewski N., Porcher C.* Contribution of metabotropic GABA(B) receptors to neuronal network construction. *Pharmacol. Ther.* 2011. 132 (2): 170–179.
- Galvez T., Duthey B., Kniazeff J., Blahos J., Rovelli G., Bettler B., Prezeau L., Pin J.P.* Allosteric interactions between GB1 and GB2 subunits are required for optimal GABAB receptor function. *EMBO J.* 2001. 20 (9): 2152–2159.
- Gozlan H., Ben-Ari Y.* Interneurons are the source and the targets of the first synapses formed in the rat developing hippocampal circuit. *Cereb. Cortex.* 2003. 13 (6): 684–692.

- Heaney C.F., Kinney J.W. Role of GABA(B) receptors in learning and memory and neurological disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016. 63: 1–28.
- Jones M.W. A comparative review of rodent prefrontal cortex and working memory. *Curr. Mol. Med.* 2002. 2 (7): 639–647.
- Jurado-Parras M.T., Delgado-García J.M., Sanchez-Campusano R., Martín Gassmann M., Bettler B., Gruart A. Presynaptic GABAB receptors regulate hippocampal synapses during associative learning in behaving mice. *PLoS One.* 2016. 11 (2): e0148800.
- Kasten C.R., Boehm S.L. 2nd. Identifying the role of pre- and postsynaptic GABA_B receptors in behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. 57: 70–87.
- Kauser H., Sahu S., Kumar S., Panjwani U. Guanfacine ameliorates hypobaric hypoxia induced spatial working memory deficits. *Physiol. and Behav.* 2014. 123: 187–192.
- Kleschevnikov A.M., Belichenko P.V., Faizi M., Jacobs L.F., Htun K., Shamloo M., Mobley W.C. Deficits in cognition and synaptic plasticity in a mouse model of Down syndrome ameliorated by GABAB receptor antagonists. *J. Neurosci.* 2012. 32 (27): 9217–9227.
- Kobayashi K., Takei H., Yamamoto K., Hatanaka H., Koshikawa N. Kinetics of GABAB autoreceptor-mediated suppression of GABA release in rat insular cortex. *J. Neurophysiol.* 2012. 107 (5): 1431–1442.
- Koulen P.L., Malitschek B., Kuhn R., Bettler B., Wässle H., Brandstätter J.H. Presynaptic and postsynaptic localization of GABA(B) receptors in neurons of the rat retina. *Eur. J. Neurosci.* 1998. 10 (4): 1446–1456.
- Kumar K., Sharma S., Kumar P., Deshmukh R. Therapeutic potential of GABA(B) receptor ligands in drug addiction, anxiety, depression and other CNS disorders. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2013. 110: 174–184.
- Lapin I. Phenibut (beta-phenyl-GABA): a tranquilizer and nootropic drug. *CNS Drug Rev.* 2001. 7 (4): 471–481.
- Li G., Lv J., Wang J., Wan P., Li Y., Jiang H., Jin Q. GABAB receptors in the hippocampal dentate gyrus are involved in spatial learning and memory impairment in a rat model of vascular dementia. *Brain Res. Bull.* 2016. 124: 190–197.
- Louzoun-Kaplan V., Zuckerman M., Perez-Polo J.R., Golan H.M. Prenatal hypoxia down regulates the GABA pathway in newborn mice cerebral cortex; partial protection by MgSO₄. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2008. 26 (1): 77–85.
- Macdonald R.L., Olsen R.W. GABA_A receptor channels. *Annu. Rev. Neurosci.* 1994. 17: 569–602.
- Morici J.F., Bekinschtein P., Weisstaub N.V. Medial prefrontal cortex role in recognition memory in rodents. *Behav. Brain Res.* 2015. 292: 241–251.
- Nalivaeva N.N., Turner A.J., Zhuravin I.A. Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Front. Neurosci.* 2018. 12: 825.
- Nisimov H., Orenbuch A., Pleasure S.J., Golan H.M. Impaired organization of GABAergic neurons following prenatal hypoxia. *Neuroscience.* 2018. 384: 300–313.
- Northington F.J., Chavez-Valdez R., Martin L.J. Neuronal cell death in neonatal hypoxia – ischemia. *Ann. Neurol.* 2011. 69 (5): 743–758.
- Paxinos G., Watson C. The Rat brain in stereotaxic coordinates, 6th edition. Elsevier: Acad. Press. 2007. 446 с.
- Peña F., Ramirez J.-M. Hypoxia-induced changes in neuronal network properties. *Mol. Neurobiol.* 2005. 32 (3): 251–283.
- Que M., Witte O.W., Neumann-Haefelin T., Schiene K., Schroeter M., Zilles K. Changes in GABA(A) and GABA(B) receptor binding following cortical photothrombosis: a quantitative receptor autoradiographic study. *Neuroscience.* 1999. 93 (4): 1233–1240.
- Robinson S., Qing Li, Dechant A., Cohen M.L. Neonatal loss of gamma-aminobutyric acid pathway expression after human perinatal brain injury. *J. Neurosurg.* 2006. 104 (6 Suppl): 396–408.
- Rose T.R., Wickman K. Mechanisms and regulation of neuronal GABAB receptor-dependent signaling. In: *Current Topics in Behavioral Neurosciences.* Springer, Berlin, Heidelberg. 2020. https://doi.org/10.1007/7854_2020_129
- Schuler V., Lüscher C., Blanchet C., Klix N., Sansig G., Klebs K., Schmutz M., Heid J., Gentry C., Urban L., Fox A., Spooren W., Jaton A.L., Vigouret J., Pozza M., Kelly P.H., Mosbacher J., Froestl W., Käslin E., Korn R., Bischoff S., Kaupmann K., van der Putten H., Bettler B. Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and postsynaptic GABA(B) responses in mice lacking GABA(B1). *Neuron.* 2001. 31 (1): 47–58.
- Sutherland R.J., Kolb B., Whishaw I.Q. Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat. *Neurosci. Lett.* 1982. 31 (3): 271–276.
- Terunuma M. Diversity of structure and function of GABA B receptors: a complexity of GABA B-mediated signaling. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B. Phys. Biol. Sci.* 2018. 94 (10): 390–411.
- Terunuma M., Revilla-Sanchez R., Quadros I.M., Deng Q., Deeb T.Z., Lumb M., Sicinski P., Haydon P.G., Pangalos M.N., Moss S.J. Postsynaptic GABAB receptor activity regulates excitatory neuronal architecture and spatial memory. *J. Neurosci.* 2014. 34 (3): 804–816.
- Van de Berg W.D.J., Kwijtaal M., de Louw A.J.A., Lissone N.P.A., Schmitz C., Faull R.L.M., Blokland A., Blanco C.E., Steinbusch H.W.M. Im-

- pect of perinatal asphyxia on the GABAergic and locomotor system. *Neuroscience*. 2003. 117 (1): 83–96.
- Vavers E., Zvejniece L., Svalbe B., Volska K., Makarova E., Liepinsh E., Rizhanova K., Liepins V., Dambrova M. The neuroprotective effects of R-phenibut after focal cerebral ischemia. *Pharmacol. Res.* 2016. 113 (Pt B): 796–801.
- Vollenweider F., Bendfeldt K., Maetzler W., Otten U., Nitsch C. GABA(B) receptor expression and cellular localization in gerbil hippocampus after transient global ischemia. *Neurosci. Lett.* 2006. 395 (2): 118–123.
- Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. protoc.* 2006. 1 (2): 848–858.
- Waldmeier P.C., Kaupmann K., Urwyler S. Roles of GABAB receptor subtypes in presynaptic auto- and heteroreceptor function regulating GABA and glutamate release. *J. Neural. Transm. (Vienna)*. 2008. 115 (10): 1401–1411.
- Wu C., Sun D. GABA receptors in brain development, function, and injury. *Metab. Brain Dis.* 2015. 30 (2): 367–379.
- Zhang Y., Fukushima H., Kida S. Induction and requirement of gene expression in the anterior cingulate cortex and medial prefrontal cortex for the consolidation of inhibitory avoidance memory. *Mol. Brain*. 2011. 4: 4.
- Zhuravin I.A., Dubrovskaya N.M., Vasilev D.S., Postnikova T.Y., Zaitsev A.V. Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2019. 164: 107066.

SALIFEN PREVENTS PERINATAL HYPOXIA-INDUCED COGNITIVE IMPAIRMENTS AND CHANGES IN GABA_B RECEPTOR EXPRESSION IN THE RAT NEOCORTEX

V. I. Mironova^a, A. V. Pritvorova^{a, #}, V. K. Akulova^a, V. A. Mikhailenko^a, V. A. Otellin^a, L. I. Khozhai^a, and N. E. Ordyan^a

^a*Pavlov Institute of Physiology, RAS, Saint Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: pritorovaav@infran.ru*

We have studied the effects of acute normobaric hypoxia in the early postnatal period of the development (the 2nd postnatal day) on learning and memory abilities and the expression of GABA_B receptors in the neocortex (medial prefrontal cortex) in adolescent rats (the 55–60th postnatal day), as well as the possibility of correction of the revealed impairments by GABA derivative salifen. It was shown that perinatal hypoxia disrupts task acquisition and consolidation in the novel object recognition test, impairs passive avoidance performance, and also reduces spatial learning abilities in the Morris water maze. Western blotting analysis revealed increased levels of GABA_B receptor protein in the medial prefrontal cortex of the rats following the exposure to perinatal hypoxia. Post-hypoxic daily salifen injections over 14 days at a dose of 15 mg/kg improved cognitive abilities in rats, and also normalized GABA_B receptor content in the rat medial prefrontal cortex. The results of the present research are of considerable significance for solution of applied problem of neonatology – the search for effective drug candidates for the pharmacological correction of the impacts of perinatal hypoxia.

Keywords: perinatal hypoxia, GABA_B receptors, medial prefrontal cortex, learning and memory, salifen, Wistar rats

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 57.026

**ВОЗРАСТНЫЕ И ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ
ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС В ЧЕРНО-БЕЛОЙ
МОДИФИКАЦИИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ МОДЕЛИ “СУОК-ТЕСТ”**

© 2023 г. О. Н. Кулешова*

*Научная совместная лаборатория по изучению роли апоптоза в формировании нейроэндокринной системы,
ФГБОУ ВО Астраханского Государственного Университета им В.Н. Татищева, Астрахань, Россия*

**e-mail: Pozdniakova_olga@list.ru*

Поступила в редакцию 28.11.2022 г.

После доработки 28.04.2023 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

Изучали исследовательскую активность, тревожность и моторную дезинтеграцию у пренатально стрессированных неполовозрелых и взрослых самцов и самок крыс с применением методики “Суок-тест”. Для этого самок крыс с 16-го по 19-й дни беременности помещали на 3 ч в пластиковые пеналы, фиксирующие животных. Потомство тестировали в возрасте 20 и 120 дней постнатального онтогенеза. Половозрелых самок тестировали с учетом эстрального цикла. Отмечено снижение тревожности и рост исследовательской активности во всех опытных группах, за исключением половозрелых самок на стадии диэструса. На этой стадии эстрального цикла у самок были выявлены паттерны поведения, характеризующие тревогу и снижение исследовательского поведения. Сенсомоторная дезинтеграция, характерная для неполовозрелых животных опытных групп, с возрастом компенсировалась, но не у самок на стадии диэструса. Таким образом, по результатам исследования можно сделать вывод о том, что пренатальный стресс может нести как адаптивные функции, вызывая рост исследовательского поведения, так и дезадаптивные. Вызванные пренатальным стрессом анксиолитические эффекты могут нести негативный характер, снижая эволюционно значимые защитные механизмы или быть полезными в зависимости от окружающей условий среды.

Ключевые слова: пренатальный стресс, крысы, самцы, самки, эструс, диэструс, тревожность, активность, моторные нарушения, онтогенез

DOI: 10.31857/S0044467723040068, EDN: WCNRPR

Влияние неблагоприятных событий в период эмбриогенеза может оказать негативное воздействие на развитие мозга, приводя к длительным изменениям структуры и функций нейронов, гормональной активности и, как следствие, поведения (Lautarescu et al., 2020). Взаимодействия между геномом и окружающей средой в течение пренатального периода повышают уязвимость по отношению к воздействию стресса, что может привести к аномалиям при рождении, задержке роста, структурным и функциональным изменениям, сохраняющимся во взрослом возрасте (Dion et al., 2022).

Результаты исследований поведения пренатально стрессированных животных сформировали общее впечатление о негативных

последствиях стресса, перенесенного в ранний период онтогенеза (Ордян и соавт., 2017; Soares-Cunha et al., 2018). На этом фоне выделяются статьи, в которых авторы отмечают и обратные эффекты перенесенного пренатального стресса (Пивина и др., 2011; Pallares et al., 2007), что ставит вопрос о возможной неоднозначности влияния пренатального стресса на поведение.

Еще одной проблемой изучения поведения пренатально стрессированных животных является игнорирование многими авторами циклических гормональных качелей самок (Pallares et al., 2007; Sze, Brunton, 2021). Половые гормоны влияют на скорость формирования нейронных сетей, ответственных за развитие двигательных актов (Mukai, 2006), и формирование

психического статуса, эмоций и поведения (Сашков, 2009; Moura et al., 2020). В разных отделах центральной нервной системы обнаружены рецепторы к эстрогенам и андрогенам (Bredy et al., 2003), а циклическая смена половых гормонов на протяжении эстрального цикла оказывает существенное влияние на текущее психофизиологическое состояние организма (Kreutzmann, Fendt, 2021).

Для комплексного изучения поведения животных ставят серийные эксперименты с применением “батарей” различных моделей поведения. Известно, что реакция крыс в разных поведенческих тестах сильно варьирует в зависимости от фактора, стимулирующего их тревожность: приподнятость в крестообразном лабиринте, открытость пространства в “открытом поле” или яркий свет в черно-белой камере (Павлова, Рысакова, 2015). В связи с этим, более целесообразным для всестороннего изучения поведения является применение модели Суок-теста, которая минимизирует воздействие на животных, позволяя изучить несколько разных аспектов поведения в одном исследовании. Особенно актуальным это становится при проведении исследований на неполовозрелых животных.

Суок-тест – модель исследования тревожности животных без предварительного обусловливания, основанная на тестировании животного на приподнятой трехметровой горизонтальной аллее (Калуев, Туохимаа, 2005; Kalueff et al., 2008; Каде и др., 2018). Суок-тест, являясь “гибридом” нескольких моделей тестирования (“открытого поля”, крестообразного приподнятого лабиринта, ротарода и черно-белой камеры), позволяет одновременно оценивать различные параметры поведения животных в условиях новизны – исследовательскую и двигательную активность, уровень тревожности, вестибуло-моторные функции и показатель стресс-индуцированной мотосенсорной дезинтеграции.

В своих публикациях авторы теста подтверждают предсказуемость результатов, полученных на лабораторных животных разных линий (Kalueff, Tuohimaa, 2005), а также наличие корреляций между результатами, полученными в Суок-тесте и в традиционных моделях поведения (Kalueff et al., 2005).

