СОДЕРЖАНИЕ

Том 72, номер 3, 2022

Обзоры и теоретические статьи	
Спектр синдромальных нарушений при экспансии CGG-повторов промотора гена FMR1: патогенетические механизмы и клинические проявления	
Д. С. Переверзева, С. А. Тюшкевич, Е. В. Улас, Н. Л. Горбачевская	293
Роль зубчатой извилины в осуществлении функций гиппокампа: здоровый мозг	
В. Ф. Кичигина, Л. В. Шубина, И. Ю. Попова	317
Роль зубчатой извилины в осуществлении функций гиппокампа: эпилептический мозг	
В. Ф. Кичигина, Л. В. Шубина, И. Ю. Попова	343
Физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека	
Скорость обработки гиппокампом контекстуальной информации связана с ее конгруэнтностью ранее сформированным схемам	
А. Н. Воробьева, Т. Феделе, Э. Ф. Павоне, Й. Зарнтайн, Л. Имбах, М. Феурра	360
Анализ локальной динамики распространения межприступных разрядов с помощью модели бегущих волн	
А. А. Кузнецова, А. Е. Осадчий	370
Мозговая организация рабочей памяти при отсроченном копировании ломаной линии: анализ потенциалов, связанных с императивным сигналом	
А. В. Курганский, Д. И. Ломакин, А. А. Корнеев, Р. И. Мачинская	387
Физиологические механизмы поведения животных: восприятие внешних стимулов, двигательная активность, обучение и память	
Дефицит гиппокамп-зависимого обучения не коррелирует с подавлением долговременной посттетанической потенциации при системной блокаде НМДА-рецепторов	
В. А. Коршунов, Ш. С. Узаков	405
Влияние материнской среды на раннее постнатальное развитие крыс линии OXYS	
Т. Н. Игонина, О. М. Воронкова, Д. С. Рагаева, Е. Ю. Брусенцев, И. Н. Рожкова, Н. Г. Колосова, С. Я. Амстиславский	421

Contents

Vol. 72, No. 3, 2022

Reviews and theoretical articles	
The spectrum of syndromic disorders associated with expansion of CGG-repeats in the <i>FMR1</i> promoter: pathogenetic mechanisms and clinical symptoms	
D. S. Pereverzeva, S. A. Tyushkevich, E. V. Ulas, N. L. Gorbachevskaya	293
The role of the dentate gyrus in the implementation of the hippocampal functions: healthy brain	
V. F. Kitchigina, L. V. Shubina, I. Yu. Popova	317
The role of the dentate gyrus in the implementation of the hippocampal functions: epileptic brain	
V. F. Kitchigina, L. V. Shubina, I. Yu. Popova	343
Physiology of higher nervous (mental) activity in humans	
Hippocampus-located processing speed of contextual information is associated with its congruence to the previously developed schemas	
A. N. Vorobiova, T. Fedele, E. F. Pavone, J. Sarnthein, L. Imbach, M. Feurra	360
Local propagation dynamics of MEG interictal spikes	
A. A. Kuznetsova, A. E. Ossadtchi	370
Brain organization of working memory during delayed copying of a broken line: an analysis of potentials related to the go signal	
A. V. Kurgansky, D. I. Lomakin, A. A. Korneev, R. I. Machinskaya	387
Physiology of behavior: perception, locomotion, learning and memory	
Deficits of hippocampus-dependent learning do not correlate with blockade of long-term potentiation by the system administration of an NMDA-receptor antagonist	
V. A. Korshunov, Sh. S. Uzakov	405
Maternal influence on the early postnatal development in OXYS rats	
T. N. Igonina, O. M. Voronkova, D. S. Ragaeva, E. Yu. Brusentsev, I. N. Rozhkova, N. G. Kolosova, S. Ya. Amstislavsky	421

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 159.973;575.113/575.117;616.89

СПЕКТР СИНДРОМАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПАНСИИ CGG-ПОВТОРОВ ПРОМОТОРА ГЕНА *FMR1*: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ

© 2022 г. Д. С. Переверзева¹, С. А. Тюшкевич¹, Е. В. Улас², Н. Л. Горбачевская^{1, 3, *}

 1 Московский государственный психолого-педагогический университет (Φ ГБОУ ВО МГППУ), Москва, Россия 2 Институт белка РАН, Пущино, Россия

 3 Научный центр психического здоровья (ФГБНУ НЦПЗ), Москва, Россия

*e-mail: gorbachevskaya@yandex.ru
Поступила в редакцию 21.11.2020 г.
После доработки 01.03.2021 г.
Принята к публикации 02.03.2021 г.

Спектр заболеваний, ассоциированных с ломкой хромосомой X (FXSD) объединяет следующие клинические синдромы: синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X (fragile X syndrome, FXS), синдром тремора и атаксии (FXTAS), синдром первичной овариальной недостаточности (FXPOI), группа нейропсихиатрических нарушений (FXAND). Причиной их возникновения являются динамические мутации гена FMR1. вызванные экспансией тринуклеотидных повторов в промоторе гена. Синдром FXS (умственная отсталость, РАС, СДВГ) возникает при полной мутации гена FMR1 (увеличение количества CGG-повторов свыше 200), сопровождающейся полным или частичным подавлением экспрессии белка FMRP. Клинические проявления FXTAS, FXPOI, FXAND могут возникнуть у лиц-носителей премутации FMR1 (диапазон значений количества CGG-повторов от $55\,дo~200$). К основным патогенетическим механизмам этих заболеваний относят снижение экспрессии FMRP и накопление мРНК FMR1, содержащей увеличенное количество повторов. Настоящий обзор посвящен анализу гено-фенотипических отношений внутри спектра состояний, ассоциированных с динамическими мутациями FMR1. В статье представлен анализ взаимосвязи молекулярных механизмов (дефицит FMRP, трансляция атипичных изоформ, усиление функции мРНК FMR1) и клинических проявлений (уровень когнитивного развития, тяжесть PAC, тяжесть симптомов FXTAS, FXPOI и FXAND).

Ключевые слова: динамические мутации, FMRP, экспансия CGG-повторов *FMR1*, мPHK-транскрипция, умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, СДВГ, FXSD, FXTAS, FXPOI, FXAND

DOI: 10.31857/S004446772203008X

ВВЕДЕНИЕ

К синдромам, вызываемым динамическими мутациями гена *FMR1*, относится синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X (Fragile X syndrome, FXS), синдром тремора и атаксии (fragile X-associated tremor/ataxia syndrome, FXTAS), синдром первичной овариальной недостаточности (fragile X-associated premature ovarian insufficiency, FXPOI), группа нейропсихиатрических нарушений (fragile X- associated neuropsychiatric disorders, FXAND). Мутации *FMR1* могут также стать причиной синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) в детском

возрасте, эндокринных и аутоиммунных нарушений (для обзора см. (Переверзева и др., 2019)).

Ген *FMR1* кодирует белок FMRP, играющий важную роль в созревании нервных клеток. Наиболее частые мутации этого гена связаны с увеличением числа копий тринуклеотидных CGG-повторов в промоторе. Данные мутации гена приводят к полному или частичному подавлению экспрессии белка FMRP. В наиболее общем виде выделяют три типа нарушений функционирования гена *FMR1*, обусловленных накоплением в нем CGG-повторов: "серая зона" (число повто-

ров от 40 до 54), премутация (число повторов от 55 до 199 включительно) и полная мутация (число повторов 200 и более). Полная мутация гена вызывает ингибирование экспрессии FMRP и, как следствие, развитие синдрома FX. Это тяжелое заболевание, центральное место в клинической которого занимают нарушения психического развития, интеллектуальная недостаточность и расстройства аутистического спектра (РАС). Премутация гена *FMR1* приводит к умеренному дефициту белка FMRP и избытку транскрипта гена *FMR1*, накопление которого имеет нейротоксический эффект. Премутация ассоциирована с такими синдромами, FXTAS, FXPOI, FXAND, эндокринными заболеваниями и аутоиммунными расстройствами, а также нарушениями развития в детском возрасте: расстройствами аутистического спектра (РАС), синдромом дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), трудностями школьного обучения (ТШО).

Клинические проявления при состояниях, ассоциированных с мутациями гена *FMR1*, несмотря на свое разнообразие, имеют ряд пересечений. Степень дефицита FMRP различается в зависимости от типа мутации и пола индивидуума и значимо коррелирует с уровнем когнитивного развития (Kim et al., 2019; Loesch et al., 2004). Точно так же существует зависимость между количеством повторов в промоторе *FMR1*, количеством транскрипта гена и тяжестью синдромов FXTAS, FXPOI, FXAND (Loesch, Hagerman, 2012).

Настоящая статья посвящена описанию гено-фенотипических взаимосвязей между количеством тринуклеотидных повторов в промоторе гена *FMR1* и особенностями клинической картины при FXSD (Fragile X spectrum disorders, спектр заболеваний, ассоциированных с ломкой хромосомой Х). Особое внимание мы уделяем патогенетическим механизмам, лежащим в основе формирования фенотипических проявлений данных заболеваний. Представлен анализ данных о гетерогенности клинических проявлений, рисках и тяжести развития когнитивного дефекта, РАС, СДВГ, FXTAS, FXPOI, FXAND, в зависимости от таких генетических особенностей, как тип мутации в гене *FMR1*, гомо- либо гетерозиготное состояние мутации, наличие либо отсутствие генетического мозаицизма.

1. СИНДРОМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С МУТАЦИЯМИ ГЕНА *FMR1*

1.1. Синдром FX, ассоциированный с полной мутацией гена FMR1

Синдром умственной отсталости, связанный с ломкой хромосомой X (fragile X syndrome, FXS – синдром FX, синдром Мартина-Белл), - это тяжелое заболевание, характеризующееся выраженным снижением интеллектуального развития, расстройствами аутистического спектра, задержкой и своеобразием развития речи (для обзора см. Salcedo-Arellano et al., 2020). Распространенность синдрома составляет 1: 7000 среди мужчин и 1: 11000 среди женщин. 98-100% мальчиков с синдромом FX имеют умственную отсталость (Тюшкевич и др., 2010; Budimirovic, 2016), причем в половине случаев IQ не превышает 50 ед. (Hessl et al., 2009). Исключение составляют случаи мозаишизма при FXS, для которых характерны более мягкие проявления интеллектуальной недостаточности (IQ 70 и выше). Картина когнитивных нарушений у женщин в большей степени вариативна. Средний показатель общего интеллекта составляет 74 балла (de Vries, 1996). Около 15% имеют средние нормативные показатели интеллекта (выше 85 баллов) (Sterling, Abbeduto, 2012). Это связано с тем, что женщины в подавляющем большинстве случаев гетерозиготны по мутации в *FMR1*, поскольку имеют в своем геноме две копии хромосомы Х (на которой локализован ген FMR1), т.е. наряду с мутантным аллелем у них присутствует и аллель дикого типа. В силу процесса Х-инактивации у женщин мутантная копия гена будет представлена в одной части клеток, в то время как в другой части экспрессируется копия гена дикого типа. Таким образом, тяжесть болезни у женщины будет зависеть от соотношения в организме этих двух типов клеток (Kirchgessner et al., 1995; Heine-Suñer et al., 2003). Гиперактивность и нарушение внимания (у 80% мальчиков и до 40% девочек), а также социальная тревожность (до 86%) являются преобладающей симптоматикой в картине поведенческих нарушений при FXS. Расстройства в спектре аутизма диагностируются в половине случаев у детей с FXS, при этом степень и глубина их проявлений сильно варьирует от случая к случаю. В дополнение к интеллектуальной недостаточности и поведенческим расстройствам при синдроме FX с высокой частотой отмечаются фенотипические проявления, такие как удлиненное лицо, широкий лоб, оттопыренные уши, макроцефалия, гипермобильность суставов и макроорхидизм (в 80% случаев встречается как минимум один из перечисленных признаков). К неврологическим особенностям синдрома относят эпи-активность, встречающуюся примерно в 15—20% случаев в детском возрасте (Rajaratnam et al., 2017).

1.2. Синдромы, ассоциированные с премутацией гена FMR1

Распространенность премутации гена *FMR1* в популяции крайне велика и составляет по различным оценкам от 1:110 до 1:270 среди лиц женского пола, от 1:250 до 1:830 среди лиц мужского пола (Hagerman et al., 2017). С премутацией ассоциированы синдром тремора и атаксии (FXTAS), синдром первичной овариальной недостаточности (FXPOI), нейропсихиатрические нарушения (FXAND), а также нарушения развития в детском возрасте.