Другая группа авторов оценивала эффекты принудительной алкоголизации на поведение самцов крыс линии Вистар в тесте “Открытое поле” и “Суок-тест” (Филатова и др.,

2011), проведенный авторами анализ полученных данных позволил им сделать вывод, что достоверных отличий между группами самцов по параметрам двигательной и исследовательской активности в разных тестах нет. В статьях, посвященных изучению эффектов Цитофлавина, влияния возраста и линейных особенностей животных с применением тестов “Открытое поле” и “Суок-тест” (дикий тип и HER-2/neu) были также сделаны заключения, что данные разных тестов сопоставимы и позволяют сделать аналогичные выводы об изменении параметров исследовательской и двигательной активности животных (Соколова и др., 2020; Бажанова и др., 2015). Эффективность теста также была установлена при изучении психомоделирующих эффектов циклофосфамидина и корректирующих – фенибута и баклофена крыс и мышей (Самотруева и др., 2010).

В связи с этим, целью исследования стало изучение влияния стресса, перенесенного матерью во время беременности, на локомоторное, исследовательское и тревожное поведение ее потомков в онтогенетическом и половом аспектах с применением черно-белой модификации Суок-теста.

МЕТОДИКА

В эксперименте участвовали 24 первородящие самки крыс 4–6 месяцев со средней массой – 242 ± 11.8 г и их потомство в возрасте 20 и 120 дней. Эксперименты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (2010/63/EU), ФЗ РФ от 21 ноября 2011 г. и одобрения Комитета по биоэтике ФГБУ ВО Астраханского Государственного Университета им В.Н. Татищева. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде, в условиях 12-часовой освещенности. Все манипуляции с животными осуществляли в утренние часы.

У самок стандартным методом (Кабак, 1968) определяли стадию эстрального цикла, при обнаружении эструса к самке подсаживали самца. Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов в мазке крысы. После чего самок случайным образом делили на две группы – контрольную и стресса. В качестве модели стресса была выбрана иммобилизация в пластиковых пеналах, ограничивающих подвижность животных, но не приносящих им болезненные ощущения и

значительного физического дискомфорта. Такой стресс является моделью неизбежного эмоционального стресса. Так как для животных особенно неблагоприятен стресс в позднем пренатальном онтогенезе, в критический период формирования нейроэндокринной системы плода, стрессовому воздействию самки подвергались в период с 16 по 19 дни беременности по 3 часа в утренние часы (Шаляпина и др., 2001). В течение этого периода нейрогуморальный статус матери определяет дифференцировку и будущее функционирование мозга потомков. Самок контрольной группы содержали в стандартных условиях вивария, не подвергая негативным воздействиям. В каждом помёте оставляли восемь щенков. Эксперимент проходил в две серии: анализ поведения проводили у неполовозрелых (20-й день постнатального онтогенеза – 80 животных) и взрослых (4-х месячных – 90 животных) потомков обоего пола. Экспериментальные животные после рождения содержались в стандартных условиях вивария, в свободном доступе к пище и воде, освещении 12/12, щенков в возрасте 30 дней отсаживали от самки, размещали в отдельные клетки по 6 животных в каждой. Половозрелых самок тестировали с учетом стадий эстрального цикла.

Для изучения поведения была выбрана модель Суок-теста (Калуев, Туохимаа, 2005). Установка стандартного Суок-теста для крыс представляет собой аллею длиной 240 и 5 см шириной, приподнятую над полом на 50 см и разделенную на 16 секторов по 15 см каждый. В центре условно выделяется “центральная область” длиной 30 см – два центральных отрезка аллеи, куда перпендикулярно аллее спиной к исследователю помещалось животное и однократно тестировалось в течение 5 мин, во время которых велась видеозапись поведения. После тестирования животное возвращалось в клетку, а поверхность поля тщательно отмывалась 70% этанолом перед помещением следующей крысы для удаления запаховых меток. Черно-белая модификация теста условно делит аллею на две равные половины – освещенную и затемненную. Освещение “светлой” половины теста осуществлялось четырьмя лампами по 40 Вт каждая, расположенных на высоте 50 см от уровня аллеи. Экспериментальная комната при этом была не освещена. В результате этого затемненная часть теста становится гораздо менее аверсивной для животного и, как следствие, более предпочтительной (Буреш и др., 1991).

Опираясь на данные литературы о физиологическом значении различных показателей поведения животных в тестах на тревожность (Буреш и др., 1991; Kalueff, Tuohimaa, 2005), анализировали следующие показатели поведения, которые можно условно для удобства изложения разделить на несколько групп.

Уровень двигательной активности животных оценивали по параметрам горизонтальной активности (количеству пересеченных всеми четырьмя лапами отсеков, шт.) и длительности латентного периода выхода из центральной области аллеи (с), уровень исследовательской активности – по числу подъемов животных на задние лапы (шт.), ориентации (направленные в стороны движения головой при вытянутом положении тела, движения вибрисами, шт.). Заглядывания вниз (шт.) – параметры анализа животными риска (Ennaseu, 2014).

Эмоциональное напряжение животных оценивали по параметрам вегетативных реакций – числу актов дефекации (шт.), а также по количеству и времени груминговых реакций, актам короткого груминга. Анализу была подвергнута и структура остановок (замирания) животных (число и длительность остановок, количество остановок возле границы между темной и светлой зонами теста) (Маркель 1981; Буреш, Бурешова, Хьюстон, 1991).

Уровень стресс-индуцированной мотосенсорной дезинтеграции оценивали по числу соскальзываний задних лап (шт.). Падения животных с аллеи фиксировались, но были представлены настолько незначительно, что после предварительной статистической обработки данных при анализе полученных результатов эти данные не учитывали, животное сразу после падения возвращали в клетку.

Для анализа уровня тревожности животных, перенесших пренатальный стресс, такие параметры, как горизонтальная активность, время, скорость перемещения животных, вертикальная активность, заглядывания и остановки были оценены отдельно в темной и освещенной частях аллеи (черно-белая модификация теста). Об уровне тревожности также судили по числу переходов из зоны темного поля теста в зону освещенного поля (шт.).

После предварительной проверки полученных данных на нормальное распределение (критерий омега-квадрат) было установлено, что большая часть полученных результатов не соответствует критериям нормального распределения, статистическую обработку получен-

Таблица 1. Параметры активности пренатально стрессированных неполовозрелых самцов и самок крыс в Суок-тесте**Table 1.** Parameters of activity of prenatally stressed immature male and female rats in the Suok test

Исследуемые параметры поведения	Самцы		Самки	
	контроль, $n = 22$	ПС, $n = 22$	контроль, $n = 20$	ПС, $n = 15$
Латентный период, с	8.5 [5.2; 12.5]	9.5 [7; 14]	12 [10; 13]	10 [7; 11]**
Горизонтальная активность, n	17 [12; 33]	28 [22; 29]	26 [14; 35]	29 [21; 36]
Вертикальная активность, n	0 [0; 2]	4 [3; 7]**	7 [2; 10]	4 [3; 6.7]
Ориентации, n	12 [10; 16]	14.5 [13; 18.7]	12 [10.5; 15.5]	11.5 [10.2; 19.2]
Заглядывания, n	6 [3; 7]	8.2 [5; 10.7]	4 [3; 5]	9 [8; 10.7]**
Переходы, n	0 [0; 0]	1 [0; 2]*	1 [0.9; 1]	1 [1; 1.6]**
Остановки, n	4 [3.2; 5.7]	4 [3; 4.7]	7 [5.5; 9]	5 [3.5; 6.5]
Время остановок, с	38.5 [25.5; 53]	52 [27.2; 74.7]	56 [39; 61]	41 [28; 68]
Остановки возле границы, n	0 [0; 1]	0 [0; 1]	0 [0; 0.6]	1 [0.3; 1]*
Грумминг, n	3 [2.5; 4]	3 [2; 3.7]	4 [3; 4]	4 [3; 4]
Время Груминга, с	39 [25; 44]	15 [13; 23]**	31 [22; 15]	25 [15; 32]
Короткий груминг, n	0 [0; 0]	0 [0; 1]*	0 [0; 0]	0 [0; 1]*
Дефекации, n	0 [0; 0.5]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
Соскальзывания, n	0 [0; 1]	2 [0; 3]**	0.5 [0; 1.7]	2 [0.7; 3]*

Примечание: статистически значимые различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна–Уитни) обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ — *, $p < 0.01$ — **, статистически значимые различия между контрольными группами неполовозрелых самцов и самок отсутствуют.

Note: statistically significant differences between control and experimental animals (Mann–Whitney test) values of statistical incidence levels $p < 0.05$ — *, $p < 0.01$ — **, statistically significant differences in control cases of immature males and females occur.

ных результатов осуществляли с применением U-критерия Манна–Уитни с применением программного пакета MICROSOFT EXCEL 2013, статистически значимыми принимали различия при $p \leq 0.05$. Данные в таблицах представлены в виде медианы [Q1; Q3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведение контрольных животных

Возрастные отличия в поведении животных. По сравнению с неполовозрелыми самцами (табл. 1) поведение взрослых половозрелых самцов крыс (табл. 2) отличалось уменьшением ориентаций, продолжительности остановок, увеличением количества остановок у границы, количества груминговых реакций и их продолжительности, числа актов дефекации и соскальзывания. Самки на стадии эструса отличались от неполовозрелых самок ростом горизонтальной и снижением вертикальной активности, уменьшением ориентаций, остановок, груминговых реакций и длительности груминга, увеличением заглядываний, числа переходов и дефекаций. Увеличение ориентаций отмечено как в темной, так и в светлой части теста, снижение

ориентаций — только в темной (табл. 3 и 4). У самок на стадии диэструса отмечалось снижение вертикальной активности, груминговых реакций и длительности груминга, увеличение числа заглядываний и актов дефекаций. На стадии диэструса отмечено уменьшение времени в темной части теста, заглядываний и ориентаций, для поведения самок в освещенной части аллеи отмечен только рост заглядываний.

Половые отличия в поведении животных. Статистически значимых отличий между контрольными группами неполовозрелых самцов и самок нами обнаружено не было. Существенные различия наблюдались в поведении половозрелых животных. По сравнению с самцами, для самок на стадии эструса характерно снижение вертикальной активности, ориентаций (в том числе ориентаций в темной части теста), остановок возле границ и дефекаций, увеличение переходов и длительности остановок. На стадии диэструса у самок было отмечено увеличение количества заглядываний, переходов, снижение количества соскальзываний, уменьшилась скорость в светлой части теста.

Таблица 2. Параметры активности пренатально стрессированных половозрелых самцов и самок крыс в Суок-тесте
Table 2. Parameters of activity of prenatally stressed mature male and female rats in the Suok test

Исследуемые параметры поведения	Самцы		Самки			
	контроль <i>n</i> = 13	стресс <i>n</i> = 20	Эструс		Диэструс	
			контроль <i>n</i> = 16	стресс <i>n</i> = 14	контроль <i>n</i> = 13	стресс <i>n</i> = 14
Латентный период, с	9 [5; 14]	5 [3; 19]	7.4 [3; 10]	6.8 [2.5; 17]	7 [4.7; 8.5]	0 [0; 0]
Горизонтальная активность, <i>n</i>	25 [5; 39]	24 [12; 41]	39 [26; 45]#	32 [9; 52]	36 [26; 58]	25 [16; 36]
Вертикальная активность, <i>n</i>	1 [1; 1]	2 [0.25; 3]*	0 [0; 0]&&##	0 [0; 0]	1 [0; 1]#	0 [0; 0]*
Ориентации, <i>n</i>	11 [5; 14]#	6.5 [5.25; 8]	6 [4.25; 7.25]&##	5 [3.5; 8.5]	9.5 [7.5; 13] \$	5 [3.5; 10.25]*
Заглядывания, <i>n</i>	9 [6; 11]	8 [6; 12.25]	11 [9.75; 14.5]##	9 [7.5; 18.5]	18 [9.5; 23.5] &##	13 [12; 19]
Переходы, <i>n</i>	0 [0; 1]	0 [0; 1.75]	2 [1; 3]&&#	2 [1; 3]	2.37 [0; 4] &	1.12 [0; 2]*
Остановки, <i>n</i>	4.5 [4; 6]	4 [3; 5]	5 [4; 5]#	3 [2; 4.5]	3.75 [3; 6]	7.4 [5; 9]**
Время остановок, с	22.5 [14.5; 39.5]#	56 [25; 67]*	57 [30; 67]&	55 [22.5; 85]	48 [9; 92]	112 [89; 147]*
Остановки возле границы, <i>n</i>	1.5 [1; 2]##	1 [0; 1.75]	0 [0; 1]&&	0 [0; 0]	0 [0; 2.5]	0 [0; 0]
Груминг, <i>n</i>	0 [0; 0.25]##	0 [0; 0.75]	0.5 [0; 1]##	0 [0; 1.5]	0.75 [0; 1]##	0.75 [0; 1]
Время Груминга, с	0 [0; 1.75]##	0 [0; 2.25]	0.5 [0; 2.2]#	0 [0; 15]	1 [0; 15.75]##	2.14 [0; 9.25]
Короткий груминг, <i>n</i>	0 [0; 0.5]	0 [0; 1]	0 [0; 0.46]	0 [0; 0.5]	0 [0; 1.25]	0 [0; 0.25]
Дефекации, <i>n</i>	4 [2; 5.5]##	3 [1; 4]	2 [1; 3]&#	0.3 [0; 1]**	0 [0; 0.625]#\$	1.875 [0; 3]*
Соскальзывания, <i>n</i>	2 [2; 3]##	1 [0.25; 2.75]	1.12 [0; 2]	1 [0; 2.25]	0 [0; 1.2]&&	2 [0; 3.5]*

Примечание: статистически значимые различия между контрольными и опытными животными обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05 - *$, $p < 0.01 - **$; между контрольными самками на разных стадиях цикла — $p < 0.05 - \$$, $p < 0.01 - \$\$$; между контрольными животными разного возраста обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05 - \#$, $p < 0.01 - \#\#$; между контрольными животными разного пола обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05 - \&$, $p < 0.01 - \&\&$ (критерий Манна–Уитни).

Note: statistically significant differences between control and experimental animals are indicated for statistical significance levels $p < 0.05 - *$, $p < 0.01 - **$; between control females at different stages of the cycle — $p < 0.05 - \$$, $p < 0.01 - \$\$$; between control animals of different ages are indicated for statistical significance levels $p < 0.05 - \#$, $p < 0.01 - \#\#$; between control animals of different sexes are indicated for statistical significance levels $p < 0.05 - \&$, $p < 0.01 - \&\&$ (Mann–Whitney test).

Поведение на разных стадиях полового цикла самок крыс. Самки на стадии эструса отличались снижением количества ориентаций (в том числе в светлой части теста) и увеличением актов дефекаций, снижением горизонтальной активности в светлой части теста и увеличением времени в темной.