1.2.1. Синдром тремора и атаксии (FXTAS – fragile X-associated tremor/ataxia syndrome)

В старшем возрасте (старше 50 лет) у мужчин (в среднем по группе до 40% встречаемости) и у женщин (не более 20%) развивается синдром тремора и атаксии, характеризующийся прогрессирующим тремором при произвольных движениях, нарушениями походки, паркинсонизмом, периферической невропатией, апноэ, мигренями (Rodriguez-Revenga et al., 2009). В ряде исследований была показана возрастнозависимая пенетрантность FXTAS, характерная как для мужчин, так и для женщин с премутацией: в возрасте 50-59 лет FXTAS проявляется у 8–17% носителей премутации, у 38% — в возрасте 60—69 лет, у 47% — в возрасте 70-79 лет, у 75% — после 80 лет (описаны единичные случаи в данном возрастном периоде) (Jacquemont et al., 2004; Rodriguez-Revenga et al., 2009). Однако стоит заметить, что приведенная возрастная динамика проявления FXTAS наиболее полно описывает мужскую группу с премутацией, тогда как пенетрантность FXTAS у женщин обычно ниже, при этом в результате Х-инактивации тяжесть клинических симптомов у женщин прямо пропорциональна доле в их организме клеток с активной хромосомой X, несущей ген *FMR1* с премутацией. У лиц — носителей премутации, которые не имеют выраженных симптомов нейродегенеративных нарушений, также отмечается снижение с возрастом показателей исполнительных когнитивных функций вплоть до развития деменции у лиц с FXTAS (Cornish et al., 2009; Hashimoto et al., 2010). У мужчин в первую очередь страдают функции планирования, тормозный контроль и рабочая память. У женщин отмечается дефицит зрительно-пространственных представлений, конструктивных способностей (Lozano et al., 2014).

1.2.2. Синдром первичной овариальной недостаточности у женщин (FXPOI — fragile X-associated primary ovarian insufficiency)

FXPOI наблюдается примерно у 20% женщин с премутацией и составляет около 2% от всех случаев овариальной недостаточности среди женщин. Основными симптомами являются нерегулярный менструальный цикл, наступление ранней менопаузы, бесплодие, повышенный уровень фолликулостимулирующего гормона (ΦСГ) (Welt et al., 2004; Nelson, 2005).

1.2.3. Нейропсихиатрические нарушения (синдром FXAND — Fragile X-Associated Neurodevelopmental Disorders)

Самыми частыми клиническими проявлениями, ассоциированными с премутацией гена *FMR1*, являются психоэмоциональные проблемы, которые были объединены Р. Хагерман в отдельный синдром, получивший название FXAND.

Было показано, что у женщин с премутацией существенно повышен риск развития тревожного расстройства (до 70%), депрессии и других нарушений настроения (43% для лиц с премутацией, 31% для контрольной группы), хронической боли и фибромиалгии (26—46% для лиц с премутацией), панических атак (8.6% — лица с премутацией, 3.2% — контрольная группа), социофобии (Hagerman et al., 2018). Помимо этого отмечается высокий риск формирования зависимостей (в т.ч. алкогольной и наркотической), синдрома хронической усталости.

Хотя аутоиммунные болезни (АиБ) не являются нейропсихиатрическими проблемами, они также связаны с премутацией гена *FMR1*. Интересно, что АиБ возникают преимущественно у женщин-носительниц, тогда как у мужчин с премутацией аутоиммунные проблемы встречаются редко. Среди лиц с

премутацией наиболее распространено аутоиммунное заболевание щитовидной железы (24.4%), за которым следует фибромиалгия (10.2%) и синдром раздраженного кишечника (9.9%). В своей работе Ялнапуркар с соавторами предположили, что АиБ могут усугубить эмоциональные нарушения и ускорить наступление FXTAS (Jalnapurkar et al., 2015). Характерно, что депрессия часто предшествует синдрому FXTAS и может рассматриваться как продромальный признак.

1.2.4. Нарушения развития, проявляющиеся в детском возрасте

Число исследований, посвященных специфике развития в детском возрасте у носителей премутации, крайне ограниченно. Обобщенные данные указывают на незначительную в сравнении с нормой задержку в общем развитии в раннем возрасте, на высокий риск развития РАС и СДВГ (Bailey et al., 2008, Clifford et al., 2007; Hagerman, Hagerman, 2004). Так, в четырехлетнем лонгитюдном исследовании (первый измерительный срез был проведен в трехмесячном возрасте детей) было показано, что профили когнитивного, адаптивного, коммуникативного и социального развития у детей с премутацией статистически не отличались от нормы. Однако для детей с премутацией был характерен своеобразный профиль сенсорного восприятия: с одной стороны, отмечались преобладание сенсорного поиска в поведении и гипореактивность на сенсорные раздражители разных модальностей, с другой стороны, было обнаружено увеличение гиперчувствительности с возрастом, что не характерно для нормотипичого развития (Wheeler et al., 2016; Raspa, 2018). Выявленные особенности сенсорного восприятия, по мнению авторов исследования, могут быть рассмотрены как ранние маркеры регуляторных и эмоционально-личностных проблем (СДВГ, РАС, тревожность) в более позднем возрасте. В другом сравнительном исследовании зрительных предпочтений в разных группах детей (типичное развитие, синдром Дауна, синдром FX, премутация, средний возраст испытуемых составил 17.5 мес) было показано, что у детей с премутацией отмечаются более высокие пороги зрительного опознания (уровень контрастной чувствительности 42% и выше) движущихся стимулов второго порядка (определяемых текстурой), чем в контрольной группе. Схожие результаты были получены в группе детей с полной мутацией и синдромом Дауна, что, как полагают авторы работы, указывает на существование некоторого общего дефицита в развитии пространственно-временных представлений при различных вариантах нарушенного развития (Gallego et al., 2014). Еще одним высокочастотным проявлением в детской группе у носителей премутации являются симптомы РАС. Так, аутистические проявления встречаются, по разным данным, у 14–19% мальчиков и 1-5% девочек, что существенно превышает данные по популяции в целом. Гиперактивность и нарушение внимания присутствуют примерно в 40% случаев (Farzin et al., 2006).

1.3. "Серая зона"

Так называемая "серая зона" – состояние, связанное с количеством CGG-повторов в FMR1 в диапазоне 41-54, — также оказывается ассоциирована с рядом клинических особенностей. Несмотря на то, что фенотип индивидуумов с таким количеством повторов не отличается от нормы, существуют исследования, которые показывают повышенный риск развития паркинсонизма как у мужчин, так и v женщин (Loesch et al., 2018; Hall et al., 2020), а также невынашиваемости беременности (Dean et al., 2019). Согласно данным скрининга новорожденных в США частота встречаемости "серой зоны" составляет 1:66 среди лиц женского пола и 1: 112 среди лиц мужского пола (Tassone et al., 2012).

2. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, СВЯЗАННЫЕ С ДИНАМИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *FMR1*

2.1. Ген FMR1: мутации

Ген *FMR1* имеет высоко консервативную последовательность. У человека он локализован в длинном плече хромосомы X, в участке Xq27.3, и имеет следующие геномные координаты (GRCh38): X:147,911,918-147,951,124. *FMR1* на высоком уровне экспрессируется в эмбрионах человека. мРНК *FMR1* синтезируется в мозге плода на ранних стадиях эмбриогенеза в пролиферирующих и мигрирующих клетках нервной системы и сетчатки, а также в хрящевых структурах и печени. В мозге 25-недельного эмбриона человека мРНК *FMR1* продуцируется в наибольших количествах в холинергических нейронах базально-

го ядра и пирамидных нейронах гиппокампа (Abitbol et al., 1993). Постнатально на наиболее высоком уровне мРНК *FMR1* синтезируется в мозге, половых железах, эзофагеальном эпителии, вилочковой железе, глазах и селезенке (Hinds et al., 1993). Ген включает в себя 17 экзонов. Результатом альтернативного сплайсинга является образование нескольких вариантов мРНК *FMR1*, транслируемых в различные изоформы FMRP, каждая из которых имеет собственные биохимические свойства (Ashley et al., 1993).

Транскрипция *FMR1* находится под контролем промотора данного гена — последовательности ДНК, в окружении которой локализован сайт начала транскрипции *FMR1*. Промотор *FMR1* представляет собой небольшой участок последовательности ДНК, располагающийся от 355-го нуклеотида перед областью экспансии CGG-повторов (5') до 60-го нуклеотида после данной области (3') (Kumari et al., 2001). Таким образом, промотор гена включает в себя область экспансии тринуклеотидных повторов, а также предшествующий ей богатый СрG-динуклеотидами островок, внутри которого находится сайт старта транскрипции *FMR1*. При этом в промоторе отсутствует канонический ТАТА-бокс (Drouin et al., 1997). СрG-островок *FMR1* содержит 52 Ср динуклеотида, которые в случае FXS подвергаются метилированию, что приводит к "молчанию" гена FMR1 (Pietrobono et al., 2002). При FXS подавление экспрессии *FMR1* происходит на 11-й неделе эмбриогенеза: в этот момент в случае наличия 200 или более CGG-повторов в промоторе FMR1, как правило, запускаются эпигенетические механизмы метилирования ДНК (присоединения метильных групп к цитозинам в составе СрG-островка) и внесения специфических модификаций в гистоновые белки (Colak et al., 2014). Впрочем, как недавно было показано, изменения паттернов метилирования, связанные с накоплением 200 и более CGGповторов в FMR1, затрагивают не только область CpG-островка промотора *FMR1*. Точная граница метилирования ДНК была обнаружена в 5' области гена, предшествующей сайту начала транскрипции *FMR1*, протяженностью от 650-го до 800-го нуклеотида перед участком CGG-повторов FMR1 (Naumann et al., 2009), – у типично развивающихся индивидуумов эта граница отделяет метилированную ДНК, расположенную перед промоторной областью FMR1, от неметилированного промотора *FMR1*. Данный участок получил название FREE1 (fragile X-related element 1) (Godler et al., 2010). У индивидуумов с 200 или более CGG-повторами в *FMR1* эта граница в норме не подверженной метилированию ДНК в большинстве случаев утрачивается: метилирование распространяется на участок FREE1, а также в CpG-островок — область, где располагается участок старта транскрипции *FMR1*. Метилирование FREE1 коррелирует с дефицитом FMRP в крови индивидуумов с FXS (Godler et al., 2011).

Схожая граница между ДНК, подверженной метилированию и не затронутой эпигенетическими модификациями транскрипционного сайленсинга, присутствует также в участке, расположенном внутри интрона 1 гена *FMR1*, и данная граница также утрачивается у людей с FXS, позволяя метилированию распространяться на весь интрон 1 гена *FMR1* и далее от 3'- к 5'- последовательности ДНК. в так называемую область FREE2 (fragile Xrelated element 2) (Godler, 2012; Godler et al., 2010). Эта область включает в себя 3'-концевой фрагмент экзона 1 и 5'-концевой фрагмент интрона 1 кодирующей последовательности гена *FMR1*. Метилирование в FREE1, FREE2 и области CpG-островка *FMR1* при наличии 200 или более CGG-повторов происходит согласованно, что было показано для различных типов тканей, и приводит к подавлению экспрессии FMRP (Godler et al., 2010).

В последние годы активно изучается роль метилирования интрона 1 гена *FMR1* как прогностического критерия тяжести заболевания у индивидуумов с полной мутацией и премутацией в данном гене (Godler et al., 2012, Cornish et al., 2015; Shelton et al., 2017).

В норме число СGG в гене FMR1 составляет от 5 до 44 и сопровождается наличием AGG-триплетов после каждых 9–10 СGG-повторов (в общей популяции почти в 95% аллелей FMR1 область СGG-повторов имеет одно или два прерывания AGG). Считают, что наличие AGG триплетов придает стабильность числу CGG-повторов в процессе гаметогенеза и, соответственно, при передаче от родителя потомству, предотвращая формирование вторичных структур ДНК (таких как шпильки) при ее репликации. Потеря вставок AGG делает повтор CGG способным к экспансии (Юдкин и др., 2015).

В зависимости от числа CGG-повторов заболевания, связанные с экспансией тринуклеотидных повторов в гене *FMR1*, имеют следующие варианты. Аллели, несущие от 45 до 54 повторов CGG, называются промежуточными. Они располагаются в диапазоне так называемой "серой зоны". Эти аллели широко распространены в популяции (0.8—3.6% с некоторой географической вариабельностью, ~ 1:66 среди женщин, ~ 1:112 среди мужчин) и имеют высокий риск увеличения числа тринуклеотидных повторов при передаче потомству, если количество CGG-триплетов более пятидесяти и при этом число не прерывающихся вставками AGG CGG-триплетов превышает 35 (Villate et al., 2020).

Увеличение количества повторов СGG свыше 55 связывают с двумя видами нарушений функционирования гена FMR1: премутация (количество повторов от 55 до 199 включительно (\sim 1:200 среди женщин; \sim 1:800 среди мужчин), полная мутация (количество повторов 200 и более). Как уже было описано выше, полная мутация гена в большинстве случаев приводит к метилированию участков FREE1, FREE2 и области CpG-островка промотора FMR1, что, в свою очередь, влечет за собой ингибирование трансляции белка FMRP.

2.2. Накопление и дефицит транскриптов FMR1

Механизмы патогенеза при премутации в FMR1 отличаются от механизмов, лежащих в основе развития FXS. В случаях премутации в *FMR1* наиболее важными патогенетическими факторами являются: опосредованная повышенной экспрессией мРНК *FMR1* агрегация специфических белков, ведущая к митохондриальной дисфункции и клеточной гибели; повышение синтеза с того же локуса, где закодирован основной транскрипт *FMR1*, но ориентированной в антисмысловом направлении длинной некодирующей РНК ASFMR1/FMR4; ассоциированная с накоплением повторов, независимая от инициаторного AUG-кодона трансляция полиглицин-содержащих белковых продуктов гена *FMR1* (Todd et al., 2013; Arocena et al., 2005; Loesch et al., 2011; Pastori et al., 2014).

Первый из вышеупомянутых механизмов патогенеза при наличии премутации в *FMR1*—это так называемая модель "приобретения функции PHK" ("RNA gain of function"). Промоторы аллелей *FMR1*, ассоциированных с премутацией, не подвергаются метилированию. Было показано, что в клетках, содержа-

щих аллели с премутацией, детектируется повышенный уровень мРНК FMR1. Такое повышение уровня транскрипции приводит к токсичности мРНК, что, в свою очередь, связано с проявлением спектра поздно манифестирующих расстройств у носителей премутации в *FMR1* (Rodriguez-Revenga et al., 2009; Sherman, 2000). Предполагается, что в случае аномального повышения уровня мРНК FMR1 последняя связывается с некоторыми внутриклеточными белками, локализованными в ядре, в частности, образует комплексы с РНК-связывающими белками. С образующимися нуклеопротеиновыми агрегатами, в свою очередь, могут в дальнейшем связываться другие белки. Таким образом, избыточная мРНК FMR1 секвестрирует белки, с которыми она связывается, и препятствует их вовлечению в клеточные процессы, в которых они в норме должны быть задействованы (Greco et al., 2006; Sellier et al., 2014; Tassone et al., 2007). Это, в свою очередь, приводит к развитию синдрома FXTAS. Вышеизложенная гипотеза подтверждается тем, что при премутации гена *FMR1* кодируемые им мРНК, содержащие увеличенное количество ССG-повторов, накапливаются в PHK-агрегатах в ядерных включениях, детектируемых в срезах мозга у пациентов с FXTAS (Tassone et al., 2004). Аналогичный механизм был показан при миотонической дистрофии первого типа, вызванной увеличением количества СТG повторов в 3' UTR области гена *DMPK* (Mankodi, Thornton, 2002).

Также было установлено, что в локусе FMR1 закодирована последовательность не только основного продукта гена FMR1, но и нескольких длинных некодирующих РНК (long noncoding RNA, lncRNA), транскрибируемых, но не транслируемых в белки. При FXS образование как минимум двух из этих IncRNA — закодированных в антисмысловом направлении транскриптов *ASFMR1/FMR4* и *FMR6* – подавляется эпигенетически (в силу обогащения метилированием ДНК соответствующих участков гена *FMR1* и гистоновых белков хроматина). Функции *FMR6* недостаточно ясны и требуют дальнейшего исследования. Однако было показано, что в норме *FMR6* транскрибируется в некоторых отделах головного мозга человека; также FMR6 детектируется в периферической крови эукариот. Об ASFMR1/FMR4 известно несколько больше: эта lncRNA представляет собой ассоциированный с хроматином транскрипт. Взаимодей-

ствуя с хроматином и изменяя его состояние, ASFMR1/FMR4 регулирует экспрессию нескольких сотен генов, среди которых множество вовлечены в процессы развития нервной системы и клеточной пролиферации. Следовательно, подавление синтеза ASFMR1/FMR4 и *FMR6* может вносить вклад в развитие симптомокомплекса FXS, в том числе посредством изменения экспрессии других генов в различных участках генома. Также было обнаружено, что транскрипция ASFMR1/FMR4 повышена в мозге у лиц с премутацией в *FMR1*, что может играть роль в развитии их фенотипа. Вместе с тем синтез *FMR6* в клетках мозга v индивидуумов с премутацией в FMR1 был нарушен аналогично с картиной, которая наблюдалась для данной lncRNA у индивидуумов с полной мутацией в FMR1 (Peschansky et al., 2016; Pastori et al., 2014).

Предполагается, что токсический эффект повышения концентраций в клетках как смысловых, так и антисмысловых транскриптов, синтезируемых с локуса *FMR1*, при наличии аллелей *FMR1*, соответствующих "серой зоне" и премутации, может быть связан с развитием митохондриальной дисфункции (Loesch et al., 2011).

Однако повышенное количество мРНК, обладающее токсическим эффектом, определяется не только в случае присутствия у индивида аллеля *FMR1* с премутацией, но и при наличии активной полной мутации (т.е. при отсутствии метилирования промотора *FMR1*, содержащего полную мутацию). Было показано, что у порядка 12—41% мужчин с FXS наблюдается мозаицизм по числу CGG-повторов и/или по наличию метилирования промотора *FMR1*. Мозаицизм по числу CGGповторов наблюдается, когда в организме индивида присутствуют клетки с различными аллелями FMR1, содержащими разное количество тринуклеотидных повторов в промоторе данного гена. Наиболее частым случаем мозаицизма при FXS является присутствие в части клеток организма аллеля FMR1, соответствующего премутации, и в другой части клеток – аллеля, соответствующего полной мутации (Jiraanont et al., 2017). Такой вариант мозаицизма определяют как мозаицизм премутации/полной мутации (Rousseau et al., 1991; Nolin et al., 1994) либо мозаицизм по размеру области тринуклеотидных повторов в *FMR1* (Pretto et al., 2014a). При этом аллель *FMR1*, несущий премутацию, может отличаться по статусу метилирования между либо внутри разных типов тканей у одного и того же индивидуума (быть как метилирован, так и транскрипционно активен), то же самое касается и аллеля FMR1, несущего полную мутацию (Field et al., 2019). Это приводит к внутритканевому и межтканевому мозаицизму. Мозаицизм по статусу метилирования при FXS также может иметь место в отсутствие у индивидуумов аллелей *FMR1* с премутацией: в случае, когда некоторые клетки организма содержат метилированную форму аллеля с полной мутацией, а другие — неметилированную и транскрибируемую форму аллеля также с полной мутацией (Hagerman et al., 1994; Jiraanont et al., 2017). В нескольких случаях был описан и вариант мозаицизма, где в рамках одного организма присутствовали неметилированные аллели, соответствующие премутации и полной мутации, причем с обоих аллелей происходила продукция *FMR1*, а у индивидов был установлен диагноз FXTAS, основанный на клинической оценке и признаках, выявленных с помощью МРТ (Loesch et al., 2012; Pretto et al., 2013; Santa María et al., 2014).

2.3. FMRP: дефицит белка и синтез атипичных изоформ

FMRP представляет собой мультифункциональный ассоциированный с полирибосомами РНК-связывающий белок, который играет важную роль в развитии нейронов и синаптической пластичности посредством регуляции альтернативного сплайсинга мРНК, стабилизации мРНК, селективного транспорта мРНК из ядра нейронов в дендриты к синаптическим сайтам и регуляции локального синтеза определенных белков, необходимых для образования дендритов и функционирования синапсов (участвующих как в пресинаптических, так и в постсинаптических процессах передачи нервного импульса) (Antar et al., 2006; Ascano et al., 2012).

В частности, совместно с фактором ядерного экспорта NXF2 FMRP вовлечен в регуляцию стабильности мРНК NXF1 — белка, участвующего в экспорте мРНК из ядра в цитоплазму (Kim et al., 2009). Также FMRP стабилизирует мРНК DLG4/PSD-95 (postsynaptic density protein) — белка постсинаптической плотности, играющего критическую роль в синаптогенезе и синаптической пластичности (DeMarco et al., 2019). Будучи вовлеченным в механизм микроРНК-опосредованной

репрессии трансляции, FMRP подавляет белковый синтез с определенных дендритных мРНК (Kenny et al., 2014). Вместе с тем FMRP играет роль активатора трансляции мРНК ряда дендритных мРНК в синапсах (Bechara et al., 2009). В недавней работе было показано, что FMRP способствует образованию миелиновой оболочки аксонов посредством локальной регуляции трансляции в олигодендроцитах (Doll et al., 2020). Также FMRP участвует в альтернативном сплайсинге собственной мРНК (Didiot et al., 2008).

Были описаны и дополнительные функции FMRP. Так, FMRP обеспечивает модуляцию ионных каналов в клетках, в частности, KCNT1 – активируемого натрием калиевого канала, в наибольшем количестве представленного в клетках мозга, но присутствующего также и во множестве других тканей (где регулирует разнообразные функции организма, включая возбудимость нейронов и высвобождение нейротрансмиттеров, частоту сердечных сокращений и сокращения гладких мышц, секрецию инсулина) (Brown et al., 2010). Также недавно было показано, что FMRP играет независимую от трансляции роль в модуляции длительности пресинаптического потенциала действия и высвобождения нейротрансмиттера через активированные кальцием калиевые каналы с большой проводимостью в возбуждающих нейронах гиппокампа и коры головного мозга (Myrick et al., 2015).

Снижение синтеза FMRP, ранее считавшееся уникальной для FXS характеристикой, также было описано у индивидуумов с премутацией (Ludwig et al., 2014).

Еще одним из ранее упомянутых (см. главу 1.2) патогенетических механизмов, который может играть роль в формировании картины нейродегенеративного заболевания у лиц с премутацией в *FMR1*, является RAN (repeat associated non-AUG) трансляция: независимая от AUG-кодона трансляция, ассоциированная с накоплением повторов в кодирующем белок гене. Это механизм, при котором синтез белка начинается не с канонического стартового AUG-кодона, как это происходит для большинства мРНК эукариот. Было показано, что для белков, содержащих тандемно повторяющиеся аминокислоты, в качеальтернативного сайта инициации трансляции могут служить участки накопления тринуклеотидных повторов в регуляторных областях мРНК, кодирующих данные белки. RAN-белки могут быть синтезированы с многочисленных рамок считывания в границах одного и того же участка повторов. В результате происходит синтез и накопление целого набора белковых продуктов, нетипичных для данного гена. Предполагается, что такие белки могут нести токсический эффект (Krans et al., 2016). В частности, было продемонстрировано, что в результате реализашии данного механизма у лиц с увеличенным числом CGG-повторов в промоторе FMR1 вырабатывается белок FMRpolvG (полиглицин-содержащий FMRP). Экспрессия этого белка была подтверждена в нейронах пациентов с FXTAS, полученных путем дифференцировки из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, и у модельных животных (Todd et al., 2013; Berman et al., 2014; Hukema et al., 2015; Sellier et al., 2017). Также процесс RAN-трансляции потенциально токсичных белков был ассоциирован с накоплением ядерных включений в нейронах у пациентов с FXTAS, что могло вносить вклад в развитие данного заболевания (Krans et al., 2016). Кроме этого, предполагается, что за развитие синдрома FXPOI отвечает действие тех же патогенетических механизмов, что и при синдроме тремора и атаксии. Было показано, что белок FMRpolyG также определяется в клетках, задействованных в фолликулогенезе, у лиц с синдромом FXPOI (Buijsen et al., 2016; Sellier et al., 2017; Friedman-Gohas et al., 2020). Таким образом, есть основание считать, что потенциально токсичная форма продукта гена FMR1, содержащего увеличенное по сравнению с нормой число CGG повторов – белок FMRpolyG – также может быть вовлечена в формирование картины нарушений репродуктивной системы у женщин с премутацией в *FMR1*. Подобная симптоматика не характерна для описанных женшин с полной мутацией в *FMR1*. при которой происходит метилирование промотора *FMR1* и ингибируется транскрипция мРНК *FMR1*, а значит, отсутствует и синтез белка FMRpolyG. На данный момент случаев экспрессии FMR1 у женщин с полной мутацией не сообщалось, что, однако, может быть связано с трудностями дифференциации метилирования мутантного аллеля *FMR1* на транскрипционно активной хромосоме Х и метилирования мутантного аллеля *FMR1* в результате инактивации всей хромосомы X, на которой данный аллель локализован. Диагностические методы, позволяющие решить данную проблему, были разработаны сравнительно недавно (Godler et al., 2011). Так или иначе, потенциально токсичный белок FMR-polyG может присутствовать в организме у женщин с премутацией и действовать патологически на их органы и ткани.

3. СПЕКТР РАССТРОЙСТВ FXS

Как следует из предыдущих разделов, в целом фенотипы людей с премутацией и полной мутацией в *FMR1* не похожи между собой. Несмотря на это, их когнитивный, социальный и эмоционально-личностный профиль имеют много общих черт. Индивидуумы с премутацией и полной мутацией имеют схожие "пики" в когнитивном профиле, обнаруживая одинаковые сильные и слабые стороны когнитивного развития. Общей чертой также можно назвать наличие аутистических проявлений, социальную тревогу. Все это дало основание ввести термин "спектр расстройств FXS" (fragile X spectrum disorder, FXSD) (Lozano, 2014), koторый объединил состояния, вызванные действием двух патогенетических факторов: дефицита белка FMRP и увеличения уровня мРНК *FMR1*. Данный термин был разработан, чтобы подчеркнуть непрерывность клинических проявлений на всем протяжении спектра аномального количества CGG-повторов, от "серой зоны" (от 45 до 54 повторов) через состояние премутации и вплоть до полной мутации.