Влияние на поведение пренатального стресса

Исследовательское поведение. У неполовозрелых и половозрелых самцов пренатальный стресс вызвал увеличение вертикальной активности (рис. 1), у неполовозрелых самок отмечено увеличение числа заглядываний. На поведение взрослых самок на стадии эструса пренатальный стресс не оказал значи-

тельного влияния, на стадии диэструса отмечено снижение вертикальной активности и ориентаций. Двигательная активность животных под влиянием пренатального стресса не изменилась.

Уровень эмоциональности. У пренатально стрессированных неполовозрелых самцов отмечено снижение актов дефекации, уменьшение продолжительности груминга и увеличение актов короткого груминга. Для неполовозрелых самок было отмечено увеличение числа остановок у границы и актов короткого груминга. Половозрелые самцы после перенесенного пренатального стресса демонстрировали рост продолжительности остановок. Пренатально стрессированные самки на стадии эструса отличаются

Таблица 3. Параметры активности пренатально стрессированных неполовозрелых самцов и самок в светлом и темном отсеках Суок-теста
Table 3. Parameters of activity of perinatally stressed immature male and female rats in a black-and-white modification of the Suok test

Исследуемые параметры поведения	Самцы		Самки	
	контроль ♂ <i>n</i> = 22	ПС ♂ <i>n</i> = 22	контроль ♀ <i>n</i> = 20	ПС ♀ <i>n</i> = 15
ГА в темном, <i>n</i>	18 [12; 32]	24 [21; 31]	26 [12.5; 37]	27 [19.7; 35.5]
ГА в светлом, <i>n</i>	0 [0; 0]	1 [0; 8]**	0.5 [0; 3]	2.5 [0.2; 4.7]*
Время в темном, с	300 [300; 300]	296 [280; 300]**	290.5 [290; 300]	284 [280; 298]
Время в светлом, с	0 [0; 0]	4 [0; 17.2]**	0 [0; 8.2]	15.5 [1.5; 19.7]*
Скорость в темном, кв/с	0.07 [0.04; 0.1]	0.08 [0.07; 0.1]	0.09 [0.04; 0.12]	0.1 [0.07; 0.12]
Скорость в светлом, кв/с	0 [0; 0.04]	0.09 [0; 0.2]**	0.07 [0; 0.26]	0.23 [0.02; 0.3]
ВА в темном, <i>n</i>	0 [0; 0]	2 [0; 2]	7 [1; 10.5]	3 [0.7; 6]
ВА в светлом, <i>n</i>	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
Заглядывания в темном, <i>n</i>	2 [1; 4]	6 [3; 7]*	5 [5; 5.7]	6 [6; 7]*
Заглядывания в светлом, <i>n</i>	0 [0; 0.7]	1 [0; 3]	0 [0; 0]	1 [0; 2]**
Ориентации в темном, с	7.5 [5.2; 11.7]	10 [5; 12]	2 [10.2; 15]	9.5 [7; 16]
Ориентации в светлом, с	0 [0; 2]	1 [0; 2]	0 [0; 1]	2 [0.7; 3]*

Примечание: статистически значимые различия между активностью животных в темной и светлой части теста (критерий Манна–Уитни) обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – **; статистически значимые различия между контрольными группами неполовозрелых самцов и самок отсутствуют.

Note: statistically significant differences between the activity of animals in the dark and light parts of the test (Mann–Whitney test) are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – **; there are no statistically significant differences between the control groups of immature males and females.

уменьшением количества актов дефекаций. На стадии диэструса – увеличение числа и продолжительности остановок, актов дефекаций.

Вестибуло-моторные функции. У неполовозрелых животных вне зависимости от пола увеличилось количество соскальзываний лап. У взрослых пренатально стрессированных самцов и самок на стадии эструса число соскальзываний соответствует уровню контрольных групп. На стадии диэструса для пренатально стрессированных самок крыс характерно увеличение параметра.

Анксиолитические эффекты. Для неполовозрелых пренатально стрессированных самцов и самок крыс характерно увеличение числа переходов в освещенную часть аллеи, для взрослых пренатально стрессированных самцов и самок на стадии эструса изучаемый параметр остался на уровне контрольных животных, на стадии диэструса для пренатально стрессированных самок крыс характерно уменьшение числа переходов.

Неполовозрелые самцы после перенесенного пренатального стресса демонстрировали увеличение горизонтальной активности,

проведенного времени и скорости в светлой части теста (рис. 2). В темной части теста у неполовозрелых самцов отмечено увеличение заглядываний и снижение проведенного времени. Пренатально стрессированные неполовозрелые самки от контрольных отличались увеличением горизонтальной активности, ростом числа ориентаций, заглядываний и времени в освещенной части аллеи, а так же увеличением заглядываний в темной части теста.

У пренатально стрессированных половозрелых самцов отмечается увеличение вертикальной активности, заглядываний, ориентаций и времени в светлой части теста, в темной части теста отмечено увеличение вертикальной активности.

Пренатально стрессированные самки крыс на стадии эструса меньше времени проводили в темной части теста. На стадии диэструса у пренатально стрессированных самок уменьшилась горизонтальная активность и число ориентаций в светлой части теста и уменьшилась горизонтальная скорость и время в темной части теста.

Таблица 4. Параметры активности пренатально стрессированных половозрелых самцов и самок в светлом и темном отсеках Суок-теста**Table 4.** Parameters of activity of prenatally stressed mature male and female rats in a black-and-white modification of the Suok test

Исследуемые параметры поведения	Самцы		Самки			
	контроль <i>n</i> = 23	стресс <i>n</i> = 22	Эструс		Диэструс	
			контроль <i>n</i> = 16	стресс <i>n</i> = 14	контроль <i>n</i> = 13	стресс <i>n</i> = 14
ГА в темном, <i>n</i>	21.5 [9.75; 35]	21.5 [1; 34.75]	36 [27; 37]	24 [9; 50]	36 [27; 43]	24 [19; 28]
ГА в светлом, <i>n</i>	3 [1; 5]	4 [0; 17]	1.9 [0.75; 3]	5.3 [1; 6.5]	10 [4.5; 13.25]\$\$	3 [0; 4.25]*##
Время в темном, с	292 [278; 300]	268 [231; 280]	287 [281; 293]	274 [267; 280]*	269 [250.5; 275]\$\$\$	268 [279; 300]*
Время в светлом, с	7.5 [0; 40.5]	31 [0; 78]*	10.5 [6.75; 14.75]	20 [2.5; 28.5]	21.5 [0; 34.75]	12.5 [9; 15.2]
Скорость в темном, кв/мин	0.08 [0.03; 0.12]	0.11 [0.07; 0.15]	0.13 [0.086; 0.139]	8.12 [0.03; 0.177]	0.127 [0.08; 0.195]	0.067 [0.03; 0.1]*
Скорость в светлом, кв/мин	0.289 [0.25; 0.22]	0.176 [0; 0.32]**	0.16 [0.11; 0.25]	0.19 [0.0025; 0.31]	0.195 [0.02; 0.25] &	0.125 [0; 1.193]
ВА в темном, <i>n</i>	0 [0; 0]	0 [0; 1]*	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 1]	0 [0; 0]
ВА в светлом, <i>n</i>	0 [0; 0]	0.5 [0; 2]**	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 1]	0 [0; 0]
Заглядывания в темном, <i>n</i>	14 [9; 16]	9.5 [0.75; 17]	11 [9.7; 12]##	7 [5.5; 12]	0 [0; 0]##	0 [0; 0]
Заглядывания в светлом, <i>n</i>	2 [0; 3]	7 [2; 12]**	1.5 [0; 2.5]#	2.5 [1; 3]	2.5 [1; 4.5]##	2.5 [1.5; 3.25]
Ориентации в темном, с	10 [7; 12]	8 [2; 13.5]	5 [4; 6.25]&###	4 [3; 4.5]	5.5 [5; 9]#	4 [3.25; 7]
Ориентации в светлом, с	2 [0; 4]	3.5 [2; 7]*	1 [0; 1.25]	0 [0; 1]	3 [1.75; 3.25]\$	1 [0; 2]*

Примечание: статистически значимые различия между контрольными и опытными животными обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – **; между контрольными самками на разных стадиях цикла – $p < 0.05$ – \$, $p < 0.01$ – \$\$; между контрольными животными разного возраста обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ – #, $p < 0.01$ – ##; между контрольными животными разного пола обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ – &, $p < 0.01$ – && (критерий Манна–Уитни).

Note: statistically significant differences between control and experimental animals are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – **; between control females at different stages of the cycle – $p < 0.05$ – \$, $p < 0.01$ – \$\$; between control animals of different ages are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ – #, $p < 0.01$ – ##; between control animals of different sexes are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ – &, $p < 0.01$ – && (Mann–Whitney test).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Традиционно считается, что пренатальный стресс приводит к формированию тревожного и депрессивного поведения у взрослых животных (Ордян и др., 2017; Soares-Cunha et al., 2018), уменьшает социальную мотивацию и двигательную активность (Gur et al., 2019). В моделях на грызунах психоэмоциональный стресс матери во время беременности вызывает поведенческие изменения у потомства, включая повышенное тревожное поведение, когнитивный дефицит и аномальное социальное поведение, а

также отмечается ухудшение показателей обучения и памяти (Wu et al., 2007; Maur et al., 2012).

Как видно из полученных нами результатов, пренатальный стресс вызвал увеличение исследовательской активности у самцов вне зависимости от возраста, а у половозрелых самок на стадии диэструса привел к ее снижению. Об этом свидетельствует увеличение таких маркеров исследовательской активности животных, как вертикальная активность. Число заглядываний за край аллеи было увеличено у неполовозрелых самок, что характеризует увеличение анализа риска.

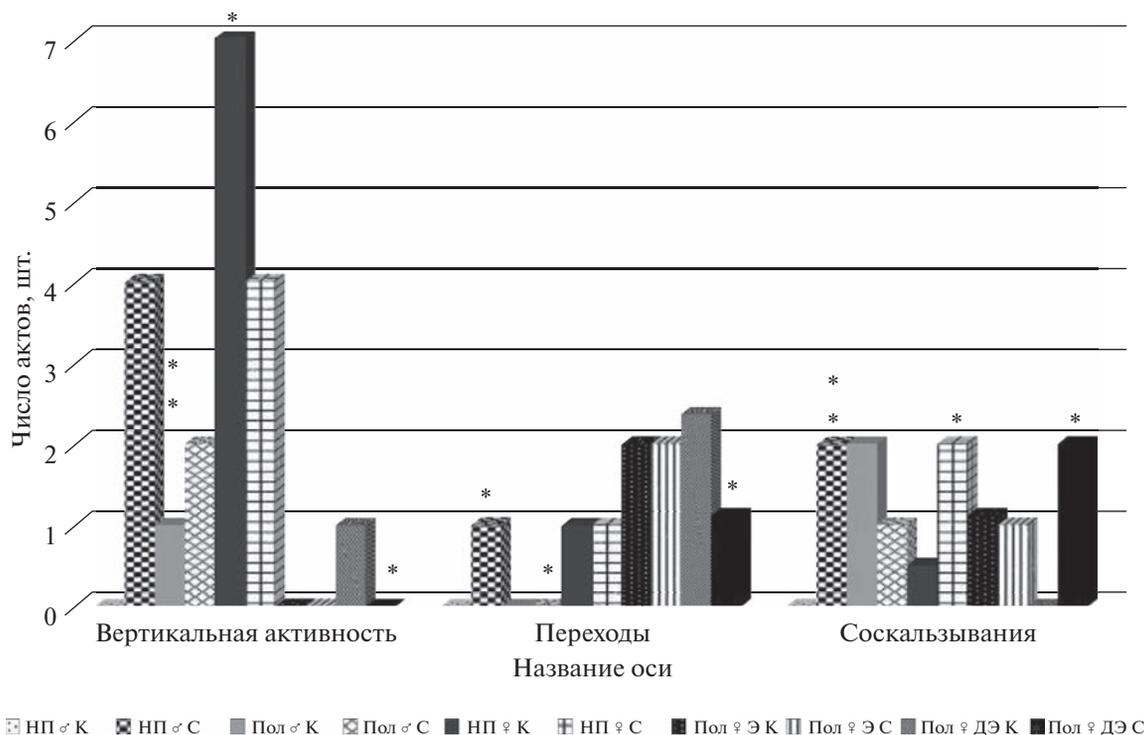


Рис. 1. Возрастная и половая специфика изменений некоторых параметров поведения пренатально стрессированных и контрольных животных в Суок-тесте. Статистически значимые различия между контрольными и опытными животными обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – ** (критерий Манна–Уитни). На графике сокращениями обозначены: НП – неполовозрелые, Пол – половозрелые, К – контрольные, С – стрессированные животные.

Fig. 1. Age and sex specificity of changes in some parameters of behavior of prenatally stressed and control animals in the Suok test. Statistically significant differences between control and experimental animals are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ – *, $p < 0.01$ – ** (Mann–Whitney test). On the graph, abbreviations indicate: НП – immature, Пол – sexually mature, К – control, С – stressed animals.

Аналогичные результаты встречаются в работах других авторов (Szuran et al., 1991), отмечавших повышение исследовательской активности в сложном туннельном лабиринте у пренатально стрессированных самцов. Е.М. Pallares и соавт. (2007) предположили, что у пренатально стрессированных животных (как у самок, так и у самцов) отмечается формирование адаптации, проявляющейся в снижении уровня тревожности и росте исследовательской активности в условиях новизны. В современной литературе обсуждается вопрос о двойственной роли пренатального стресса, который может иметь не только негативные последствия, но и в зависимости от условий окружающей среды на постнатальном этапе онтогенеза являться фактором, адаптирующим организм (Роговин, 2019; Вьюшина, Ордян, 2021).

Существенные изменения эмоциональности были отмечены у пренатально стрессированных половозрелых самок крыс, о чем свидетельствует снижение актов дефекации на стадии эструса и их рост на стадии диэструса. Косвенно об эмоциональности и тревожности животных можно судить и по количеству и продолжительности остановок, увеличение которых характерно для половозрелых самцов и самок на стадии диэструса. У неполовозрелых животных обоего пола отмечено увеличение числа периодов короткого груминга; кроме того, у самок выявлено увеличение числа остановок у границы темного и светлого отсека.