Анализируя весь спектр состояний, ассоциированных с мутациями гена *FMR1*, необходимо выделить несколько подгрупп, различающихся по патогенетическим механизмам (см. табл. 1). С точки зрения анализа отношений генотип/фенотип следует отметить, что эти подгруппы пересекаются по фенотипическим проявлениям.

- 1. Мужчины с полной мутацией в *FMR1* (число тринуклеотидных повторов более 200). При таком варианте аллеля наблюдается выраженный дефицит или полное отсутствие белка FMRP. Клиническая картина достаточно однородна, расхождения наблюдаются только в степени речевого дефицита и выраженности аутистической симптоматики.
- 2. Женщины с полной мутацией в *FMR1*. Благодаря наличию второй хромосомы X, несущей аллель дикого типа, количество белка в организме выше, чем у мужчин с полной мутацией, обычно варьирует в диапазоне 30—50% от нормы, но может принимать как более низкие, так и более высокие значения, в за-

- висимости от особенностей инактивации хромосомы X (Hall et al., 2016; Berry-Kravis et al., 2005; Leehey et al., 2008). В соответствии с этим клиническая картина носит неоднородный характер.
- 3. Мозаичные формы. Схожими с предыдущим описанным вариантом по количеству белка FMRР являются мозаичные формы синдрома (составляют от 20 до 40% всех случаев синдрома FX в популяции). При FXS выделяют два вида мозаицизма - мозаицизм по числу CGG-повторов в промоторе *FMR1* и мозаицизм по метилированию промотора FMR1 (Jiraanont et al., 2017a). Мозаицизм по числу CGG-повторов в данном случае проявляется в том, что в части клеток число тринуклеотидных повторов в *FMR1* соответствует полной мутации, в части – премутации. Мозаицизм по метилированию предполагает, что в части клеток ген метилирован, а в части нет. Важно понимать, что в случае мозаицизма по числу CGG-повторов те клетки, в которых имеются премутационные аллели, могут накапливать мРНК *FMR1*, что характерно для премутации. Поэтому эти случаи, с одной стороны, не похожи на случаи полной мутации по тяжести симптомов (белок FMRP) синтезируется в организме, пускай и на сниженном уровне, в силу того, что не во всех клетках полностью ингибирована его экспрессия). С другой стороны, могут возникать признаки, характерные для носителей премутации, но отсутствующие у индивидуумов с полной мутацией (в связи с токсическим эффектом повышенного уровня мРНК *FMR1*, транскрибируемой с содержащего премутацию гена, и с возможной трансляцией с этой мРНК токсичного белкового продукта FMRpolvG): соматические, эндокринные и нейродегенеративные заболевания. Частным случаем мозаицизма по числу CGG-повторов является описанный ранее соматический мозаицизм по мутации в *FMR1*. Предполагается, что количество CGG-повторов в гене *FMR1* может варьировать в различных тканях (Pretto et al., 2014b).
- 4. Мужчины и женщины с премутацией. У людей с премутацией в *FMR1* количество белка в среднем составляет 85% от нормы, колеблется в диапазоне от 50 до 100%. Избыток мРНК *FMR1* может оказывать нейротоксический эффект (Loesch, 2012; Peprah et al., 2010).
- 5. "Серая зона". Исследования, проведенные с участием людей с количеством повторов 44—55 ("серая зона") немногочисленны.

Таблица 1. Количество FMRP, уровень мРНК FMR1 в периферической крови и клинические проявления у людей с экспансией CGG-повторов

Table 1. FMRP, mRNA level and phenotypic traits in people with FMR1 full mutation, premutation and mosaic forms

·	EMED		
	FMRP (% от нормы (<i>N</i>))	мРНК (% от нормы (<i>N</i>))	Клинические проявления
Мужчины (мальчики) с полной мутацией (число ССС-повторов в <i>FMR1</i> больше 200) (Loesch et al., 2004)	0-10%	44—60% случаев: наблюдается неполный сайленсинг <i>FMR1</i> и накопление мРНК с увеличенным количеством ССС-повторов. В остальных случаях транскрипция мРНК отсут-	IQ ≈ 40
Женщины (девочки) с полной мутацией (число СССС-повторов в <i>FMR1</i> больше 200) (Hall et al., 2016)	25-50%	ствует (Tassone, 2001; Stoger, 2011; Baker, 2019)	IQ ≈ 40–70
Mозаицизм по количеству CGG-повторов в FMR1 (Jiraanont et al., 2017a; Pretto et al., 2014)	25-50%	>N	IQ < 70; FXTAS; FXPOI; психиатрические нарушения
Moзаицизм по метилированию <i>FMR1</i> (Jiraanont et al., 2017a; Pretto et al., 2014)	25-50%	N	IQ < 70
Премутация (число ССС - повторов в <i>FMR1</i> от 55 до 200) (Loesch, 2012)	50-85%	>N в 3–8 раз (Tassone et al., 2000)	IQ в пределах нормы, своеобразный когнитивный профиль, схожий с синдромом FX; FXTAS; FXPOI. Эмоционально-личностные нарушения
"Серая зона" (41-54 ССБС-повтора в <i>FMR1</i>) (Loesch et al., 2018; Hall et al., 2020; Dean et al., 2019)	N	>N, но меньше, чем при премутации (различия стат. значимы на уровне $p < 0.001$) (Loesch et al., 2007)	Повышенный риск развития паркинсонизма у мужчин и женщин, повышенный риск рецидивирующих самопроизвольных абортов

Есть данные, что при этом состоянии количество мРНК *FMR1* статистически значимо выше, чем в норме, но ниже, чем при премутации (Loesch et al., 2007).

Таблица 1 содержит информацию о количестве белка FMRP, уровне мРНК *FMR1* в клетках периферической крови и особенностях фенотипа в вышеописанных подгруппах индивидуумов. На рис. 1 графически представлены данные, касающиеся частоты появления того или иного симптома у мужчин и женщин с полной мутацией и премутацией в *FMR1*.

Таким образом, пересечение по фенотипу может наблюдаться: у женщин с полной му-

тацией, у лиц с премутацией, у мужчин с мозаицизмом по количеству повторов и по мутации в FMR1.

На рис. 1 показана частота возникновения клинических симптомов среди лиц с премутацией и полной мутацией в гене *FMR1*. Исходя из приведенных данных можно судить о том, что при полной мутации симптомы носят более тяжелый характер. Полиморфизм клинической картины выше среди лиц женского пола. В диапазоне премутационных изменений полиморфизм клинической картины еще выше, причем мужчины в несколько раз чаще имеют проблемы со здоровьем, чем женщины.

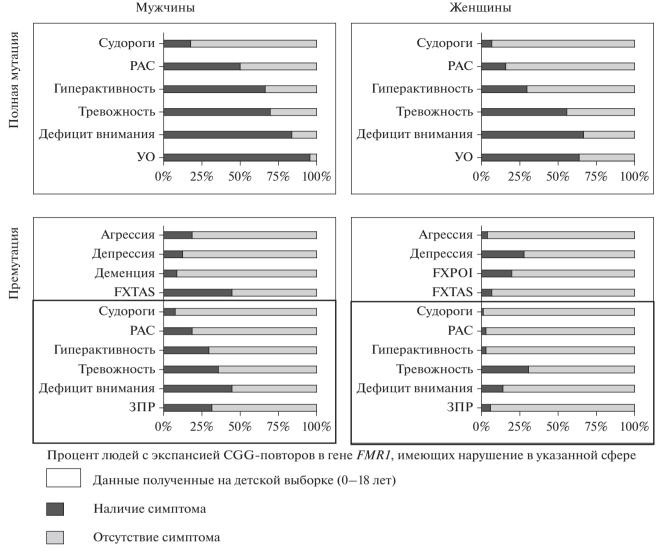


Рис. 1. Частота (в процентах) возникновения различных клинических симптомов в группе носителей полной мутации и премутации в *FMR1* (на основе данных Bailey et al., 2008).

Примечание: PAC — расстройства аутистического спектра, YO — умственная отсталость, $3\Pi P$ — задержка психического развития, FXPOI — синдром первичной овариальной недостаточности, FXTAS — синдром тремора и атаксии.

Fig. 1. Frequency (in percentage) of clinical symptoms developing in group of subjects carrier of *FMR1* full mutation and premutation (based on Bailey et al., 2008).

 $\it Note: ASD-autism \ spectrum \ disorders, \ MR-mental \ retardation, \ DD-developmental \ delay, \ FXPOI-fragile \ X-associated \ primary \ ovarian \ insufficiency, \ FXTAS-fragile \ X-associated \ tremor/ataxia \ syndrome.$

3.1. Связь между числом CGG-повторов в промоторе FMR1 и уровнями FMRP и мРНК FMR1

Исследования показывают, что в случае премутации *FMR1* уровень экспрессии белка FMRP находится в обратной зависимости от количества CGG-повторов в промоторе данного гена (см. обзор Loesch et al., 2004). В диапазоне премутационных изменений наблюдается также положительная корреляция

между количеством тринуклеотидных повторов и количеством мРНК *FMR1* (Jiraanont, 2017b; Shelton, 2017). Вместе с тем существует предположение, что эта зависимость носит нелинейный характер. Так, было показано, что простая положительная корреляция между СGG-повторами и общим уровнем мРНК в крови испытуемых может быть обнаружена только при количестве повторов менее 100. Однако если построить модель, в которой используется не общий уровень мРНК, а

теоретически рассчитанный уровень мРНК, транскрибируемой с мутантного аллеля (скорректировав коэффициент соотношения X-инактивации), то оказывается, что связь между количеством повторов и уровнем мРНК усиливается и начинает превосходить ту, которая обнаруживается в диапазоне значений до 100 (Garcia-Alegria et al., 2007).

Эти результаты показывают, что существует молекулярная аномалия в экспрессии аллелей гена *FMR1*, несущих премутации. По мнению авторов исследования, существует некий порог в районе 100 повторов, после которого может наблюдаться выраженное увеличение (в три раза) уровня мРНК по сравнению с диапазоном с низким числом повторов (Garcia-Alegria et al., 2007). Одновременно с этим при "критическом" увеличении числа тринуклеотидных повторов в мутантном аллеле *FMR1* происходит селекция клеток в пользу тех, где активна хромосома X, несущая аллель FMR1 дикого типа, что приводит к сдвигу Х-инактивации в организме индивидуума. Неслучайная Х-инактивация была описана и для женщин с полной мутацией в гене *FMR1*. Предполагается, что именно вышеописанный механизм обеспечивает вариативность экспрессии FMRP и, как следствие, широкий полиморфизм клинической картины у женщин с FXS.

3.2. Связь между числом CGG-повторов в FMR1, молекулярными механизмами патогенеза и уровнем развития когнитивных функций

В работе Д.З. Лоэш и соавторов (Loesch et al., 2004) были проанализированы результаты обследования 144 семей, члены которых имеют мутации гена FMR1 (всего 287 человек, 100 человек с полной мутацией, 95 человек с премутацией FMR1, 92 человека — норма). 87 мужчин, участвовавших в исследовании, имели полную мутацию, средние значения уровня FMRP в лимфоцитах их крови составляли 10% от количества белка в норме. 148 женщин имели премутацию в *FMR1*, среднее значение уровня FMRP в лимфоцитах крови у них составляло 85% от нормы. 16 человек имели мозаичную форму синдрома, уровень FMRP в лимфоцитах крови у них имел промежуточные значения (30-50%). Психологическое обследование включало тест Векслера. Помимо этого, оценивался ряд соматических черт испытуемых (включая стандартные

измерения головы, лица, туловища и конечностей). Результаты исследования показали, что, во-первых, уровень FRMP в клетках крови испытуемых значимо коррелировал с уровнем их интеллекта во всех подгруппах. Причем в подгруппе мужчин эта зависимость прослеживалась в результатах всех субтестов теста Векслера, тогда как в подгруппе женщин касалась результатов выполнения только части заданий. После контроля общего балла IO оказалось, что наиболее сильно с уровнем белка FMRP в лимфоцитах у индивидуумов коррелируют результаты тестирования их когнитивных способностей по шкалам "Запоминание цифр" ("digit span") и "Поиск символа" ("Symbol search") в подгруппе мужчин и "Последовательные картинки" ("Picture arrangement") в подгруппе женщин. Эти данные свидетельствуют о том, что дефицит белка FMRP в наибольшей степени оказывает влияние на такие психические функции, как кратковременная память, внимание и скорость обработки информации. Характерно, что у лиц с аллелем гена FMR1 дикого типа также прослеживается зависимость между количеством белка FMRP в организме и когнитивными показателями, такими как IQ, рабочая память, чувствительность к стимулам магноцеллюлярного зрительного пути, восприятие движений (для обзора см. (Переверзева и др., 2015)).

Связь между количеством FMRP в лимфоцитах периферической крови и фибробластах и уровнем интеллектуального развития была также показана при сравнении данных показателей у индивидуумов с полной мутацией и с мозаицизмом по мутации/премутации и наличию/отсутствию метилирования в *FMR1* (Pretto et al., 2014). Авторы исследования также указывают на достоверную корреляцию между интеллектом испытуемых и процентом клеток их крови с неметилированным аллелем *FMR1*.

В исследовании Д. Хессл с соавторами (Hessl et al., 2005) изучалась связь между количеством тринуклеотидных повторов в *FMR1* и такими внутриклеточных показателями, как уровни FMRP и мРНК *FMR1*; исследование проводилось в более узкой группе — мужчин с премутацией. Результаты показали наличие связи между числом СGGповторов в *FMR1*, концентрацией мРНК *FMR1* в лимфоцитах и уровнем интеллекта у обследованных индивидуумов. Однако после контроля наличия синдрома тремора и атак-

сии (FXTAS) оказалось, что значимая корреляция наблюдается только между уровнем мРНК *FMR1* в лимфоцитах (Tassone et al., 2004) и их способностью к тормозному контролю поведения (оценивался с помощью методики "Висконсинский тест сортировки карточек" — WCST). Показатели же общего интеллекта в наибольшей степени зависели от стадии развития нейродегенеративного заболевания.

В недавнем исследовании К. Ким и соавторами (Kim et al., 2019) было установлено два важных пороговых значения для уровня белка FMRP в фибробластах испытуемых: 35 и 70% от среднего значения в норме. При превышении порогового значения уровня белка, равного 70% от нормы, не наблюдалось статистически достоверной зависимости IQ индивидуумов от уровня FMRP в их фибробластах, в отличие от диапазона значений уровня белка от 35 до 50% от нормального, при которых была продемонстрирована корреляция между IQ испытуемых и уровнем FMRP. Нижняя граница нормативного диапазона IQ (85 баллов) отмечалась у пациентов с уровнем белка в их фибробластах, составлявшим 35% от средненормативного значения. При показателях уровня белка ниже этой отметки наблюдалось существенно сниженное по сравнению с нормой значение балла IQ у испытуемых.

В другом исследовании (Cohen et al., 2006) также рассматривалась связь между когнитивными нарушениями у мужчин с премутацией в FMR1 и числом тринуклеотидных повторов в данном гене. Наиболее низкие показатели интеллекта наблюдались у испытуемых, имевших высокое число CGG-повторов в промоторе *FMR1*. Снижение касалось показателей общего, вербального и невербального интеллекта. Причем схожий паттерн когнитивных нарушений был отмечен среди как более молодых, так и пожилых испытуемых. Таким образом, снижение когнитивных функций наблюдается у мужчин с премутацией в *FMR1*, число тринуклеотидных повторов в промоторе которого находится на границе значений между премутацией и полной мутацией. Иными словами, количество CGG-повторов в промоторе FMR1 можно считать предиктором когнитивных нарушений у носителей премутации в данном гене. В качестве второго фактора, влияющего на интеллект индивидуумов с премутацией в FMR1, авторы рассматривают наличие у испытуемых нейродегенеративных процессов.

В последнее десятилетие стали появляться исследования, посвященные роли в развитии синдрома FX других генетических маркеров, в частности, степени метилирования СрGсайтов в области экзона 1 и интрона 1 гена FMR1 (в пределах FREE2 региона). У женщин с премутацией в *FMR1* метилирование данной области обнаруживает значимые корреляции с тяжестью анатомических изменений в головном мозге, а также с нарушениями когнитивных функций. Так, было показано, что более высокий уровень метилирования СрG-сайта 1 гена FMR1 (локализован в экзоне 1 данного гена) в клетках периферической крови женщин с премутацией, не имеюших симптомов FXTAS, коррелировал с изменениями структуры белого вещества головного мозга, а именно – низким коэффициентом диффузии в нижних и средних ножках мозжечка (оценка производилась при помощи метода диффузионно-взвешенной визуализации). Более высокий уровень метилирования CpG-сайтов 6/7 гена FMR1 (локализованы в интроне 1) значительно коррелировал с более длительными латентными периодами просаккад (данный критерий использовался для выявления паттернов движений глаз, специфичных для нарушений исполнительных функций у женщин с премутацией в FMR1). При этом повышенный уровень метилирования CpG-сайтов 6/7 FMR1 также коррелировал с более высоким уровнем мРНК *FMR1* в образцах цельной крови испытуемых. Однако, что удивительно, существенной корреляции между уровнем метилирования CpG-сайта 1 FMR1 и уровнем мРНК в образцах цельной крови испытуемых отмечено не было. Авторы предполагают, что это может быть связано с различиями в локализации границы метилирования области экзон 1/интрон 1 гена *FMR1* между клетками периферической крови и клетками мозга. (Shelton et al., 2017).

Также было установлено, что степень метилирования всех 7 СрG-сайтов, расположенных в интроне 1 гена *FMR1* (СрG-сайты 6/7, СрG-сайты 8/9 и СрG-сайты с 10 по 12 гена *FMR1*) в образцах цельной крови у женщин с премутацией значимо коррелирует с нарушениями высших исполнительных функций, а также с симптомами психических расстройств, такими как социальная тревожность (оценивалась по шкале Либовица) и нарушение регуляции эмоциональных проявлений, связанных с СДВГ (Cornish et al., 2015).

В работе Д.Е. Голдер и соавторов (Godler et al., 2012) было показано, что повышение степени метилирования СрG-сайтов с 10 по 12 в гене *FMR1* (относительно порогового значения) в клетках крови у женщин как с премутацией, так и с полной мутацией в FMR1 со 100% чувствительностью и 98% специфичностью предсказывает низкие показатели их интеллекта, измеренные при помощи теста Векслера (IQ < 70 баллов). Аналогичным образом более высокий уровень метилирования 9 СрG-участков на границе между экзоном 1 и интроном 1 гена *FMR1* (в рамках FREE2-региона), в особенности СрG-сайтов в интроне 1 *FMR1*, в клетках буккального эпителия, ассоциируется с более выраженным снижением уровня интеллекта (IQ, тест Векслера) у мальчиков и подростков (в возрасте от 3 до 17 лет) с синдромом FX (Arpone et al., 2018).

3.3. Связь между количеством CGG-повторов в FMR1, количеством мРНК, уровнем FMRP и симптомами PAC

Согласно различным исследованиям, до 30% индивидуумов с полной мутацией в FMR1 имеют все признаки, необходимые для постановки диагноза "аутизм", а 50-60% удовлетворяют критериям более широкой группы психических расстройств - "расстройства аутистического спектра", что гораздо выше, чем в среднем в популяции (Clifford et al., 2007). Это делает синдром привлекательной моделью для изучения РАС. Однако важно также понимать, что если нарушения познавательной деятельности являются обязательным признаком синдрома, напрямую следующим из дефицита белка FMRP в организме носителей полной мутации в *FMR1*, то PAC у данных индивидуумов наблюдаются далеко не всегда, а тяжесть проявления аутистической симптоматики широко варьирует от случая к случаю. Распространенность РАС среди людей с премутацией в FMR1 значительно выше, чем в популяции в целом, и составляет до 19% (среди мужчин), что также не позволяет считать проявление данной группы симптомов обязательным следствием действия патогенетических механизмов, запускаемых премутацией в *FMR1* (Bailey et al., 2008). Интересно, что аутистическая симптоматика у лиц с FXS, в отличие от нарушений когнитивного развития, не обнаруживает значимой корреляции с количеством белка FMRP в клетках периферической крови данных индивидуумов. В некоторых исследованиях подчеркивается связь между молекулярными механизмами патогенеза, вызванными мутациями в *FMR1*, и особенностями социального развития лиц с FXS, однако после контроля IQ эта связь перестает быть достоверной (Loesch et al., 2007; McDuffie et al., 2010; Kover et al., 2013; Pretto et al., 2014a; Hatton et al., 2006; Hessl et al., 2001). Xaрактерно, что также не связанными напрямую с количеством FMRP в фибробластах и клетках периферической крови при мутации в FMR1 оказываются такие показатели психической и нейрофизиологической патологии, как степень гиперактивности и частота эпилептических судорог (Pretto et al., 2014a). При мозаичных формах синдрома FX процент детей с РАС оказывается таким же, как и в группе детей с полной мутацией в FMR1, хотя уровень белка FMRP у группы с мозаичной формой значительно выше (Pretto et al., 2014а). Интересно, что, согласно данным нейровизуализационных исследований, взрослые индивидуумы с премутацией в *FMR1* обнаруживают нарушения функции миндалины головного мозга (Hessl et al., 2007), которые также характерны для людей с РАС и ассоциированы с нарушениями социального развития (Baron-Cohen et al., 2000). Однако важно также учитывать, что влияние дефицита FMRP на симптоматику РАС может быть опосредованным (Budimirovic et al., 2011; Westmark et al., 2016; Ashwood et al., 2010; Sharma et al., 2010). Известно, что данный белок является регулятором трансляции множества других белков. Поэтому определенные черты развития и поведения могут быть обусловлены действием мишеней белка FMRP.

Прогресс в понимании механизмов развития РАС появился в последние годы в связи с исследованиями роли мРНК гена *FMR1* при FXS. Известно, что токсический эффект накопления мРНК FMR1 ассоциирован с развитием нейродегенеративных заболеваний и овариальной недостаточности у лиц с премутацией в данном гене. Вместе с тем, как показали недавние исследования, среди лиц с полной мутацией гена *FMR1* приблизительно в 44-60% случаев наблюдается неполный сайленсинг, сопровождающийся синтезом мРНК (Tassone, 2001; Stoger, 2011; Baker, 2019). Частичное либо полное ингибирование транскрипции *FMR1* может зависеть от числа CGG-повторов в промоторе гена. Согласно последним данным, увеличение тринуклеотидных повторов в *FMR1* до диапазона 200—400 не в 100% случаев приводит к полному метилированию гена, более вероятным порогом стабильного сайленсинга *FMR1* является значение числа CGG-повторов, равное 400 (Kraan, 2019).

Оказалось, что в группе лиц мужского пола с полной мутацией в *FMR1* и неполным сайленсингом (не мозаичные формы) обший балл по методике ADOS, отражающий тяжесть аутистических проявлений, был достоверно выше, чем в группе мужчин с полным сайленсингом *FMR1* (Baker et al., 2019). В другом исследовании было показано, что в группе мужчин с неполным сайленсингом FMR1 уровень транскрибируемой с данного гена мРНК в клетках крови связан с уровнем аберрантного поведения испытуемых (в первую очередь, со шкалами "возбудимость" и "стереотипии"), согласно шкале ABC-C (Baker et al., 2020). Связи между уровнем мРНК FMR1 в клетках крови и интеллектом в этой группе обнаружено не было. Вместе с тем в группе детей с мозаицизмом по *FMR1* уровень когнитивного развития был положительно связан с количеством мРНК данного гена. Иными словами, аутистические проявления при синдроме FX могут быть связаны с токсическим эффектом удлиненной мРНК *FMR1*, оверэкспрессируемой с аллеля гена FMR1, содержащего полную мутацию. Робертс с соавторами также подчеркивают, что специфика синдрома FX заключается в том, что симптомы аутизма при данной синдромальной форме тесно связаны с социальной тревожностью индивидуумов (Roberts et al., 2018). Следовательно, представляется возможным, что повышение экспрессии мРНК гена *FMR1* приводит к развитию социальной тревожности у лиц с FXS, которая, в свою очередь, влечет за собой снижение их социально-коммуникативных навыков.

3.4. Связь между числом CGG-повторов в FMR1, молекулярными механизмами патогенеза и симптомами FXTAS

Количество СGG-повторов обнаруживает достоверную отрицательную корреляцию с возрастом появления двигательных нарушений, степенью моторных нарушений и возрастом смерти. Кроме того, обнаруживается достоверная положительная связь между количеством повторов и процентом нейронов и

астроцитов, имеющих внутриядерные включения в сером веществе коры ГМ и гиппокампе (для обзора см. Loesch, Hagerman, 2012). Взаимосвязь между уровнем мРНК в периферической крови и клиническими проявлениями не так очевидна. Так, в исследовании Лихей (Leehey et al., 2008) не было обнаружено связи между уровнем мРНК и тяжестью симптомов FXTAS (согласно оценочной шкале FXTAS – FXTAS rating scale). Эти данные согласуются с другими исследованиями (Moore et al., 2004; Loesch et al., 2005; Jacquemont et al., 2006).

По мнению авторов, учитывая связь между уровнем мРНК *FMR1* и количеством повторов, а также тот факт, что мРНК *FMR1* были обнаружены во внутриядерных включениях в клетках мозга, полученные результаты могут быть объяснены расхождением между уровнем мРНК в лимфоцитах и нейронах головного мозга. Количество мРНК различно в различных отделах мозга, поэтому данный показатель, измеренный в периферической крови, не будет аккуратно отражать его экспрессию в отделах головного мозга, ассоциированных с формированием клинической симптоматики FXTAS.