Как мы отмечали ранее, черно-белая модификация Суок-теста позволяет более детально изучить уровень тревожности. В данной модели аверсивным фактором является яркое освещение, а выраженность анксиоли-

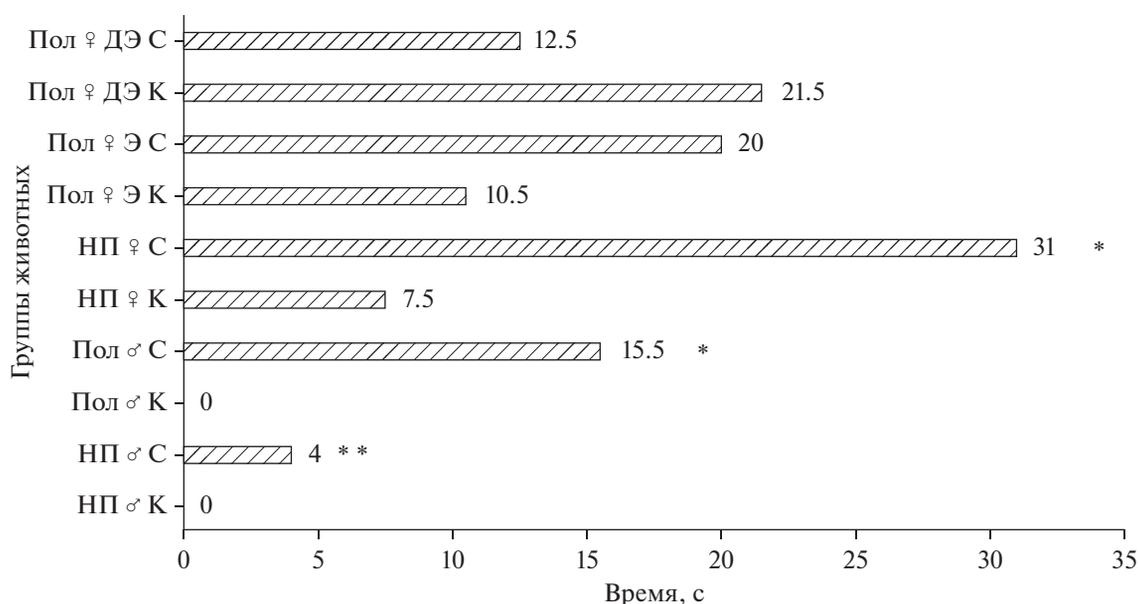


Рис. 2. Возрастная и половая специфика длительности пребывания пренатально стрессированных и контрольных животных в освещенной части Суок-теста. Статистически значимые различия между контрольными и опытными животными обозначены для уровней статистической значимости $p < 0.05$ — *, $p < 0.01$ — ** (критерий Манна–Уитни). На графике сокращениями обозначены: НП — неполовозрелые, Пол — половозрелые, К — контрольные, С — стрессированные животные.

Fig. 2. Age and sex specificity of the duration of stay of prenatally stressed and control animals in the responsible part of the Suok test. Statistically significant differences between control and experimental animals are indicated for statistical significance levels $p < 0.05$ — *, $p < 0.01$ — ** (Mann–Whitney test). On the graph, abbreviations indicate: НП — immature, Пол — sexually mature, К — control, С — stressed animals.

тических эффектов проявляется в зависимости от того, в какую часть аллеи смещается поведенческая активность животного. Полученные результаты позволяют сделать вывод о выраженном анксиолитическом эффекте пренатального стресса, проявившемся смещением большинства параметров двигательной и исследовательской активности в ярко освещенную часть аллеи у неполовозрелых самцов и самок и у половозрелых самцов. Для половозрелых самок на стадии эструса не было характерно изменений, а самки на стадии диэструса демонстрировали тревожное поведение: снижение исследовательской и двигательной активности в светлой части установки.

Ранее другими авторами было выявлено, что у взрослых самцов в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” пренатальный стресс может привести к снижению уровня тревожности (Пивина и др., 2011). Тревожность как фактор эмоциональной нестабильности препятствует возникновению у крыс исследовательской составляющей поведе-

ния. Несмотря на значительный рост исследовательского и снижение тревожного поведения пренатально стрессированных крыс, кажущиеся положительными анксиолитические эффекты пренатального стресса, тем не менее, сложно назвать однозначно адаптивно полезными, так как они могут негативно сказаться на выживании пренатально стрессированных животных. В целом, в современной литературе устоялось мнение, что изменения поведения являются адаптивными при совпадении условий окружающей среды постнатального и пренатального онтогенеза, и дезадаптивными при их несовпадении (Роговин, 2019; Вьюшина, Ордян, 2021).

Одним из возможных механизмов, приводящих к изменению поведения животных, может быть влияние пренатального стресса на тормозные нейроны в головном мозге (Fine et al., 2014). Задержка миграции ГАМКергических предшественников в корковую пластинку изменяет функциональное состояние коры, и связано с изменением уровня тревожности у пренатально стрессированных

животных (Stevens et al., 2013). Рост исследовательской активности у пренатально стрессированных животных также можно связать с стресс-индуцированной гиперактивностью миндалины, что сопровождается снятием тормозящего контроля (Zhang et al., 2018).

Нами также были выявлены нарушения мотосенсорной и вестибулярной функций у неполовозрелых животных, которые компенсируются на более поздних возрастных этапах у самцов и самок на стадии эструса, но не самок на стадии диэструса. Хорошо известно, что гонадные гормоны участвуют в контроле и реализации нескольких видов двигательной активности (Inoue, 2022), и большинство изменений, наблюдаемых у взрослого потомства, начинаются после полового созревания (что согласуется с полученными нами результатами), а также зависят от стадии эстрально-го цикла у взрослых самок.

Было показано, что у самок, подвергнутых пренатальному стрессу, на фазах метэструса/диэструса отмечается снижение ориентации в новой среде, что не было выявлено в стадиях проэструса/эструса (Mouga et al., 2020). Хорошо известно, что тревожность находится в тесной зависимости от флюктуации половых гормонов (Miller et al., 2021; Kundakovic et al., 2022), которая наблюдается у женщин в ходе полового цикла, развертывание которого находится под строгим контролем ЦНС и, в первую очередь, нейрогормональной гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. В то время как проэструсная и эстральная фазы обычно сопровождаются высокой концентрацией эстрогена в плазме крови, уровни этого гормона в фазе диэструса низки. Так, снижение уровня половых стероидов сопровождается ростом тревожности, а введение эстрадиола ассоциируется с повышением двигательной и исследовательской активности (Сашков, 2009), прогестерон редуцирует тревожное поведение (Виноградова и др., 2018).

В той или иной степени пренатальный стресс оказал значительное модифицирующее влияние на параметры поведения животных вне зависимости от возраста, пола, стадии полового цикла. Трехчасовая иммобилизация в пластиковых пеналах с 16-го по 19-й дни пренатального онтогенеза привела к снижению уровня тревожности и росту исследовательской активности в группах неполовозрелых животных и у половозрелых самцов. У самок на стадии эструса эффекты пренатального стресса были выражены слабо, а на стадии

диэструса были выявлены параметры поведения, характеризующие тревожность и снижение исследовательского поведения. Сенсомоторная дезинтеграция, характерная для неполовозрелых животных, с возрастом компенсировалась.

Вероятно, в результате ежедневного 3-часового стресса на последнем триместре у пренатально стрессированных животных произошла существенная перестройка активности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и гиталамо-гипофизарно-гонадной осей. Анализ полученных нами данных и литературы в очередной раз подчеркивает существенную зависимость эффектов пренатального стресса от времени, характера и его продолжительности. Эти эффекты могут существенно варьировать, вызывая нарушения гормональной и нейромедиаторной активности, которые приводят как к изменениям двигательной и исследовательской активности, росту тревожности, так и к снижению уровня тревожности и улучшению ориентации и памяти у потомков стрессированных матерей. Вероятно, еще одним фактором, влияющим на полученные результаты, может являться выбранная модель теста. В этом аспекте большим плюсом Суок-теста является его комплексность как модели, вызывающей стресс разной специфики: открытость пространства, яркое освещение и приподнятость.

ВЫВОДЫ

1. Неполовозрелые пренатально стрессированные животные вне зависимости от пола демонстрировали увеличение исследовательской и локомоторной активности в освещенной части аллеи, снижение страха перед освещенной частью аллеи, проявившихся в увеличении числа соскальзываний.

2. Половозрелые пренатально стрессированные самцы демонстрировали рост исследовательской активности, снижение страха перед освещенной частью аллеи.

3. Вестибулярные нарушения были характерны для пренатально стрессированных неполовозрелых животных вне зависимости от пола и для половозрелых самок на стадии диэструса.

4. Перенесенный пренатальный стресс повлиял на эмоциональное состояние животных, изменив их вегетативные реакции, которые уменьшились у половозрелых самок на стадии эструса и увеличились на стадии диэструса. У неполовозрелых животных вне за-

висимости от пола было отмечено увеличение актов короткого глуминга.

5. У половозрелых самок крыс были обнаружены существенные различия эффектов пренатального стресса на разных стадиях цикла. У самок на стадии эструса пренатальный стресс не повлиял на локомоторно-исследовательское поведение, снизив только вегетативные реакции и время, проведенное в темной части аллеи. Поведение самок на стадии диэструса отличалось снижением исследовательского поведения, увеличением количества и длительности остановок, снижением активности в освещенной части аллеи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бажанова Е.Д., Анисимов В.Н., Суханова Д.С., Теплый Д.Л.* Сравнительное исследование влияния препаратов, улучшающих метаболизм головного мозга (ангиоген, цитофлавин), на процессы апоптоза нейронов и функции мозга при старении и в эксперименте. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. 78 (2): 58–64.
- Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М. Высш. Шк. 1991. 399 с.
- Виноградова Е.П., Арутюнян Н.А., Жуков Д.А.* Тревожность и прогестерон в плазме крови в разные стадии эстрального цикла у крыс с противоположными стратегиями поведения. Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. 2018. 104 (5): 565–572.
- Вьюшина А.В., Ордян Н.Э.* Некоторые аспекты современного состояния проблемы пренатального стресса и роль окислительного стресса в реализации его последствий. Успехи современной биологии. 2021. 141 (2): 133–148.
- Кабак Я.М.* Практикум по эндокринологии. М.: Из-во МГУ, 1968. 276 с.
- Каде А.Х., Кравченко С.В., Трофименко А.И., Поляков П.П., Липатова А.С., Ананьева Е.И., Чаплыгина К.Ю., Уварова Е.А., Терещенко О.А.* Современные методы оценки уровня тревожности грызунов в поведенческих тестах, основанных на моделях без предварительного обусловливания. Кубанский научный медицинский вестник. 2018. 25 (6): 171–176.
- Калуев А.В., Тухимаа П.* Суок-тест — новая поведенческая модель тревоги. Нейронауки. 2005. 1: 17–23.
- Маркель А.Л.* К оценке основных характеристик поведения крыс в “открытом поле” II Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 1981. 31 (2): 301–307.
- Ордян Н.Э., Пивина С.Г., Миронова В.И., Акулова В.К., Ракицкая В.В.* Гормональные и поведенческие характеристики пренатально стрессированных самок крыс в экспериментальной модели депрессии. Российский физиологический журн. им. Сеченова. 2017. 103 (8): 873–883.
- Павлова И.В., Рысакова М.П.* Проявление тревожности крыс Вистар при выработке условнорефлекторного страха. Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2015. 65 (6): 720–734.
- Пивина С.Г., Федотова Ю.О., Акулова В.К., Ордян Н.Э.* Эффекты селективных ингибиторов обратного захвата серотонина на тревожное поведение и активность гипофизарно-адреналовой системы у пренатально стрессированных самцов крыс. Нейрохимия. 2011. 28 (1): 55–59.
- Роговин К.А.* Стресс в раннем онтогенезе как адаптивное явление. Журн. общей биологии. 2019. 80 (2): 95–123.
- Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюренков И.Н., Лужнова С.А.* Изменения психоэмоционального состояния в условиях угнетения иммунного генеза, коррекция нарушений ГАМК-позитивными средствами. Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2010. 96 (2): 115–20.
- Сашков В.А.* Взаимосвязь уровня половых стероидов в мозге с поведением и тревожностью у самок крыс с разным гормональным статусом. Вестник новых медицинских технологий. 2009. 16 (3): 21–25.
- Соколова Ю.О., Теплый Д.Л., Анисимов В.Н., Бажанова Е.Д.* Воздействие цитофлавина на локомоторный и психоэмоциональный статус при физиологическом и патологическом старении. Успехи геронтологии. 2020. 33 (2): 367–372.
- Филатова Е.В., Егоров Ю., Кучер Е.О., Кулагина К.О.* Влияние индивидуальных особенностей на формирование предпочтения этанола у самок и самцов крыс Вистар. Журн. Эвол. Биохим. Физиол. 2011. Т. 47 (5): 404–410.
- Шалыпина В.Г., Зайченко И.Н., Батуев А.С., Ордян Н.Э.* Изменение нейроэндокринной регуляции приспособительного поведения после стресса в позднем пренатальном онтогенезе. Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. 87 (9): 1193–1201.
- Bagheri M., Saboory E., Nejatbakhsh M., Roshan-Milani S., Derafshpour L., Sayyadi H., Rasmi Y.* Prenatal stress increased $\gamma 2$ GABA receptor

- subunit gene expression in hippocampus and potentiated pentylentetrazol-induced seizure in rats. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2020. 23: 724–729.
- Bredy T.W., Grant R.J., Champagne D.L., Meaney M.J.* Maternal care influences neuronal survival in the hippocampus of the rat. *Eur. J. Neurosci.* 2003. 18 (10): 2903–2909.
- Dion A., Munoz P.T., Franklin T.B.* Epigenetic mechanisms impacted by chronic stress across the rodent lifespan. *Neurobiol. Stress.* 2022. 31 (17): 100434.
- Ennaceur A.* Tests of unconditioned anxiety – Pitfalls and disappointments. *Physiol. Behav.* 2014. 135: 55–71.
- Fine R., Zhang J., Stevens H.E.* Prenatal stress and inhibitory neuron systems: implications for neuropsychiatric disorders. *Mol Psychiatry.* 2014. 19 (6): 641–51.
- Gur T.L., Palkar A.V., Rajasekera T., Rajasekera T., Allen J., Niraula A., Godbout J., Bailey M.T.* Prenatal stress disrupts social behavior, cortical neurobiology and commensal microbes in adult male offspring. *Behav Brain Res.* 2019. 1: 886–894.
- Inoue S.* Neural basis for estrous cycle-dependent control of female behaviors. *Neuroscience Research.* 2022. 176: 1–8.
- Kaluuff A.V., Minasyan A., Tuohimaa P.* Behavioural characterization in rats using the elevated alley Suok test. *Behav Brain Res.* 2005. 165 (1): 52–57.
- Kaluuff A.V., Tuohimaa P.* The Suok (“ropewalking”) murine test of anxiety *Brain Res Brain Res Protoc.* 2005. 14 (2): 87–99.
- Kaluuff A.V., Keisala T., Minasyan A., Kumar S.R., LaPorte J.L., Murphy D.L., Tuohimaa P.* The regular and light–dark Suok tests of anxiety and sensorimotor integration: utility for behavioral characterization in laboratory rodents *Nature Protocols.* 2008. 3: 129–136.
- Kreutzmann J.C., Fendt M.* Intranasal oxytocin compensates for estrus cycle-specific reduction of conditioned safety memory in rats: Implications for psychiatric disorders. *Neurobiology of Stress.* 2021. 14: 17–20.
- Kundakovic M., Rocks D.* Sex hormone fluctuation and increased female risk for depression and anxiety disorders: From clinical evidence to molecular mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 2022. 66: 101010.
- Lautarescu A., Craig M.C., Glover V.* Chapter Two – Prenatal stress: Effects on fetal and child brain development. *International Review of Neurobiology.* 2020. 150: 17–40.
- Maur D.G., Romero C.B., Burdet B., Palumbo M.L., Zorrilla-Zubilete M.A.* Prenatal stress induces alterations in cerebellar nitric oxide that are correlated with deficits in spatial memory in rat’s offspring. *Neurochem. Int.* 2012. 61: 1294–1301.
- Miller C.K., Halbing A.A., Patisaul H.B., Meitzen J.* Interactions of the estrous cycle, novelty, and light on female and male rat open field locomotor and anxiety-related behaviors. *Physiology & Behavior.* 2021. 228 (1): 113203.
- Moura C.A., Oliveira M.C., Costa L.F.* Prenatal restraint stress impairs recognition memory in adult male and female offspring. *Acta neuropsychiatrica.* 2020. 32 (3): 122–127.
- Mukai H., Takata N., Ishii H.T., Tanabe N., Hojo Y., Furukawa A., Kimoto T., Kawato S.* Hippocampal synthesis of estrogens and androgens which are paracrine modulators of synaptic plasticity: synaptocrinology. *Neuroscience.* 2006. 138 (3): 757.
- Pallares E.M., Bernasconi P.A.S., Feleder C., Cutrera R.A.* Effects of prenatal stress on motor performance and anxiety behavior in Swiss mice. *Physiology & Behavior.* 2007. 92 (5): 951–956.
- Soares-Cunha C., Coimbra B., Borges S., Domingues A.V., Silva D., Sousa N., Rodrigues A.J.* Mild Prenatal Stress Causes Emotional and Brain Structural Modifications in Rats of Both Sexes. *Front Behav Neurosci.* 2018. 12: 129.
- Stevens H.E., Su T., Yanagawa Y., Vaccarino F.M.* Prenatal stress delays inhibitory neuron progenitor migration in the developing neocortex. *Psychoneuroendocrinology.* 2013. 38 (4): 509–521.
- Sze Y., Brunton P.J.* Effects of prenatal stress on neuroactive steroid responses to acute stress in adult male and female rats. *J. Neuroendocrinol.* 2021. 33 (1): 12916.
- Szuran T., Zimmerman E., Pliska V., Pfister H.P., Welzl H.* Prenatal stress effects on exploratory activity and stress-induced analgesia in rats. *Developmental Psychobiology.* 1991. 24 (5): 361–372.
- Wu J., T.B. Song, Li Y.J., He K.S., Ge L., Wang L.R.* Prenatal restraint stress impairs learning and memory and hippocampal PKC β 1 expression and translocation in offspring rats. *Wang Brain Res.* 2007. 13: 205–213.
- Zhang X., Tong G., Guanghao Y., Ranji C., Guoqing Z., Wei Y.* Stress-Induced Functional Alterations in Amygdala: Implications for Neuropsychiatric Diseases. *Front Neurosci.* 2018. 12: 367.