Для понимания патогенетического механизма нейродегенеративных нарушений у лиц с экспансией числа тринуклеотидных повторов в *FMR1* важен также анализ случаев мозаицизма по количеству повторов, при котором часть клеток в организме индивидуума содержит аллель гена с полной мутацией, а часть – с премутацией. При таком варианте также наблюдается повышение количества мРНК *FMR1* и снижение экспрессии белка FMRP. Было показано, что пациенты с такой формой мозаицизма имеют повышенный риск развития неврологических двигательных симптомов (Hall et al., 2010; Loesch et al., 2012; Pretto et al., 2013, 2014). Исследования мозаицизма часто не носят репрезентативный характер, но не менее ценными оказываются описания отдельных клинических случаев, при которых наблюдается сочетание признаков FXS и FXTAS. Так, например, в исследовании Basuta (2015) описывается случай 58-летнего мужчины, генетический анализ которого выявил полную мутацию и мозаицизм по количеству повторов по *FMR1* (сочетание аллелей с полной мутацией в FMR1 в мононуклеарных клетках крови и премутацией в фибробластах и сперматозоидах) при отсутствии метилирования промотора данного гена в клетках с полной мутацией. В мононуклеарных клетках крови испытуемого был повышен уровень мРНК *FMR1*. В фенотипе больного наиболее выделялись признаки FXTAS, нарушения памяти и исполнительного контроля. Интеллект индивидуума находился на нижней границе нормативных значений. В работе Л. Санта-Мария и соавторов (Santa Maria et al., 2014) также описан случай мозаицизма по количеству повторов, при котором наблюдалась стремительно развивающаяся форма FXTAS.

3.5. Связь между количеством CGG-повторов в FMR1, молекулярными механизмами патогенеза и синдромом первичной овариальной недостаточности

Ранее было показано, что частота возникновения синдрома первичной овариальной недостаточности (FXPOI) у женщин с премутацией в *FMR1* достоверно коррелирует с количеством тринуклеотидных повторов в данном гене. Однако такая зависимость носит нелинейный характер. В исследовании Sullivan (2005) участвовало 500 женщин, имеюших нормальное и увеличенное число CGGповторов в *FMR1*. Согласно результатам исследования, при числе CGG-повторов менее 40 риск развития FXPOI составляет 0.9%, при числе CGG-повторов 59–79 повышается до 5.9%, а при числе CGG-повторов 80—99 резко увеличивается до 18.6%. Однако при переходе через значение числа CGG-повторов, равное 100, этот показатель снижался до 12.5%. Эти результаты соотносятся с данными, приведенными в работе Е. Гарсия-Алегрия и соавторов (Garcia-Alegria et al., 2007), согласно которым аналогичным образом выглядит зависимость общего уровня мРНК FMR1 (определявшегося в клетках периферической крови испытуемых) от количества тринуклеотидных повторов в данном гене: наибольший уровень мРНК *FMR1* детектируется у женщин с количеством CGG-повторов в диапазоне 80—100 (при отсутствии контроля Х-инактивации). В других исследованиях было показано, что средний возраст наступления менопаузы схож у женщин с премутацией в *FMR1*, имеющих число CGG-повторов в *FMR1* в диапазоне 59–79 (48 лет) и более 100 (47.5 лет). У испытуемых с числом CGG-повторов 80–100 этот показатель был в среднем на 3 года ниже и составлял 44.9 лет (Ennis et al., 2006; Allen et al., 2007; Mailick et al.,

2014). Не до конца понятным остается вопрос о том, какова роль механизма сдвига Х-инактивации в описанных особенностях. С одной стороны, было показано, что при количестве СGG-повторов выше 100—120, благодаря процессу Х-инактивации, уровень мРНК FMR1 (измеренный в периферической крови) перестает расти (Garcia-Alegria et al., 2007) и максимальное количество мРНК FMR1 наблюдается в диапазоне повторов 80–120. Максимальный риск развития FXPOI также наблюдается в диапазоне 80—120 повторов. Однако прямого влияния степени сдвига X-инактивации на риски FXPOI в исследованиях обнаружено не было (Rodriguez-Revenga et al., 2009). Более того, в исследовании Майлик с соавторами (Mailick et al., 2014) было показано, что в низком и среднем диапазоне значений CGG-повторов не наблюдается корреляции между количеством повторов и степенью сдвига Х-инактивации. После 100 повторов имеет место положительная связь, причем она сильнее выражена в группе женщин, имеющих FXPOI, по сравнению с теми, кто не страдает этим заболеванием. Вопрос о том, каким образом эти данные могут быть обобщены, остается открытым. Предполагается, что имеет место сложная зависимость между риском FXPOI и различными генетическими факторами (Mailick et al., 2014).

3.6. Связь между числом CGG-повторов в FMR1, молекулярными механизмами патогенеза и психиатрическими нарушениями (синдром FXAND) у лиц с FXS

Эмоционально-личностные нарушения являются характерным проявлением состояний, ассоциированных с мутациями гена *FMR1*. Вместе с тем исследования, посвященные отношениям генотип/фенотип в развитии симптомов FXS, затрагивающих эмоционально-личностную сферу, носят крайне противоречивый характер. Так, часть работ говорит об отсутствии связи между числом тринуклеотидных повторов в *FMR1*, уровнями мРНК *FMR1* и белка FMRP в клетках индивидуумов с FXS и свойственными им психиатрическими диагнозами (Lachiewicz et al., 2010; Jiraanont et al., 2017b). Другие исследования указывают на линейный характер зависимости, при котором люди с более высоким числом CGG-повторов в *FMR1* имеют более высокий риск развития психических заболеваний (Schneider et al., 2016; Kenna et al., 2013).

Результаты третьей группы исследований доказывают обратный характер этой зависимости, при которой женщины с числом CGGповторов в *FMR1* более 100 реже демонстрируют симптомы депрессии и тревожного расстройства по сравнению с носительницами премутации в *FMR1*, число CGG-повторов у которых менее 100 (Loesch et al., 2015; Roberts et al., 2009a). Одним из самых репрезентативных по количеству испытуемых является исследование Loesch и соавторов (2015). В исследовании приняли участие 299 женшин в возрасте от 19 до 86 лет, имеющих количество тринуклеотидных повторов в *FMR1* от 50 до 141. В качестве диагностического инструмента использовался опросник SCL-90-R, предназначенный для оценки степени выраженности паттернов различных психических расстройств и психологических признаков в рамках как психической нормы, так и патологии. Было показано, что наибольшие значения практически по всем субшкалам опросника демонстрировали женщины со средним количеством CGG-повторов (60-80), что говорит о наиболее высоком риске развития у них симптоматических комплексов различных психических заболеваний. У испытуемых с высоким числом CGG-повторов (в диапазоне 80-100), согласно результатам опросника, риск манифестации психической патологии, напротив, снижался. Эти данные представляют существенный интерес, учитывая аналогичные выводы, которые были сделаны по итогам исследования синдрома FXPOI.

В работе Cornish и соавторов (2015) изучалась связь между другим генетическим маркером — метилированием области FREE2, а именно участков СрG, расположенных в области, включающей 3'-концевой фрагмент экзона 1 и 5'-концевой фрагмент интрона 1 кодирующей последовательности гена *FMR1*, и симптомами психических расстройств у женщин с премутацией в *FMR1*. Оказалось, что степень метилирования интрона 1 значимо коррелировала с выраженностью симптомов психических расстройств, что позволило разделить участников эксперимента на группы: высокого и низкого риска развития социальной тревожности и нарушений исполнительных функций когнитивной сферы. Оказалось, что степень сдвига Х-инактивации не влияла на выраженность симптомов эмошионально-личностных нарушений. Количество CGG-повторов в *FMR1* и уровень мРНК FMR1 не являлись надежными предикторами тяжести расстройств. Соглізh и соавторы полагают, что степень метилирования интрона 1 FMR1 может оказаться наиболее значимым маркером развития психических нарушений, имеющим крайне высокую чувствительность (92—100%) и специфичность (90%). Характерно также, что, согласно результатам данного исследования, социальная тревожность, которая является одной из наиболее распространенных жалоб людей с премутацией, опосредована нарушениями исполнительного контроля когнитивной сферы.

Вероятно, дальнейшее изучение роли новых генетических механизмов патогенеза позволит ответить на вопросы, которые на сегодняшний день остаются неразрешенными. В первую очередь это касается связи между генетическими нарушениями у индивидуумов и обусловленными ими молекулярными механизмами развития патологии, с одной стороны, и присущими данным индивидуумам поведенческими, социальными и эмоционально-личностными нарушениями, с другой.

выводы

Нарушения спектра FXS представляют собой группу заболеваний, вызванных увеличением числа тринуклеотидных повторов в промоторе гена FMR1. К основным заболеваниям спектра *FMR1* относят синдромы FX, FXTAS, FXPOI, FXAND. Патогенетические механизмы состояний связаны с дефицитом экспрессии FMRP и избытком транскрипта FMR1. В статье представлено описание синдромов, описание мутаций гена *FMR1* и патогенетических механизмов, ассоциированных с ними, анализ взаимосвязи между действием патогенетических механизмов и тяжестью клинических проявлений. Основываясь на представленном материале, можно сделать следующие выводы:

1. Уровень FMRP в клетках периферической крови находится в обратной зависимости от количества тринуклеотидных повторов в промоторе гена *FMR1*. Это утверждение касается диапазона премутационных изменений: чем выше количество повторов, тем меньше вырабатывается белка. При пересечении отметки в 200 единиц количество повторов перестает влиять на уровень синтеза FMRP, белок отсутствует либо его количество становится минимальным.

- 2. Уровень IQ находится в обратной зависимости от числа тринуклеотидных повторов в *FMR1* и в прямой зависимости от количества FMRP. Вместе с тем не все психические функции оказываются одинаково чувствительны к дефициту белка FMRP в организме носителей мутаций в *FMR1*. Последствия дефицита белка FMRP в наибольшей степени затрагивают такие психические функции, как кратковременная память, внимание и скорость обработки информации.
- 3. Аутистическая симптоматика, в отличие от дефицита когнитивного развития, не обнаруживает значимой связи с количеством белка FMRP в клетках периферической крови испытуемых. Симптомы PAC в большей степени представлены у детей с FXS, имеющих повышенный уровень мРНК.
- 4. Уровень мРНК в клетках крови обнаруживает положительную корреляцию с числом тринуклеотидных повторов в промоторе гена FMR1 (в диапазоне премутационных изменений гена) у лиц мужского пола. С числом СGG-повторов в FMR1 достоверно коррелирует тяжесть и время манифестации симптомов FXTAS. Чем выше число СGG-повторов у индивидуумов, тем тяжелее у них протекает синдром тремора и атаксии, и тем раньше появляются первые симптомы. Вероятными механизмами, ответственными за развитие данного нейродегенеративного заболевания, являются механизм усиления функции РНК и RAN-трансляция FMRP.
- 6. Частота возникновения FXPOI достоверно коррелирует с количеством CGG-повторов в *FMR1*. Наиболее вероятной причиной развития синдрома FXPOI является накопление мРНК, кодируемой геном *FMR1*. Количество повторов в диапазоне 90—110 ассоциировано с более ранним возрастом наступления менопаузы. Предполагается, что за развитие синдрома FXPOI могут отвечать те же механизмы, что и за развитие синдрома FXTAS усиление функции PHK и RANтрансляция.
- 7. С выраженностью симптомов психических заболеваний надежно коррелирует степень метилирования СрG-участков интрона 1 кодирующей области гена *FMR1*. Этот показатель оказался весьма надежным критерием (100% чувствительность и 98% специфичность), позволяющим разделить испытуемых на группы высокого и низкого риска развития психо-эмоциональных проблем и нару-

- шений исполнительных функций. Метилирование данного участка также надежно коррелирует с анатомическими изменениями головного мозга, ассоциированными с нарушениями исполнительных функций когнитивной сферы.
- 8. Степень метилирования интрона 1 гена FMR1 также ассоциирована с уровнем интеллекта у женщин и мужчин с полной мутацией в FMR1.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом РФФИ 19-013-00750. Часть исследования выполнена в рамках второго этапа государственного задания Министерства просвещения Российской Федерации № 073-00041-21-05 от 14.07.2021 "Комплексное сопровождение детей с РАС на основе доказательного полхода".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Переверзева Д.С., Данилина К.К., Горбачевская Н.Л. Общие и специфические механизмы нарушения развития зрительной когнитивной функции у лиц с дефицитом белка FMRP. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2015. 65(3): 259—270.
- Переверзева Д.С., Тюшкевич С.А., Горбачевская Н.Л., Мамохина У.А., Данилина К.К. Гетерогенность клинической картины при синдромах, ассоциированных с динамическими мутациями гена FMR1. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019. 119(7): 103—111.
- Тюшкевич С.А., Воинова В.Ю., Юров И.Ю., Горбачевская Н.Л. Характер когнитивных нарушений у детей с синдромом умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой Х. Дефектология. 2010. 3: 29—37.
- Юдкин Д.В., Лемская Н.А., Грищенко И.В., Дольский А.А. Изменение состава хроматина при экспансии тринуклеотидного повтора СGG в гене *FMR1*. Молекулярная биология. 2015. 49(2): 205—211.
- Abitbol M., Menini C., Delezoide A.-L., Rhyner T., Vekemans M., Mallet J. Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of FMR-1 expression in the human fetal brain. Nature. Genet. 1993. 4: 147–153.
- Allen E.G., Sullivan A.K., Marcus M., Small C., Dominguez C., Epstein M.P., Charen K., He W., Taylor K.C., Sherman S.L. Examination of reproductive aging milestones among women who carry the FMR1 premutation. Hum. Reprod. 2007. 22(8): 2142–2152.
- Antar L.N., Li C., Zhang H., Carroll R.C., Bassell G.J. Local functions for FMRP in axon growth cone motility and activity-dependent regulation of filo-

- podia and spine synapses. Mol. Cell. Neurosci. 2006. 32: 37–48.
- Arocena D.G., Iwahashi C.K., Won N., Beilina A., Ludwig A.L., Tassone F., Schwartz P.H., Hagerman P.J. Induction of inclusion formation and disruption of lamin A/C structure by premutation CGG-repeat RNA in human cultured neural cells. Hum. Mol. Genet. 2005. 14: 3661–3671.
- Arpone M., Baker E.K., Bretherton L., Bui M., Li X., Whitaker S., Dissanayake C., Cohen J., Hickerton C., Rogers C., Field M., Elliott J., Aliaga S.M., Ling L., Francis D., Hearps S., Hunter M.F., Amor D.J., Godler D.E. Intragenic DNA methylation in buccal epithelial cells and intellectual functioning in a paediatric cohort of males with fragile X. Sci. Rep. 2018. 8(1): 3644.
- Ascano M.Jr., Mukherjee N., Bandaru P., Miller J.B., Nusbaum J.D., Corcoran D.L., Langlois C., Munschauer M., Dewell S., Hafner M., Williams Z., Ohler U., Tuschl T. FMRP targets distinct mRNA sequence elements to regulate protein expression. Nature. 2012. 492: 382–386.
- Ashwood P., Nguyen D.V., Hessl D., Hagerman R.J., Tassone F. Plasma cytokine profiles in Fragile X subjects: is there a role for cytokines in the pathogenesis? Brain. Behav. Immun. 2010. 24(6): 898–902.
- Bailey D.B.Jr., Raspa M., Olmsted M., Holiday D.B. Co-occurring conditions associated with *FMR1* gene variations: findings from a national parent survey. Am. J. Med. Genet. 2008. 146A(16): 2060–2069.
- Baker E.K., Arpone M., Aliaga S.M., Bretherton L., Kraan C.M., Bui M., Slater H.R., Ling L., Francis D., Hunter M.F., Elliott J., Rogers C., Field M., Cohen J., Cornish K., Santa Maria L., Faundes V., Curotto B., Morales P., Trigo C., Salas I., Alliende A.M., Amor D.J., Godler D.E. Incomplete silencing of full mutation alleles in males with fragile X syndrome is associated with autistic features. Mol. Autism. 2019. 3: 10–21.
- Baker E.K., Arpone M., Kraan C., Bui M., Rogers C., Field M., Bretherton L., Ling L., Ure A., Cohen J., Hunter M.F., Santa María L., Faundes V., Curotto B., Morales P., Trigo C., Salas I., Alliende A., Amor D.J., Godler D.E. FMR1 mRNA from full mutation alleles is associated with ABC-C_{FX} scores in males with fragile X syndrome. Sci. Rep. 2020. 10(1): 11701.
- Baron-Cohen S., Ring H.A., Bullmore E.T., Wheelwright S., Ashwin C., Williams S.C. The amygdala theory of autism. Neurosci. Biobehav. Rev. 2000. 24(3): 355–364.
- Basuta K., Schneider A., Gane L., Polussa J., Woodruff B., Pretto D., Hagerman R., Tassone F. High functioning male with fragile X syndrome and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. Am. J. Med. Genet. 2015. 167A (9): 2154–2161.
- Bechara E.G., Didiot M.C., Melko M., Davidovic L., Bensaid M., Martin P., Castets M., Pognonec P.,

- *Khandjian E.W., Moine H., Bardoni B.* A novel function for fragile X mental retardation protein in translational activation. PLoS. Biol. 2009. 7: E16–E16.
- Berman R.F., Buijsen R.A., Usdin K., Pintado E., Kooy F., Pretto D., Pessah I.N., Nelson D.L., Zalewski Z., Charlet-Bergeurand N., Willemsen R., Hukema R.K. Mouse models of the fragile X premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. J. Neurodev. Disord. 2014. 6(1): 25.
- Berry-Kravis E., Potanos K., Weinberg D., Zhou L., Goetz C.G. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in sisters related to X-inactivation. Ann. Neurol. 2005. 57: 144–147.
- Brown M.R., Kronengold J., Gazula V.R., Chen Y., Strumbos J.G., Sigworth F.J., Navaratnam D., Kaczmarek L.K. Fragile X mental retardation protein controls gating of the sodium-activated potassium channel Slack. Nat. Neurosci. 2010. 13: 819–821.
- Budimirovic D.B., Kaufmann W.E. What can we learn about autism from studying fragile X syndrome? Dev. Neurosci. 2011. 33(5): 379–394.
- Budimirovic D.B, Subramanian M. Neurobiology of Autism and Intellectual Disability: fragile X Syndrome. 2 ed. In: Johnston M., Adams H., Fatemi A., editors. London: Oxford University Press; 2016.
- Buijsen R.A., Visser J.A., Kramer P., Severijnen E.A., Gearing M., Charlet-Berguerand N., Sherman S.L., Berman R.F., Willemsen R., Hukema R.K. Presence of inclusions positive for polyglycine containing protein, FMRpolyG, indicates that repeat-associated non-AUG translation plays a role in fragile X-associated primary ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2016. 31(1): 158–168.
- Clifford S., Dissanayake C., Bui Q.M., Huggins R., Taylor A.K., Loesch D.Z. Autism spectrum phenotype in males and females with fragile X full mutation and premutation. Journal of Autism and Developmental Disorders. 2007. 37(4): 738–747.
- Cohen S., Masyn K., Adams J., Hessl D., Rivera S., Tassone F., Brunberg J., DeCarli C., Zhang L., Cogswell J., Loesch D., Leehey M., Grigsby J., Hagerman P.J., Hagerman R. Molecular and imaging correlates of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. Neurology. 2006. 67(8): 1426–1431.
- Colak D., Zaninovic N., Cohen M.S., Rosenwaks Z., Yang W.Y., Gerhardt J., Disney M.D., Jaffrey S.R. Promoter-bound trinucleotide repeat mRNA drives epigenetic silencing in fragile X syndrome. Science. 2014. 343(6174): 1002–1005.
- Cornish K.M., Kogan C.S., Li L., Turk J., Jacquemont S., Hagerman R.J. Lifespan changes in working memory in fragile X premutation males. Brain. Cogn. 2009. 69(3): 551–558.
- Cornish K.M., Kraan C.M., Bui Q.M., Bellgrove M.A., Metcalfe S.A., Trollor J.N., Hocking D.R., Slater H.R., Inaba Y., Li X., Archibald A.D., Turbitt E., Cohen J., Godler D.E. Novel methylation markers of the

- dysexecutive-psychiatric phenotype in FMR1 premutation women. Neurology. 2015. 84(16): 1631 - 1638.
- de Vries B.B., Wiegers A.M., Smits A.P., Mohkamsing S., Duivenvoorden H.J., Fryns J.P., Curfs L.M., Halley D.J., Oostra B.A., van den Ouweland A.M., Nier- meijer M.F. Mental status of females with an FMR1 gene full mutation. Am. J. Hum. Genet. 1996. 58(5): 1025–1032.
- Dean D.D., Agarwal S., Muthuswamy S. Defining the role of FMR1 gene in unexplained recurrent spontaneous abortion. J Assist Reprod Genet. 2019. 36(11): 2245-2250.
- DeMarco B., Stefanovic S., Williams A., Moss K.R., Anderson B.R., Bassell G.J., Mihailescu M.R. FMRP -G-quadruplex mRNA - miR-125a interactions: Implications for miR-125a mediated translation regulation of PSD-95 mRNA. PLoS One. 2019. 14(5): e0217275.
- Didiot M.C., Tian Z., Schaeffer C., Subramanian M., Mandel J.L., Moine H. The G-quartet containing FMRP binding site in FMR1 mRNA is a potent exonic splicing enhancer. Nucleic. Acids. Res. 2008. 36: 4902–4912.
- Doll C.A., Yergert K.M., Appel B.H. The RNA binding protein fragile X mental retardation protein promotes myelin sheath growth Glia. 2020. 68(3): 495-508.
- Drouin R., Angers M., Dallaire N., Rose T.M., Khandjian W., Rousseau F. Structural and functional characterization of the human FMR1 promoter reveals similarities with the hnRNP-A2 promoter region. Hum. Mol. Genet. 1997. 6: 2051-2060.
- Ennis S., Ward D., Murray A. Nonlinear association between CGG repeat number and age of menopause in *FMR1* premutation carriers. Eur. J. Hum. Genet. 2006. 14(2): 253-255.
- Farzin F., Perry H., Hessl D., Loesch D., Cohen J., Bacalman S., Gane L., Tassone F., Hagerman P., Hagerman R. Autism spectrum disorders and attention-deficit/hyperactivity disorder in boys with the fragile X premutation. J Dev Behav Pediatr. 2006. 27(2 Suppl): 137-144. PMID: 16685180.

https://doi.org/10.1097/00004703-200604002-00012

- Field M., Dudding-Byth T., Arpone M., Baker E.K., Aliaga S.M., Rogers C., Hickerton C., Francis D., Phelan D.G., Palmer E.E., Amor D.J., Slater H., Bretherton L., Ling L., Godler D.E. Significantly Elevated FMR1 mRNA and Mosaicism for Methylated Premutation and Full Mutation Alleles in Two Brothers with Autism Features Referred for Fragile X Testing. Int J Mol Sci. 2019. 20(16): 3907.
- Friedman-Gohas M., Elizur S.E., Dratviman-Storobinsky O., Aizer A., Haas J., Raanani H., Orvieto R., Cohen Y. FMRpolyG accumulates in FMR1 premutation granulosa cells. J Ovarian Res. 2020. 13(1): 22.
- Gallego P.K., Burris J.L., Rivera S.M. Visual motion processing deficits in infants with the fragile X

- premutation. J. Neurodev Disord. 2014. 6(1): 29. https://doi.org/10.1186/1866-1955-6-29
- Garcia-Alegria E., Ibáñez B., Mínguez M., Poch M., Valiente A., Sanz-Parra A., Martinez-Bouzas C., Beristain E., Tejada M.I. Analysis of FMR1 gene expression in female premutation carriers using robust segmented linear regression models. RNA. 2007. 13(5): 756–762.
- Godler D.E., Slater H.R., Bui O.M., Ono M., Gehling F., Francis D., Amor D.J., Hopper J.L., Hagerman R., Loesch D.Z. FMR1 intron 1 methylation predicts FMRP expression in blood of female carriers of expanded FMR1 alleles. J. Mol. Diagn. 2011. 13(5): 528-536.
- Godler D.E., Slater H.R., Bui Q.M., Storey E., Ono M.Y., Gehling F., Inaba Y., Francis D., Hopper J.L., Kinsella G., Amor D.J., Hagerman R.J., Loesch D.Z. Fragile X mental retardation 1 (FMR1) intron 1 methylation in blood predicts verbal cognitive impairment in female carriers of expanded FMR1 alleles: evidence from a pilot study. Clin. Chem. 2012. 58(3): 590-598.
- Godler D.E., Tassone F., Loesch D.Z., Taylor A.K., Gehling F., Hagerman R.J., Burgess T., Ganesamoorthy D., Hennerich D., Gordon L., Evans A., Choo K.H., Slater H.R. Methylation of novel markers of fragile X alleles is inversely correlated with FMRP expression and FMR1 activation ratio. Hum. Mol. Genet. 2010. 19(8): 1618–1632.
- Godler D.E. Treatment and diagnosis of epigenetic disorders and conditions. Google Patents; 2012.
- Greco C.M., Berman R.F., Martin R.M., Tassone F., Schwartz P.H., Chang A., Trapp B.D., Iwahashi C., Brunberg J., Grigsby J., Hessl D., Becker E.J., Papazian J., Leehey M.A., Hagerman R.J., Hagerman P.J. Neuropathology of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). Brain. 2006. 129 (Pt 1): 243-255.
- Hagerman P.J., Hagerman R.J. The fragile-X premutation: a maturing perspective. Am. J. Hum. Genet. 2004. 74(5): 805-816.
- Hagerman R.J., Berry-Kravis E., Hazlett H.C., Bailey D.B. Jr., Moine H., Kooy R.F., Tassone F., Gantois I., Sonenberg N., Mandel J.L., Hagerman P.J. Fragile X syndrome. Nat. Rev. Dis. Primers. 2017. 3: 17065.
- Hagerman R.J., Hull C.E., Safanda J.F., Carpenter I., Staley L.W., O'Connor R.A., Seydel C., Mazzocco M.M., Snow K., Thibodeau S.N., Kuhl D., Nelson D.L., Caskey C.Th., Taylor A.K. High functioning fragile X males: demonstration of an unmethylated fully expanded FMR-1 mutation associated with protein expression. Am J Med Genet. 1994. 51(4): 298-308.
- Hagerman R.J., Protic D., Rajaratnam A., Salcedo-Arellano M.J., Aydin E.Y., Schneider A. Fragile X-Associated Neuropsychiatric Disorders (FXAND). Frontiers in psychiatry. 2018. 9: 564.
- Hall D., Pickler L., Riley K., Tassone F., Hagerman R. Parkinsonism and cognitive decline in a fragile X