AGE AND SEX CHARACTERISTICS OF THE BEHAVIOR OF PRENATALLY STRESSED RATS IN A BLACK-AND-WHITE MODIFICATION OF THE BEHAVIORAL MODEL “SUOK-TEST”

O. N. Kuleshova[#]

Astrakhan Tatishchev State University, Astrakhan, Russia

[#]e-mail: Pozdniakova_olga@list.ru

Research activity, anxiety and motor disintegration were studied in prenatally stressed immature and adult male and female rats in the Suok-test model. The mothers of these animals from the 16th to the 19th days of pregnancy were placed for 3 hours in plastic pencil cases that fix the animals. The offspring were tested on day 20 and month 4 of postnatal ontogenesis. Mature females were tested taking into account the estrous cycle. A decrease in anxiety and an increase in research activity was observed in all experimental groups, with the exception of mature females at the diestrus stage. At this stage of the estrous cycle, behavioral patterns were identified in females that characterize anxiety and a decrease in the research component of behavior. Sensorimotor disintegration characteristic of immature animals was compensated with age, but not in females at the diestrus stage. Thus, according to the results of the study, it can be concluded that prenatal stress can carry both adaptive functions, causing the growth of the research component of behavior, and maladaptive ones. The anxiolytic effects of prenatal stress are rather negative, reducing evolutionarily significant protective mechanisms.

Keywords: prenatal stress, rats, males, females, estrus, diestrus, anxiety, activity, motor disorders, ontogenesis

СПОСОБ ОБУЧЕНИЯ КРЫС ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ САМОСТИМУЛЯЦИИ В ОТВЕТ НА ПОДЪЕМ ГОЛОВЫ В ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКОЙ УСТАНОВКЕ, РЕГИСТРИРУЮЩЕЙ УРОВЕНЬ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДОФАМИНА

© 2023 г. В. В. Сизов¹, А. А. Лебедев¹ *, С. С. Пюрвеев^{1, 2}, Е. Р. Бычков^{1, 3}, В. Н. Мухин¹, А. В. Дробленков¹, П. Д. Шабанов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Институт экспериментальной медицины”, Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет”
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

Поступила в редакцию 11.11.2022 г.

После доработки 23.03.2023 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

В настоящей работе предложен способ обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, регистрирующей уровень внеклеточного дофамина. Первоначально в опытах Дж. Олдса было показано, что в ответ на электрическую стимуляцию зон положительного подкрепления у крыс наблюдается естественное исследовательское поведение, направленное на поиск источника награды. Сделано предположение, что естественный поведенческий акт, в частности подъем головы, может ускорить выработку и стабилизацию реакции самостимуляции. Изменение положения головы может служить внутренним проприоцептивным условным сигналом. Эксперименты проводили в кольцевой камере, где с помощью телеметрической установки стимулировали вентральную область покрышки (ВОП) при подъеме головы крысы на 38°. Реакция самостимуляции на подъем головы вырабатывалась и стабилизировалась в течение первого дня обучения. При pedalной самостимуляции отчетливые повторяющиеся реакции наблюдались только на 3-й день обучения после проведения процедур “наталкивания” на педаль в 1-й день обучения и “отталкивания” от педали на 2-й день обучения, стабилизация реакции наблюдалась только к 4-му дню обучения. После стабилизации реакции самостимуляции у крыс регистрировали уровень внеклеточного дофамина в прилежащем ядре методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии в ответ на навязанную стимуляцию ВОП до и после каждой из трех серий самостимуляции длительностью по 10 мин. После каждой серии самостимуляции уровень внеклеточного дофамина снижался, что отражает истощение внутриклеточного пула нейромедиатора в процессе длительной самостимуляции ВОП. Сделан вывод о перспективности использования способа обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы для исследования механизмов подкрепления.

Ключевые слова: самостимуляция, уровень внеклеточного дофамина, метод быстросканирующей циклической вольтамперометрии, прилежащее ядро

DOI: 10.31857/S0044467723040093, **EDN:** WNONOT

Электрическая самостимуляция является одним из основных методов изучения механизмов подкрепления (Симонов, 1980). Суть метода самостимуляции состоит в том, что животное, нажимая на педаль (или совершая другие инструментальные реакции для полу-

чения внутримозгового подкрепления), производит электрическое раздражение участков мозга с помощью вживленного электрода (Lebedev et al., 2020; Panagis et al., 2022). В ранних исследованиях для оценки действия фармакологических средств и степени пора-

жения подкрепляющих систем мозга для самостимуляции применяли более простые инструментальные движения, чем нажатия на педаль. Оказалось, что они требуют меньшего времени для обучения и могут давать более стабильную реакцию самостимуляции (Velazquez-Martinez et al., 2022; Trujillo-Pisanty et al., 2020).

Для упрощения инструментального поведения при самостимуляции был разработан ряд вариантов методики (Velazquez-Martinez et al., 2022; Fakhoury, 2021). В частности, было описано контактное устройство, установленное на голове крысы, которое замыкало цепь, когда крыса касалась пластины над головой. Частота и пороги самостимуляции при этом оказались сравнимы с показателями, которые регистрировали в рамках педального варианта методики (Liebman, 1983). В качестве инструментального движения использовали также облизывание поверхности. Еще один вариант методики состоял в том, что животное просовывало голову в отверстие в полу или стене экспериментальной камеры. Луч фотоэлемента, установленный внутри пола (стены), определял число реакций. Использовали также регистрацию передвижения животного по горизонтальной поверхности. Перемещаясь, животное прерывало разные лучи для каждой серии вознаграждающей стимуляции мозга (Liebman, 1983). В качестве инструментального движения во время ограничения локомоторной активности животного использовали также движения его конечностей или хвоста (Liebman, 1983).

В настоящей работе предложен способ обучения крыс электрической самостимуляции, где животное должно совершить подъем головы, чтобы получить подкрепление. Электрическая стимуляция при обучении реакции самостимуляции в камере Скиннера с педалью, как правило, вызывает исследовательскую реакцию поискового характера, когда положение головы изменяется при обнюхивании окружающего пространства. Однако искусственные условия наличия педали в камере Скиннера снижают проявление естественных видоспецифических паттернов поведения, направленных на реализацию интегративного эмоционального ответа. В связи с этим реакцию самостимуляции уже к 80–90-м годам многие исследователи стали считать искусственным феноменом, не отражающим реальную картину (Negus, Miller, 2014). Первоначально в опытах Дж. Олдса у животных наблюдалось естественное поведе-

ние, характеризующееся возвращением в то место, где производилась стимуляция мозга (Симонов, 1980). Таким образом, перспектива использования способа самостимуляции в ответ на подъем головы, когда педаль отсутствует, связана с естественным видовым поведением. Более того, подъем головы является внутренним проприоцептивным условным сигналом. Наличие только внутреннего сигнала изменения положения головы без дополнительного внешнего сигнала (педали), согласно исходной гипотезе, должно вызывать увеличение скорости обучения самостимуляции. Естественное снижение положения головы после ее подъема является аналогом отключения электрической стимуляции, необходимого при обучении реакции самостимуляции в фиксированном режиме. Как известно, положительные подкрепляющие свойства электрической стимуляции наблюдаются в течение 0.5 с после нажатия педали в камере Скиннера и могут трансформироваться в отрицательные при увеличении длительности раздражения (Симонов, 1980). Согласно проведенному анализу доступной литературы, метода, подобного предложенному в настоящей работе, ранее использовано не было.

Нейромедиатор дофамин (ДА) традиционно ассоциируется с нейрохимическими исследованиями механизмов подкрепления при самостимуляции (Бычков и др., 2020; Ide et al., 2017). Показано, что вещества, активизирующие систему ДА головного мозга, повышают частоту и снижают пороги реакции самораздражения (Solomon et al., 2017). Выявлено, что структуры мозга, при раздражении которых наблюдается интенсивная реакция самостимуляции, содержат дофаминергические нейроны (Solomon et al., 2017).

Целью работы было предложить способ обучению крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, снабженной устройством для регистрации уровня внеклеточного ДА. В наших предыдущих исследованиях высвобождение ДА регистрировалось в остром опыте на наркотизированных животных (Мухин и др., 2020, Пюрвеев и др., 2022). В настоящих исследованиях сделана попытка регистрации уровня внеклеточного ДА в свободном поведении с помощью телеметрической установки.

МЕТОДИКА

Опыты проведены на 11 крысах-самцах Вистар массой 250 г в соответствии с этическими принципами, описанными в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г, одобренной комиссией по биоэтике ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины”.

Животных наркотизировали золетилом-100, 50 мг/кг (Valdepharm, Франция). В ВОП вживляли электрод для стимуляции (стальной биполярный электрод толщиной 0.2 мм с изоляцией). Координаты электрода относительно брегмы: $AP = -5.3$ мм, $L = 0.8$ мм, $H = 8.2$ мм (Paxinos, Watson., 2005). Для регистрации уровня DA в прилежащее ядро ипсилатерально вживляли углеродный микроэлектрод в стеклянной изоляции (длина открытого кончика 100 мкм и толщина 7 мкм). Электрод для регистрации имплантировали согласно координатам: $AP = +2.0$ мм (от брегмы); $L = 1.2$ мм; $H = 7.3$ мм от поверхности черепа (Paxinos, Watson, 2005). Вживляли также электрод сравнения диаметром 3 мм из прессованного Ag/AgCl по координатам: $AP = +5.5$ мм (от брегмы); $L = 0$. Для крепления электрода на поверхности черепа использовался акрил с УФ-отверждением. Положение электродов для стимуляции и для регистрации изменяли до получения максимального высвобождения DA и затем фиксировали. Далее в течение 1 недели животных содержали в индивидуальных клетках для восстановления после оперативного вмешательства. Для профилактики инфекционных осложнений во время операции крысам вводили бициллин-3.

Эксперименты по изучению реакции самостимуляции проводили на двух группах животных:

1. Исследование реакции самостимуляции в камере Скиннера (нажатие педали для получения положительного подкрепления) ($n = 6$).

2. Исследование реакции самостимуляции в кольцевой камере (двигательная реакция для получения внутреннего подкрепления заключалась в подъеме головы животного, который регистрировался с помощью беспроводной телеметрической установки) ($n = 5$).

Крыс группы 1 обучали нажатия на педаль в камере Скиннера (35 × 12 × 21 см). В начале обучения подкреплялось движение животного к педали, затем и нажатие педали. После нажатия педали происходила электрическая

стимуляция структуры мозга, продолжительностью 0.5 с. Анализировали число нажатий педали и порог реакции самостимуляции (в мкА) за весь период “сеанса”. Реакцию самораздражения проводили в режиме FR1, т.е. каждое нажатие на педаль подкрепляли электрической стимуляцией ВОП. Для раздражения применяли серии прямоугольных импульсов (длительность импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0.5 с). При определении пороговых значений в навязанном режиме подавался ток нарастающими порциями длительностью по 5 с шагом по 2 мкА до появления отчетливых реакций нажатия на педаль. Далее повышали силу тока на 50% от пороговых значений и затем снижали силу тока (шаг 2 мкА длительностью стимуляции 5 с) до появления отказа от нажатия педали.

Процедуру поиска пороговых значений силы тока для самостимуляции повторяли 2 раза. При совпадении значений силы тока, полученных при нарастающем и снижающем режимах, его считали порогом реакции самораздражения (Lebedev et al., 2020).

Эксперимент выполнен с помощью разработанного нами (инженер В.В. Сизов) телеметрического аппаратно-программного комплекса “Циклон”, включающего в себя несколько блоков: блок быстросканирующей циклической вольтамперометрии (FSCV) (потенциостат), электрический раздражитель (стимулятор нервной ткани), световой и звуковой раздражитель, акселерометр для определения положения головы, блок видеорегистрации положения крысы.

У крыс группы 2 вырабатывали реакцию самостимуляции на подъем головы и определяли пороговые значения силы тока в кольцевой камере, подобно экспериментам в группе 1. Для регистрации подъема головы в состав комплекса “Циклон” входил 3-осевой акселерометр LIS2DW12 фирмы STMicroelectronics с частотой опроса 100 Гц и разрешением 16 бит в диапазоне $\pm 2g$ (g – ускорение свободного падения). В процессе эксперимента передача данных осуществлялась по каналу Bluetooth модулем SPBTLE-1S фирмы STMicroelectronics. Сменный литий-полимерный аккумулятор обеспечивал непрерывную работу модуля до 10 часов. Масса модуля с аккумулятором составляла 7–8 г.

Компьютер анализировал наклон головы вперед-назад и справа-налево. Нейтральным считалось положение головы, аналогичное

принятому стереотаксическому стандарту, — брегма на одном уровне с лямбдой, ушные отверстия на одном уровне по отношению к горизонту. По достижении заданного “тангажа” и “крена” компьютер посылал по каналу Bluetooth команду, содержащую параметры стимула, на устройство блока быстросканирующей циклической вольтамперометрии.

Блок FSCV включал 2 идентичных канала 16-разрядных ЦАП (DAC8551, Texas Instruments), обеспечивающих общепринятые на данный момент параметры поддержки (–400 мВ) и изменения (до +1300 мВ за 4.5 мс) уровня напряжения на рабочем электроде. Сканирующие импульсы на обоих каналах были разнесены по времени. Ток регистрировался по классической схеме на операционных усилителях (AD8606, Analog Devices). Оцифровка производилась 16-разрядным АЦП (ADS8319, Texas Instruments), подключаемым к одному из каналов посредством аналогового ключа (ADG723, Analog Devices). Частота дискретизации составляла 54 кГц. Таким образом, на один сканирующий импульс продолжительностью 10 мс приходилось 500 точек. Изменение напряжения было синхронизировано с измерением тока. Отправка данных осуществлялась по радиоканалу каждый раз после завершения цикла из двух сканирующих импульсов: по одному и по второму каналу регистрации. Тогда же принимались команды с управляющего компьютера. Задержка от момента достижения заданного положения головы животного до начала стимуляции составляла 100 мс. Эта задержка была обусловлена протоколом обмена информацией между компьютером и устройством блока быстросканирующей циклической вольтамперометрии. Ранее показано, что задержка времени до 200 мс от нажатия на педаль до электрического стимула не сказывается на частоте самостимуляции (Fouriezos, Randall, 1997).

Электрический раздражитель (электро-стимулятор) входил в состав комплекса “Циклон” как самостоятельный модуль массой 400 мг. Его конструкция позволяла свести к приемлемому уровню наводки на синхронно регистрируемую вольтамперограмму благодаря применению гальванической развязки с низкой проходной емкостью и индуктивностью. Управление параметрами стимула производилось по каналу электрического питания прибора, что минимизировало количество электронных компонентов. В изолиро-

ванной части располагался микроконтроллер, что обеспечивало цифровое качество стимулов. Ток стимула задавался с точностью 1 мкА в диапазоне 8–378 мкА, длительность импульсов — дискретно (0.5, 1, 1.5, 2 мс). Импульсы биполярные, задержка между фазами составляла 50 мкс. Частота следования импульсов — 64 Гц. Чтобы вместить сканирующие импульсы (и не было при этом наводок), количество пачек импульсов по 5 штук могло быть задано от 1 до 300.

Питание и управление осуществлялось через трансформатор, подключенный к цифровому питанию (3В) блока FSCV через N-канальный полевой MOSFET-транзистор. Частота составляла 10–20 кГц. Напряжение питания стабилизатора тока было равно 28 В, что обеспечивало заданный стабильный ток при сопротивлении раздражающих электродов до 74 кОм. Для коммутации выходного тока использован аналоговый ключ MAX333A. Преобразователь напряжение-ток осуществлял операционный усилитель OPA170. Дешифровку параметров, управление коммутатором и током осуществлял микроконтроллер ATTINY416 по загруженной в него программе на этапе изготовления стимулятора (рис. 1).

Для самостимуляции использовали специальную кольцевую камеру (внешним диаметром 50 см и внутренним диаметром 26 см). Кольцевая камера обеспечивала звукоизоляцию и экранирование от электромагнитных волн, передвижения животного в свободном поведении регистрировались автоматически, информация передавалась на компьютер по каналу Bluetooth (рис. 2). Для появления ориентировочно-исследовательской реакции при обучении реакции самостимуляции применяли однократную (одновременную, кратковременную) подачу светового и звукового раздражителей (1 с). Регистрировали число поднятий головы на 38 градусов для получения внутримозгового подкрепления в фиксированном режиме FR1 (подкреплялся каждый подъем головы). Для выявления определенного угла подъема головы при выработке реакции самостимуляции учитывали данные литературы. Было показано, что использование высокой педали, 6.2 см над полом (что соответствует 38 градусам подъема головы), значительно увеличивает скорость обучения, когда животное имеет возможность кусать педаль и производить по ней различные движения (Velazquez-Martinez et al., 2022; Pallikaras, 2022).

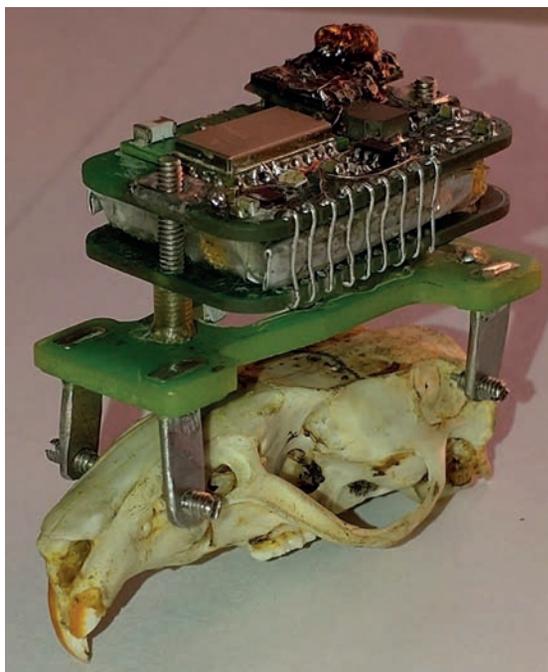


Рис. 1. Акселерометр и стимулятор в составе устройства регистрации FSCV, расположенные на черепе крысы.

Fig. 1. Accelerometer and stimulator as part of a FSCV recording device located on the skull of a rat.

Стимуляцию ВОП производили так же, как и в камере Скиннера, одиночными пачками прямоугольных электрических импульсов. Определение порога осуществляли, как и в камере Скиннера, нарастающими и снижающимися порциями силы тока.

После каждых 10 мин регистрации реакции самораздражения в кольцевой камере осуществлялся контроль наличия высвобождения DA (телеметрически у крыс в свободном поведении, находящихся в кольцевой камере). Выброс DA оценивали по изменению его экстраклеточного уровня в прилежащем ядре *in vivo* методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии в ответ на электрическое раздражение ВОП (Пюрвев и др., 2022). Метод быстросканирующей циклической вольтамперометрии обладает преимуществом по сравнению с другими методами регистрации DA – высокой степенью временного и пространственного разрешения. Временное разрешение реализуется при частоте сканирования 10 раз в секунду, пространственное разрешение определяется размерами электрода для регистрации (углеводородное окно длиной 100 мкм и толщиной 7 мкм) (Mena et al., 2022). Раздражение ВОП осу-

ществляли в навязанном режиме одиночными пачками прямоугольных электрических импульсов (сила тока 240 мкА, длительность импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0.5 с). При тестировании реакции самостимуляции в фиксированном режиме использовались пачки импульсов с такими же характеристиками, при силе тока от 50 до 80 мкА.

Для регистрации уровня DA в ответ на стимуляцию ВОП использовали потенциал удержания 0.4 В и продолжительность сканирования 10 мс. Сканирующий импульс при этом подавали каждые 100 мс. Величина анодного предела составляла +1.3 В. Для анализа полученных данных применяли веб-приложение Analysis Kid с открытым исходным кодом. Приложение Analysis Kid разработано лабораторией Hashemi Lab, позволяет визуализировать, калибровать и фильтровать нейрохимические сигналы (Mena et al., 2022).

По завершении экспериментов был произведен морфологический контроль локализации положения электродов. Крыс умерщвляли передозировкой этиминала натрия и перфузировали физиологическим раствором, затем фиксировали в формалине, мозг выделяли и заливали целлоидином, делали фронтальные срезы и окрашивали крезильовым фиолетовым по методу Ниссля (рис. 3). Область локализации электродов верифицировали после завершения эксперимента в гистологических срезах мозга, используя стереотаксический атлас (Paxinos, Watson., 1998). Для морфологической верификации следа электрода для электростимуляции в вентральной области покрышки среднего мозга делали фронтальный разрез на уровне “Bregma –5.3 мм” (рис. 3 (а)), согласно стереотаксическому атласу. В этой области головного мозга ткань вентральной области покрышки наиболее обширна и представлена дофаминергическим паранигральным ядром (Дробленков и др., 2018). Для верификации следа электрода и регистрации в прилежащем ядре делали фронтальный срез на уровне “Bregma +2.7 мм” согласно атласу. Далее продолжали иссекать срезы на протяжении 0.7–1 мм до той области переднего мозга, в которой прилежащее ядро занимает наибольшую площадь. В этой части мозга передняя комиссура смещалась к верхней медиальной части ядра, тогда как в его наиболее крупной средней области располагался след регистрирующего электрода для определения DA (рис. 3 (б)).

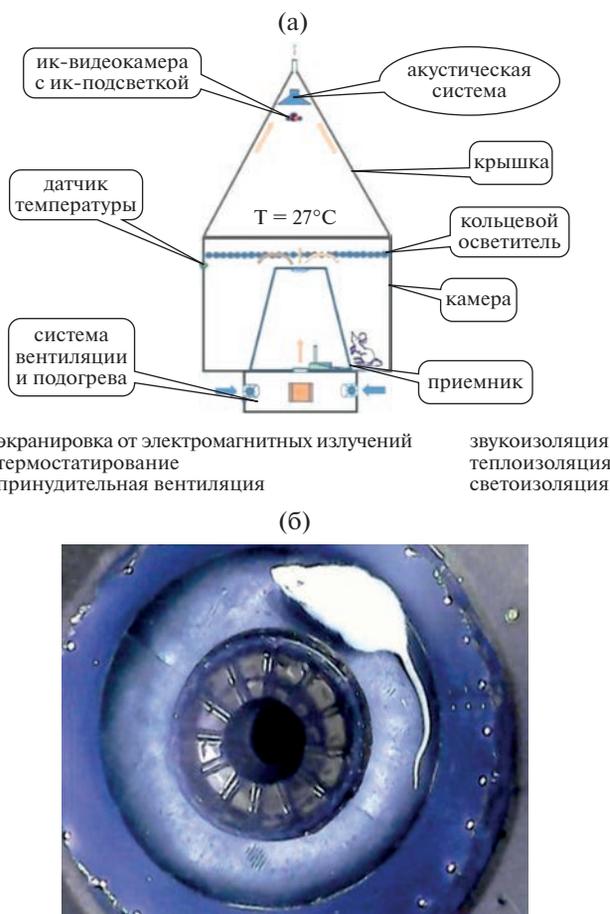


Рис. 2. Установка для тестирования в кольцевой камере. Примечание. (а) — схема установки; (б) — фотография установки (вид сверху).

Fig. 2. Installation for testing in the annular chamber. Note. A (a) — installation diagram; (б) — photo installations (top view).

Для статистической обработки полученных данных применяли программу GraphPad Prizm 8.1 (GraphPad Software, США). Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым использовали критерий нормальности Д'Агостино-Пирсона. Множественные межгрупповые сравнения зависимых выборок проводили с использованием критерия Фридмана, парные сравнения зависимых выборок — критерия Данна. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведено тестирование реакции самостимуляции в камере Скиннера. Общепринятым критерием формирования и стабилизации реакции самостимуляции у животных является показатель более 90–100 актов за де-

сятиминутный интервал (Шабанов и др., 2002). При значениях силы тока, пороговых для самостимуляции, в ряде случаев самораздражение сопровождалось специфическими поведенческими реакциями, включающими в себя элементы исследовательского, пищевого, питьевого и полового поведения. Пороговая для самостимуляции сила тока составляла от 54 до 88 мкА. В начале обучения подкреплялось инструментальное движение к педали, затем и само нажатие педали. Животные в ряде случаев не отходили от педали. Для повторного получения внутримозгового подкрепления животное должно было научиться отжимать педаль и снова ее нажимать. В первый день обучения число нажатий на педаль регистрировали каждые 2 мин тестирования. Число нажатий на педаль увеличивалось с 6-й мин по сравнению с первым двухминутным интервалом, однако число на-

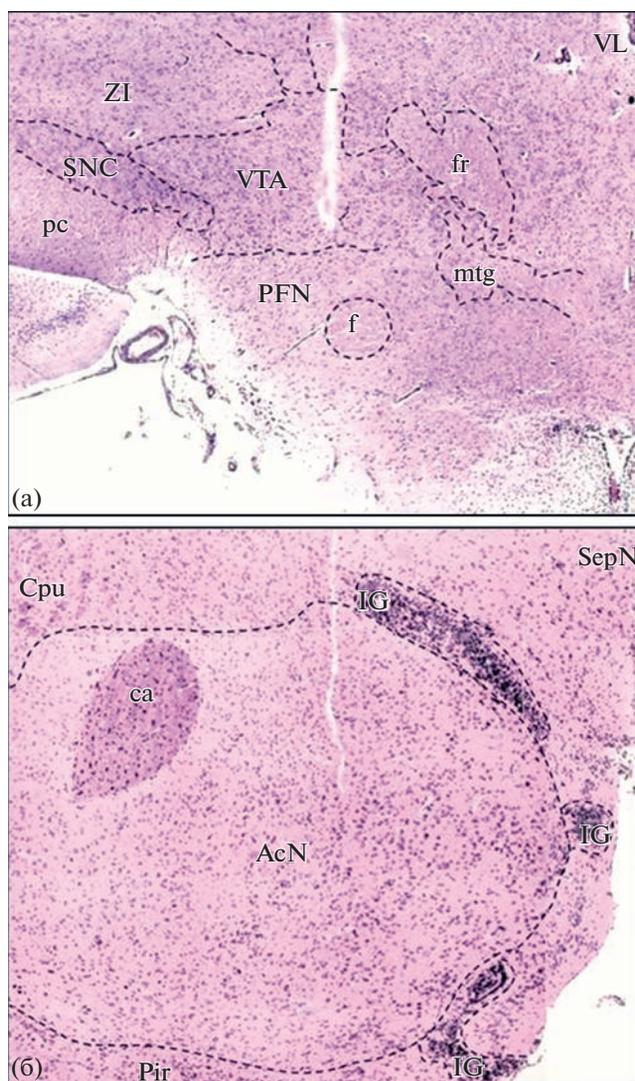


Рис. 3. Морфологический контроль следа электродов в головном мозге крыс: след электрода для стимуляции в ВОП на уровне Bregma -5.3 мм (а) и след тонкого электрода для регистрации в передней части прилежащего ядра на уровне Bregma $+2.7$ мм (б). Примечание. Обозначения к фотографии (а): VTA – комплекс ядер вентральной покрышки среднего мозга, SNC – компактная часть черной субстанции, ZI – зона инсерта, PFN – перифорникальное ядро, VL – боковой желудочек, ср – ножка мозга, f – свод, fr – fasciculus retroflexus, mtg – fasciculus mamillotegmentalis. Обозначения к фотографии (б): AcN – прилежащее ядро конечного мозга, Cpu – стриопаллидарный комплекс, IG – обонятельные ядра, Pir – грушевидная кора, SepN – ядра перегородки, ca – передняя спайка мозга. Окраска методом Ниссля, ок. $\times 10$, об. $\times 10$.

Fig. 3. Morphological control of the trace of electrodes in the brain of rats: the trace of the electrode for stimulation of the VTA at the level of Bregma -5.3 mm (a) and the trace of a thin electrode for recording in the anterior part of the nucleus accumbens at the level of Bregma $+2.7$ mm (b). Note. Labels for photo (a): VTA – nucleus complex of the ventral tegmentum of the midbrain, SNC – compact part of the substantia nigra, ZI – insert zone, PFN – perifornical nucleus, VL – lateral ventricle, cp – cerebral peduncle, f – fornix, fr – fasciculus retroflexus, mtg – fasciculus mamillotegmentalis. Labels for photo (b): AcN, nucleus accumbens, Cpu, striopallidar complex, IG, olfactory nuclei, Pir, piriform cortex, SepN, septal nuclei, ca, anterior commissure of the brain. Nissl staining, s, approx. $\times 10$, vol. $\times 10$.

жаний не достигало критерия обучения реакции самостимуляции (рис. 4 (а)). На 2-й день обучения производили преимущественно “отталкивания” животного от педали, после чего оно обучалось не только нажимать педаль, но и ее отжимать. Только на 3-й день

животные обучались нажимать на педаль и достигали критерия обучения. Число нажатий педали для получения внутримозгового подкрепления в камере Скиннера достоверно увеличивалось на 3-й день и 4-й день эксперимента по сравнению с первым днем. В 3-й день

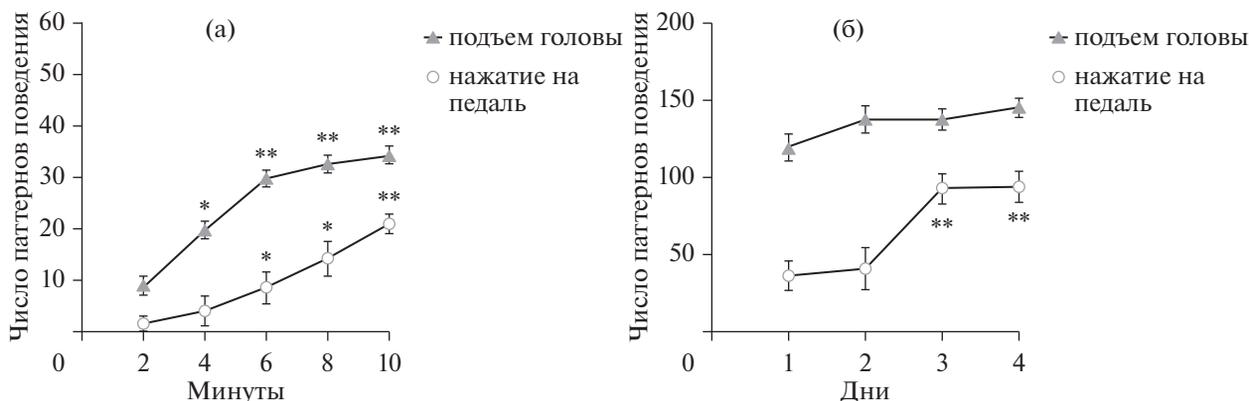


Рис. 4. Число нажатий на педаль и подъемов головы при обучении и стабилизации реакции самостимуляции в первый день тестирования (а) и последующие дни (б). Примечание: (а) показатели реакции самостимуляции за двухминутные интервалы тестирования. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – относительно 1-го двухминутного интервала; (б) показатели реакции самостимуляции с 1-го по 4-й день обучения, ** $p < 0.01$ – относительно 1-го дня.

Fig. 4. The number of pedal presses and the number of raising the head learning and stabilization of the self-stimulation reaction on the first day of testing (a) and subsequent days (b). Note: (a) the self-stimulation response scores over two-minute testing intervals * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – relative to the 1st two-minute interval; (b) the self-stimulation response scores from the 1st to the 4th day of training are presented ** $p < 0.01$ – relative to the 1st day.

тестирования число нажатий не отличалось от 4-го дня тестирования, что говорит о стабилизации реакции самостимуляции (рис. 4 (б)).

Проведено тестирование реакции самостимуляции в кольцевой камере. При значениях силы тока, пороговых для самостимуляции, в ряде случаев самораздражение сопровождалось специфическими поведенческими реакциями. Исследования показали, что пороговая для самостимуляции сила тока составляла от 45 до 75 мкА. При обучении подкреплялось инструментальное движение подъема головы. После подачи комплексного раздражителя (света и звука) животные проявляли ориентировочно-исследовательскую реакцию и поднимали голову на 38 градусов и более. Как только животное поднимало голову на 38 градусов, то получало стимуляцию зоны награды ВОП. Животные обучались поднимать и опускать голову для получения подкрепления в первый день эксперимента и достигали установленного критерия обучения. При первом же тестировании, которое длилось в течение 10 мин, животные обучались поднимать и опускать голову для самостимуляции. Число подъемов головы регистрировали за каждые 2 минуты тестирования. При данном методе самостимуляции для обучения животного не требовалось наличие периода “отгалкивания” от педали, как в случае с обучением в камере Скиннера. Уже в первый день обучения при тестировании наблюдалось повышение и стабилизация реакции самостимуляции. Число

подъемов головы к 6-й минуте тестирования увеличивалось в 3 раза по сравнению с показателями первого двухминутного интервала и выходило на плато. В последующие двухминутные интервалы измерения в первый день эксперимента число подъемов головы достоверно не изменялось (рис. 4 (а)). Повторное тестирование на 2, 3 и 4-й дни не увеличивало показатели реакции самостимуляции в кольцевой камере, что свидетельствует о стабилизации навыка (рис. 4 (б)).

В настоящей работе проведено измерение уровня внеклеточного ДА в прилежащем ядре у крыс в свободном поведении. Попытки зарегистрировать высвобождение ДА во время самой реакции самостимуляции в наших экспериментах выявило неотчетливую картину. В условиях свободного поведения интервалы между отдельными движениями головы при самораздражении сильно варьировали, от 0.1 до 10 с. В этих условиях отдельные реакции высвобождения ДА, по-видимому, накладывались друг на друга и давали неясную картину при регистрации вольтамперограмм. Отчетливые картины высвобождения ДА наблюдались только через 2 мин после серии самостимуляции. Поэтому в настоящих исследованиях мы стали подавать пачку импульсов (длительностью 0.5 с) с фиксированной силой тока и регистрировали вольтамперограмму ДА только через 2 мин после серии самостимуляции. Животным производили навязанную стимуляцию ВОП пачкой импульсов с параметрами самостимуляции че-

рез 2 мин после каждой из трех 10-минутных серий тестирования реакции самостимуляции и регистрировали вольтамперограмму.

Первую регистрацию уровня ДА проводили до начала самостимуляции ВОП. Навязанная стимуляция ВОП вызывала увеличение содержания внеклеточного ДА, характеризующееся увеличением силы тока на сенсорном электроде до 7.95 ± 0.81 нА при напряжении $+0.65$ В во время сканирующего импульса (рис. 5 (а)). Электростимуляция зоны ВОП вызывала последовательное снижение уровня внеклеточного ДА после каждой серии самостимуляции (рис. 5 (б, в, г)). Таким образом, снижение количества секретируемого ДА отражает истощение внутриклеточного пула нейромедиатора в процессе длительной самостимуляции ВОП.

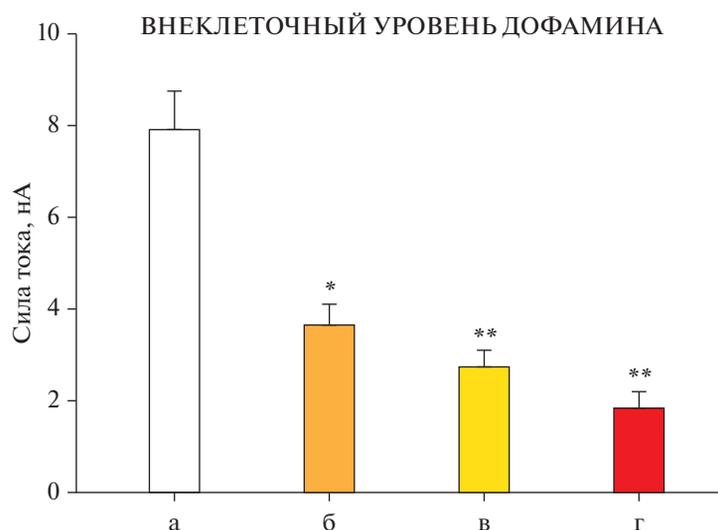
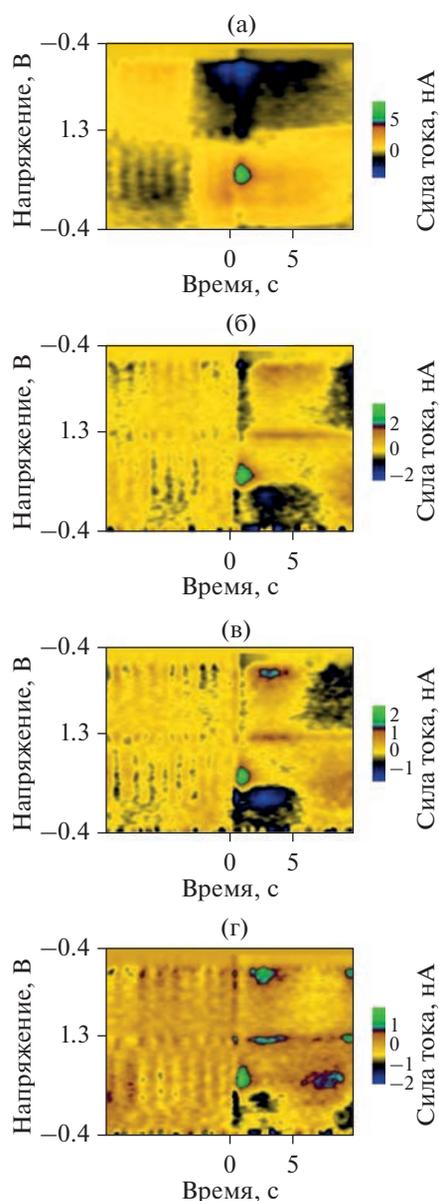
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в работе было проведено сравнительное исследование классического педального метода самостимуляции в камере Скиннера и метода “подъема головы” в кольцевой камере. Идея о том, что в основе образования инструментальных условных рефлексов лежит механизм “мотивации привлекательностью” (“incentive salience attribution”), была высказана еще И.П. Павловым (Павлов, 1951). Он предположил, что в основе выработки условных рефлексов второго типа (инструментальных условных рефлексов) лежит ассоциация между проприоцептивным сигналом от выполняемого движения и пищевым безусловным стимулом. В начале обучения реакции самостимуляции в камере Скиннера в наших опытах подкреплялось инструментальное движение, направленное к педали, а затем и само нажатие педали. Как правило, только на 2-й день обучения после “отталкивания” животного от педали оно обучалось не только нажимать педаль, но и ее отжимать. К стабилизации выработанного навыка нажатия на педаль приступали, как правило, только на 3-й день обучения. При сравнении числа нажатий педали для получения внутримозгового подкрепления в камере Скиннера в первые два дня обучения и в последующие дни эксперимента оказалось, что число нажатий увеличивалось к 3-му дню и держалось на том же уровне в 4-й день тестирования (рис. 4 (б)).

Преимущество метода “подъема головы” заключалось в том, что реакцию самостимуляции можно было выработать быстро, в течение

первых минут исследования. Животные уже в первый день тестирования обучались поднимать и опускать голову для получения подкрепления и достигали установленного критерия обучения, при этом не требовалось наличие периода “отталкивания”, как в случае с обучением в камере Скиннера. Уже в первый день обучения при тестировании наблюдалось повышение и стабилизация реакции самостимуляции (рис. 4 (а)). В последующие дни (во 2, 3 и 4-й дни от начала обучения) достоверных отличий по частоте самостимуляции от 1-го дня не наблюдалось (рис. 4 (б)). Возникает вопрос, почему скорость выработки и время стабилизации реакции самостимуляции значительно меньше при использовании в качестве условного сигнала изменения позы при подъеме головы в отличие от классической камеры Скиннера с педалью? Ответ можно дать исходя из анализа внешних и внутренних факторов, сопровождающих процесс выработки и стабилизации инструментальной условной реакции самостимуляции.

Во-первых, это связано с отличиями в самой структуре условного рефлекса на изменение позы. Выработка инструментальных условных рефлексов, как известно, сопровождается образованием ряда временных связей, как классического, так и инструментального характера. Известно, что выработка инструментальных условных рефлексов происходит быстрее, чем классических (Лебедев и др., 2022). При выработке инструментального условного рефлекса цель движения (внешняя – педаль для самостимуляции или внутренняя – поза) на основе павловского ассоциативного механизма становится привлекательной и приобретает побудительное значение (“incentive salience attribution”) (Майоров, 2018). В то же время “внешняя или внутренняя цели движения”, по-видимому, имеют разное значение для образования характера временных связей, как внутримозговых эквивалентов условного инструментального рефлекса. В то время как первая в большей степени связана с включением классической (павловской) временной связи, вторая, внутренняя, имеет преимущественно инструментальную основу. Изменение позы подъема головы в нашем случае является внутренним проприоцептивным условным сигналом. При изучении реакции самостимуляции в кольцевой камере отсутствует педаль как внешний объект для инструментального поведения, где время для обучения ее нажатия (и отжатия)



не требуется. Как было описано во введении, ранее уже использовали для самостимуляции контактное устройство, установленное на голове крысы, которое замыкало цепь, когда животное касалось пластины над головой. Реакция подъема головы до пластины, описанная в данной работе, на первый взгляд очень сходна с методикой самостимуляции в кольцевой камере. В то же время сама пластина над головой является дополнительным внешним объектом для инструментального поведения и больше напоминает педаль, что, в свою очередь, может увеличивать время обучения и стабилизации навыка. Таким образом, наличие только

внутреннего проприоцептивного сигнала изменения позы в кольцевой камере (без дополнительного внешнего сигнала — педали или пластины над головой) вызывает увеличение скорости обучения и стабилизации реакции самостимуляции.

Во-вторых, скорость выработки и время стабилизации реакции самостимуляции в кольцевой камере связано также и с повышением степени адекватности раздражителей, отмеченное И.П. Павловым при изучении условных рефлексов. Подкрепляющая электрическая стимуляция в кольцевой камере вызывала, как правило, интенсивную ориентировочно-исследовательскую реакцию по-

Рис. 5. Кинетика изменения внеклеточного уровня ДА в прилежащем ядре в ответ на электрическую стимуляцию зоны вентральной области покрышки до и после трех последовательных 10-минутных серий самостимуляции ($n = 5$). Примечание. На цветных панелях показан набор циклических вольтамперограмм, записанных за 10-секундный интервал до и после трех последовательных 10-минутных серий самостимуляции (5 (а, б, в, г)). По оси ординат отложен потенциал, приложенный на сенсорный электрод во время каждой вольтамперограммы, по оси абсцисс – время, в которое она была записана, а текущие изменения электрического тока закодированы цветом. ДА представлен во время стимуляции при +0.65 В (пик окисления, закодирован зеленым цветом). Цветовая шкала отражает величину изменения электрического тока: (5а) – до 8 нА, (5б) – до 3.7 нА, (5в) – до 2.5 нА, (5г) – до 1.8 нА. На графике представлена величина силы тока при +0.65 В на сенсорном электроде, отражающая уровень внеклеточного ДА в прилежащем ядре в процессе последовательных серий самостимуляции (среднее и стандартная ошибка средней). (а) – уровень внеклеточного ДА перед началом серий самостимуляций, (б) – уровень внеклеточного ДА после первой серии самостимуляции, (в) – уровень внеклеточного ДА после второй серии самостимуляции, (г) – уровень внеклеточного ДА после третьей серии самостимуляции. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ относительно величины, зарегистрированной перед самостимуляцией.

Fig. 5. Kinetic of changes in the DA extracellular level in the nucleus accumbens in response to electrical stimulation of the ventral tegmental area before and after three consecutive 10-minute series of self-stimulation ($n = 5$). Note: The color panels show a set of cyclic voltammograms recorded over a 10-s interval before and after three consecutive 10-min self-stimulation series (5 (a, b, v, r)). The y-axis shows the potential applied to the sensor electrode during each voltammogram, the abscissa shows the time at which it was recorded, and the current changes in electric current are color-coded. Dopamine is present during stimulation at +0.65 V (oxidation peak, coded in green). The color scale reflects the magnitude of the electric current change: (5a) – up to 8 nA, (5b) – up to 3.7 nA, (5v) – up to 2.5 nA, (5r) – up to 1.8 nA. The graph shows the magnitude of the current at +0.65 V on the sensor electrode, reflecting the level of extracellular dopamine in the nucleus accumbens during successive series of self-stimulation (mean and standard error of the mean). (a) – extracellular dopamine level before the start of self-stimulation series, (б) – extracellular dopamine level after the first self-stimulation series, (в) – extracellular dopamine level after the second self-stimulation series, (r) – extracellular dopamine level after the third self-stimulation series. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ relative to the value, recorded before self-stimulation.

искового характера, когда положение головы быстро изменялось при обнюхивании окружающего пространства. В это время положение головы животного достигало требуемого значения (подъема на 38 градусов) для включения подкрепляющего электрического стимула зоны награды. В данном случае мы имеем дело с проявлением естественных движений обнюхивания, которые обычно наблюдаются при стимуляции положительных подкрепляющих зон головного мозга у крыс. Эти движения генетически детерминированы и необходимы для осуществления территориального и внутривидового поведения у грызунов (Lebedev et al., 2020). Под адекватностью условного и безусловного раздражителей, как одного из правил образования условного рефлекса, И.П. Павлов понимал прежде всего органическое соединение системы восприятия и движения животного с конкретными условиями и задачами эксперимента. Исследование самостимуляции в кольцевой камере в большей степени отвечает критериям адекватности, чем при обучении нажатия педали в камере Скиннера. Подкрепляющая электрическая стимуляция при обучении реакции самостимуляции в камере Скиннера обычно также вызывает интенсивную ориентировочно-исследовательскую реакцию

поискового характера, когда положение головы быстро изменяется при обнюхивании окружающего пространства. Однако искусственные условия наличия педали в камере Скиннера снижают критерий адекватности условного раздражителя. В связи с этим реакцию самостимуляции уже к 80–90-м годам многие исследователи стали считать искусственным феноменом, не отражающим реальную картину интегративного эмоционального ответа организма (Negus, Miller, 2014). Первоначально в опытах Дж. Олдса было сделано наблюдение естественного поведения, когда животные возвращались в то место, где производилась стимуляция мозга (Симонов, 1980). В “двухплатформенном” тесте, разработанном Валенштейном, животные, выходя на одну платформу, вызывали стимуляцию мозга. Как правило, платформа со стимуляцией чередовалась с платформой без стимуляции (Liebman, 1983). В наших исследованиях также регистрировали поведение крыс в челночной камере, когда чередовались площадка со стимуляцией с площадкой без стимуляции (Petrov, Lebedev, 1997). Таким образом, использование метода “подъема головы” в круговой камере, когда педаль отсутствует, больше связано с естественным видовым поведением и

удовлетворяет критерию адекватности при образовании условного рефлекса.

В настоящей работе проведено тестирование реакции самораздражения ВОП с использованием телеметрии и определения уровня внеклеточного ДА в прилежащем ядре у крыс в свободном поведении. На основе анализа литературных данных и собственных наблюдений мы пришли к выводу о том, что при самораздражении более целесообразно определять изменение уровня ДА в ответ на навязанную стимуляцию структуры мозга. Попытки зарегистрировать высвобождение ДА во время самой реакции самостимуляции в наших экспериментах выявило неотчетливую картину. В условиях свободного поведения интервалы между отдельными нажатиями педали (в нашем случае движения головы при самораздражении), как правило, сильно варьируют, от 0.1 до 10 с. В этих условиях отдельные реакции высвобождения ДА в ответ на последовательные нажатия педали могут накладываться друг на друга и давать неясную картину при регистрации вольтамперограмм. Поэтому в настоящих исследованиях подавали пачку импульсов (длительностью 0.5 с) с фиксированной силой тока и регистрировали вольтамперограмму в перерывах между сериями самостимуляции. Установлено снижение уровня внеклеточного ДА в прилежащем ядре при длительной самостимуляции ВОП. Данное снижение высвобождения ДА из дофаминергических терминалей отражает истощение внутриклеточного пула нейромедиатора в процессе длительной самостимуляции ВОП. В ряде работ физическое высвобождение ДА также регистрировалось лишь в начале серии самораздражения (Rodeberg et al., 2016), а в течение продолжительной серии тестирования самостимуляции в режиме FR1 оно снижалось (Cheer et al., 2004). С другой стороны, в режиме FR8 (когда подкрепляется только каждое 8-е нажатие педали, т.е. увеличивается время между подачей подкрепления и регистрацией внеклеточного ДА) появлялась возможность регистрации высвобождения ДА в процессе самостимуляции (Yavich, Tiisonen, 2000).

Таким образом, полученные в настоящих исследованиях данные говорят о перспективе использования способа обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, регистрирующей уровень внеклеточного дофамина. В перспективе данный способ может быть

также использован для изучения аддиктивных свойств фармакологических средств в сочетании с определением уровня внеклеточного ДА.

ВЫВОДЫ

1. Реакция самостимуляции при нажатии на педаль в камере Скиннера по времени выработки и стабилизации уступает методу, когда подкрепление подается при подъеме головы. Это связано со структурой вырабатываемого рефлекса и адекватностью раздражителей.

2. Для исследования механизмов подкрепления при самораздражении целесообразно регистрировать и анализировать повышение уровня ДА в ответ на навязанную стимуляцию области мозга, при стимуляции которой наблюдается и реакция самораздражения.

3. Для изучения механизмов внутримозгового подкрепления при самостимуляции использование способа обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, регистрирующей уровень внеклеточного дофамина, является перспективным.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (шифр: FGWG-2022-0032).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Ефимов Н.С., Крюков А.С., Карпова И.В., Пюрвеев С.С., Дробленков А.В., Шабанов П.Д. Особенности вовлечения дофаминергической и серотонинергической систем мозга в положительные и отрицательные эмоциональные состояния у крыс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020. 18 (2): 123–130.
- Дробленков А.В., Федоров А.В., Шабанов П.Д. Структурные особенности дофаминергических ядер вентральной покрышки среднего мозга. Наркология. 2018. 17 (3): 41–45.
- Лебедев А.А., Русановский В.В., Лебедев В.А., Шабанов П.Д. Нейрофизиология. Москва–Берлин: ООО “Директ-Медиа”. 2022. 270 с.
- Майоров В.И. Функции дофамина в инструментальном условном рефлексе. Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. 68м (4): 404–414.

- Мухин В.Н., Боровец И.Р., Сизов В.В., Павлов К.И., Клименко В.М.* В-амилоид и литий влияют на величину фазических выбросов дофамина в оболочке прилежащего ядра. Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2020. 70 (4): 488–499.
- Павлов И.П.* Полное собрание сочинений. АН СССР. – Изд. 2-е, доп. М.: Изд-во АН СССР, 1951–1954. Т. 3, кн. 1: [Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведения)].
- Пюреев С.С., Сизов В.В., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Мухин В.Н., Дробленков А.В., Шабанов П.Д.* Регистрация изменений уровня внеклеточного дофамина в прилежащем ядре методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии при стимуляции зоны вентральной области покрышки, раздражение которой вызывает и реакцию самостимуляции. Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. 2022. 108 (10): 1316–1328.
- Симонов П.В.* Эмоциональный мозг. М.: Наука, 1980.
- Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К.* Дофамин и подкрепляющие системы мозга. СПб.: Лань, 2002.
- Cheer J.F., Wassum K.M., Heien M.L., Phillips P.E., Wightman R.M.* Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J. Neurosci.* 2004. 24 (18): 4393–4400.
- Fakhoury M., Rompré P.P.* Intracranial self-stimulation and the curve-shift paradigm: a putative model to study the brain reward system. in *The Brain Reward System*, ed. Fakhoury M. (New York, NY: Humana;) 2021. 165: 3–20.
- Fouriez G., Randall D.* The cost of delaying rewarding brain stimulation. *Behav. Brain Res.* 1997. 87 (1): 111–113.
- Ide S., Takahashi T., Takamatsu Y., Uhl G.R., Niki H., Sora I., Ikeda K.* Distinct Roles of Opioid and Dopamine Systems in Lateral Hypothalamic Intracranial Self-Stimulation. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2017. 20 (5): 403–409.
- Lebedev A.A., BessolovaYu.N., Efimov N.S., Bychkov E.R., Droblenkov A.V., Shabanov P.D.* Role of orexin peptide system in emotional overeating induced by brain reward stimulation in fed rats. *Research Results in Pharmacology.* 2020. 6 (1): 81–91.
- Liebman J.M.* Discriminating between reward and performance: a critical review of intracranial self-stimulation methodology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1983. 7 (1): 45–72.
- Mena S., Visentin M., Witt C.E., Honan L.E., Robins N., Hashemi P.* Novel, User-Friendly Experimental and Analysis Strategies for Fast Voltammetry: Next Generation FSCAV with Artificial Neural Networks. *ACS Meas. Sci. Au.* 2022. 2 (3): 241–250.
- Negus S.S., Miller L.L.* Intracranial self-stimulation to evaluate abuse potential of drugs. *Pharmacol. Rev.* 2014. 66 (3): 869–917.
- Pallikaras V., Shizgal P.* Dopamine and beyond: implications of psychophysical studies of intracranial self-stimulation for the treatment of depression. *Brain Sci.* 2022. 12 (8): 1052.
- Panagis G., Vlachou S., Higuera-Matas A., Simon M.* Editorial: neurobehavioral mechanisms of reward: theoretical and technical perspectives and their implications for psychopathology. *Front. Behav. Neurosci.* 2022. 5; 16: 967922.
- Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005. 207 с.
- Petrov E.S., Lebedev A.A.* Dopamine and the reinforcing system of the brain. *Neurosci. Behav. Physiol.* 1997. 27 (3): 309–311.
- Rodeberg N.T., Johnson J.A., Bucher E.S., Wightman R.M.* Dopamine dynamics during continuous intracranial self-stimulation: effect of waveform on fast-scan cyclic voltammetry data. *ACS Chem. Neurosci.* 2016. 7 (11): 1508–1518.
- Rothman R.B., Baumann M.H.* Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *Eur. J. Pharmacol.* 2003. 479 (1–3): 23–40.
- Solomon R.B., Conover K., Shizgal P.* Valuation of opportunity costs by rats working for rewarding electrical brain stimulation. *PLoS One.* 2017. 12 (8): e0182120.
- Trujillo-Pisanty I., Conover K., Solis P., Palacios D., Shizgal P.* Dopamine neurons do not constitute an obligatory stage in the final common path for the evaluation and pursuit of brain stimulation reward. *PLoS One.* 2020. 15 (6): e0226722.
- Velazquez-Martinez D.N., Pacheco-Gomez B.L., Toscano-Zapien A.L., Lopez-Guzman M.A., Velazquez-Lopez D.* On the Similarity Between the Reinforcing and the Discriminative Properties of Intracranial Self-Stimulation. *Front. Behav. Neurosci.* 2022. 16: 799015.
- Yavich L., Tiuhonen J.* Patterns of dopamine overflow in mouse nucleus accumbens during intracranial self-stimulation. *Neurosci. Lett.* 2000. 293 (1): 41–44.

METHOD FOR TRAINING ELECTRICAL SELF-STIMULATION IN RESPONSE TO HEAD ELEVATION IN RATS BY A TELEMETRY SYSTEM THAT REGISTERS EXTRACELLULAR DOPAMINE LEVELS

V. V. Sizov^a, A. A. Lebedev^{a, #}, S. S. Pyurveev^{a, b}, E. R. Bychkov^{a, c},
V. N. Mukhin^a, A. V. Drobenkov^a, and P. D. Shabanov^a

^a*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia*

^b*St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^c*St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru*

In this work, we propose a method for training rats electrical self-stimulation in response to rearing head in a telemetric system that records the level of extracellular dopamine. Initially, in the experiments of J. Olds, it was shown that in response to electrical stimulation of zones of positive reinforcement, rats exhibit natural exploratory behavior aimed at finding the source of the reward. It has been suggested that a natural behavioral act, in particular rearing head, can accelerate the development and stabilization of the self-stimulation reaction. A change in the position of the head can serve as an internal proprioceptive conditioned signal. The experiments were carried out in an annular chamber, where the ventral tegmental area (VTA) was stimulated using a telemetric system when the rat's head was raised by 38°. The self-stimulation response to rearing head was developed and stabilized during the first day of training. With pedal self-stimulation, distinct repetitive reactions were observed only on the 3rd day of training after the procedures of "pushing" on the pedal on the 1st day of training and "repulsing" from the pedal on the 2nd day of training, stabilization of the reaction was observed only by the 4th day training. After stabilization of the self-stimulation response in rats, the level of extracellular dopamine in the nucleus accumbens was recorded by fast-scan cyclic voltammetry in response to the imposed stimulation of the VTA before and after each of the three series of self-stimulation lasting 10 minutes. After each series of self-stimulation, the level of extracellular dopamine decreased, which reflects the depletion of the intracellular pool of the neurotransmitter during prolonged self-stimulation of the VTA. The conclusion is made about the prospects of using the method of training rats to electrical self-stimulation in response to rearing head to study the mechanisms of reinforcement.

Keywords: self-stimulation, extracellular dopamine level, fast-scan cyclic voltammetry, nucleus accumbens