- mosaic male. Mov. Disord. 2010. 25(10): 1523-1524.
- Hall D.A., Robertson-Dick E.E., O'Keefe J.A., Hadd A.G., Zhou L., Berry-Kravis E. X-inactivation in the clinical phenotype of fragile X premutation carrier sisters. Neurology. Genetics. 2016. 2(1): e45.
- Hall D.A., Nag S., Ouyang B., Bennett D.A., Liu Y., Ali A., Zhou L., Berry-Kravis E. Fragile X Gray Zone Alleles Are Associated With Signs of Parkinsonism and Earlier Death. Mov. Disord. 2020. 35(8): 1448–1456.
- Hashimoto R.I., Backer K.C., Tassone F., Randi J., Hagerman R.J., Rivera S.M. An fMRI study of the prefrontal activity during the performance of a work- ing memory task in premutation carriers of the fragile X mental retardation 1 gene with and without fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FX-TAS). Journal of Psychiatric Research. 2010. 45(1): 36–43.
- Hatton D.D., Sideris J., Skinner M., Mankowski J., Bailey D.B. Jr, Roberts J., Mirrett P. Autistic behavior in children with fragile X syndrome: prevalence, stability, and the impact of FMRP. Am. J. Med. Genet. A. 2006. 140A(17): 1804–1813.
- Heine-Suñer D., Torres-Juan L., Morlà M., Busquets X., Barceló F., Picó G., Bonilla L., Govea N., Bernués M., Rosell J. Fragile-X syndrome and skewed X-chromosome inactivation within a family: a female member with complete inactivation of the functional X chromosome. Am J Med Genet A. 2003. 122A(2): 108–114.
- Hessl D., Dyer-Friedman J., Glaser B., Wisbeck J., Barajas R.G., Taylor A., Reiss A.L. The influence of environmental and genetic factors on behavior problems and autistic symptoms in boys and girls with fragile X syndrome. Pediatrics. 2001. 108(5): E88.
- Hessl D., Tassone F., Loesch D.Z., Berry-Kravis E., Leehey M.A., Gane L.W., Barbato I., Rice C., Gould E., Hall D.A., Grigsby J., Wegelin J.A., Harris S., Lewin F., Weinberg D., Hagerman P.J., Hagerman R.J. Abnormal elevation of FMR1 mRNA is associated with psychological symptoms in individuals with the fragile X premutation. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2005. 139B(1): 115–121.
- Hessl D., Nguyen D.V., Green C., Chavez A., Tassone F., Hagerman R. J., Senturk D., Schneider A., Lightbody A., Reiss A.L., Hall S. A solution to limitations of cognitive testing in children with intellectual disabilities: the case of fragile X syndrome. Journal of neurodevelopmental disorders. 2009. 1(1): 33–45.
- Hinds H.L., Ashley C.T., Sutcliffe J.S., Nelson D.L., Warren S.T., Housman D.E., Schalling M. Tissue specific expression of FMR-1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome. Nat. Genet. 1993. 3(1): 36–43.
- Hukema R.K., Buijsen R.A., Schonewille M., Raske C., Severijnen L.A., Nieuwenhuizen-Bakker I., Verha-

- gen R.F., van Dessel L., Maas A., Charlet-Berguerand N., De Zeeuw C.I., Hagerman P.J., Berman R.F., Willemsen R. Reversibility of neuropathology and motor deficits in an inducible mouse model for FXTAS. Hum. Mol. Genet. 2015. 24(17): 4948— 4957.
- Jacquemont S., Hagerman R.J., Leehey M.A., Hall D.A., Levine R.A., Brunberg J.A., Zhang L., Jardini T., Gane L.W., Harris S.W., Herman K., Grigsby J., Greco C.M., Berry-Kravis E., Tassone F., Hagerman P.J. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population. JAMA. 2004. 291(4): 460–469.
- Jacquemont S., Leehey M.A., Hagerman R.J., Beckett L.A., Hagerman P.J. Size bias of fragile X premutation alleles in late-onset movement disorders. J. Med. Genet. 2006. 43(10): 804–809.
- Jalnapurkar I., Rafika N., Tassone F., Hagerman R. Immune mediated disorders in women with a fragile X expansion and FXTAS. Am. J. Med. Genet. A. 2015. 167A(1): 190–7.
- Jiraanont P., Kumar M., Tang H.T., Espinal G., Hagerman P.J., Hagerman R.J., Chutabhakdikul N., Tassone F. Size and methylation mosaicism in males with Fragile X syndrome. Expert. Rev. Mol. Diagn. 2017a. 17(11): 1023–1032.
- Jiraanont P., Sweha S.R., AlOlaby R.R., Silva M., Tang H.T., Durbin-Johnson B., Schneider A., Espinal G.M., Hagerman P.J., Rivera S.M., Hessl D., Hagerman R.J., Chutabhakdikul N., Tassone F. Clinical and molecular correlates in fragile X premutation females. eNeurologicalSci. 2017b. 7: 49–56.
- Kenna H.A., Tartter M., Hall S.S. High rates of comorbid depressive and anxiety disorders among women with premutation of the *FMR1* gene. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2013. 162(8): 872–878.
- Kenny P.J., Zhou H., Kim M., Skariah G., Khetani R.S., Drnevich J., Arcila M.L., Kosik K.S., Ceman S. MOV10 and FMRP regulate AGO2 association with microRNA recognition elements. Cell Rep. 2014. 9: 1729–1741.
- Kim K., Hessl D., Randol J.L., Espinal G.M., Schneider A., Protic D., Aydin E.Y., Hagerman R.J., Hagerman P.J. Association between IQ and FMR1 protein (FMRP) across the spectrum of CGG repeat expansions. PLoS One. 2019. 14(12): e0226811.
- Kim M., Bellini M., Ceman S. Fragile X mental retardation protein FMRP binds mRNAs in the nucleus. Mol. Cell. Biol. 2009. 29: 214–228.
- Kirchgessner C.U., Warren S.T., Willard H.F. X inactivation of the *FMR1* fragile X mental retardation gene. Journal of medical genetics. 1995. 32(12): 925–929.
- Kover S.T., Pierpont E.I., Kim J.S., Brown W.T., Abbeduto L. A neurodevelopmental perspective on the acquisition of nonverbal cognitive skills in adolescents with fragile X syndrome. Dev. Neuropsychol. 2013. 38(7): 445–460.

- *Kraan C.M., Godler D.E., Amor D.J.* Epigenetics of fragile X syndrome and fragile X-related disorders. Dev. Med. Child. Neurol. 2019. 61(2): 121–127.
- Krans A., Kearse M.G., Todd P.K. Repeat-associated nonAUG translation from antisense CCG repeats in fragile X tremor/ataxia syndrome. Ann Neurol. 2016. 80: 871–881.
- *Kumari D., Usdin K.* Interaction of the transcription factors USF1, USF2, and α-Pal/Nrf-1 with the FMR1 promoter. Implications for fragile X mental retardation syndrome. J. Biol. Chem. 2001. 276: 4357–4364.
- Lachiewicz A., Dawson D., Spiridigliozzi G. Indicators of anxiety and depression in women with the fragile X premutation: assessment of a clinical sample. J. Intellect. Disabil. Res. 2010. 54(7): 597–610.
- Leehey M.A., Berry-Kravis E., Goetz C.G., Zhang L., Hall D.A., Li L., Rice C.D., Lara R., Cogswell J., Reynolds A., Gane L., Jacquemont S., Tassone F., Grigsby J., Hagerman R.J., Hagerman P.J. FMR1 CGG repeat length predicts motor dysfunction in premutation carriers. Neurology. 2008. 70(16 Pt 2): 1397–402.
- Loesch D.Z., Bui M.Q., Hammersley E. Psychological status in female carriers of premutation FMR1 allele showing a complex relationship with the size of CGG expansion. Clin. Genet. 2015. 87(2): 173–178.
- Loesch D.Z., Bui Q.M., Dissanayake C., Clifford S., Gould E., Bulhak-Paterson D., Tassone F., Taylor A.K., Hessl D., Hagerman R., Huggins R.M. Molecular and cognitive predictors of the continuum of autistic behaviours in fragile X. Neurosci. Biobehav. Rev. 2007. 31(3): 315–326.
- Loesch D.Z., Godler D.E., Evans A., Bui Q.M., Gehling F., Kotschet K.E., Trost N., Storey E., Stimpson P., Kinsella G., Francis D., Thorburn D.R., Venn A., Slater H.R., Horne M. Evidence for the toxicity of bidirectional transcripts and mitochondrial dysfunction in blood associated with small CGG expansions in the FMR1 gene in patients with parkinsonism. Genet. Med. 2011. 13: 392–399.
- Loesch D.Z., Huggins R.M., Hagerman R.J. Phenotypic variation and FMRP levels in fragile X. Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev. 2004. 10(1): 31–41.
- Loesch D.Z., Sherwell S., Kinsella G., Tassone F., Taylor A., Amor D., Sung S., Evans A. Fragile X-associated tremor/ataxia phenotype in a male carrier of unmethylated full mutation in the FMR1 gene. Clin. Genet. 2012. 82(1): 88–92.
- Loesch D.Z., Tassone F., Mellick G.D., Horne M., Rubio J.P., Bui M.Q., Francis D., Storey E. Evidence for the role of FMR1 gray zone alleles as a risk factor for parkinsonism in females. Mov Disord. 2018. 33(7): 1178–1181.
- Loesch D.Z., Churchyard A., Brotchie P., Marot M., Tassone F. Evidence for, and a spectrum of, neurological involvement in carriers of the fragile X

- premutation: FXTAS and beyond. Clin Genet. 2005. 67: 412–417.
- Loesch D., Hagerman R. Unstable mutations in the FMR1 gene and the phenotypes. Adv Exp Med Biol. 2012. 769: 78–114. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5434-2 6
- Lozano R., Rosero C., Hagerman R. Fragile X spectrum disorders. Intractable & Rare Diseases Research. 2014. 3(4): 134–146.
- Ludwig A.L., Espinal G.M., Pretto D., Jamal A.L., Arque G., Tassone F., Berman R.F., Hagerman P.J. CNS expression of murine fragile X protein (FM-RP) as a function of CGG-repeat size. Hum. Mol. Genet. 2014. 23: 3228–3238.
- Mailick M.R., Hong J., Greenberg J., Smith L., Sherman S. Curvilinear association of CGG repeats and age at menopause in women with FMR1 premutation expansions. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2014. 165B(8): 705–711.
- *Mankodi A., Thornton C.A.* Myotonic syndromes. Curr. Opin. Neurol. 2002. 15: 545–552.
- McDuffie A., Abbeduto L., Lewis P., Kover S., Kim J.S., Weber A., Brown W.T. Autism spectrum disorder in children and adolescents with fragile X syndrome: within-syndrome differences and age-related changes. Am. J. Intellect. Dev. Disabil. 2010. 115(4): 307–326.
- Moore C.J., Daly E.M., Schmitz N., Tassone F., Tysoe C., Hagerman R.J., Hagerman P.J., Morris R.G., Murphy K.C., Murphy D.G. A neuropsychological investigation of male premutation carriers of fragile X syndrome. Neuropsychologia. 2004. 42: 1934–1947.
- Myrick L.K., Deng P.Y., Hashimoto H., Oh Y.M., Cho Y., Poidevin M.J., Suhl J.A., Visootsak J., Cavalli V., Jin P., Cheng X., Warren S.T., Klyachko V.A. Independent role for presynaptic FMRP revealed by an FMR1 missense mutation associated with intellectual disability and seizures. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2015. 112: 949–956.
- Naumann A., Hochstein N., Weber S., Fanning E., Doerfler W. A distinct DNA-methylation boundary in the 5'-upstream sequence of the *FMR1* promoter binds nuclear proteins and is lost in fragile X syndrome. Am. J. Hum. Genet. 2009. 85: 606–616.
- Nelson L.M., Covington S.N., Rebar R.W. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. Fertil. Steril. 2005. 283: 1327—1332.
- Nolin S.L., Glicksman A., Houck G.E. Jr, Brown W.T., Dobkin C.S. Mosaicism in fragile X affected males. Am. J. Med. Genet. 1994. 51(4): 509–512.
- Pastori C., Peschansky V.J., Barbouth D., Mehta A., Silva J.P., Wahlestedt C. Comprehensive analysis of the transcriptional landscape of the human FMR1 gene reveals two new long noncoding RNAs differentially expressed in Fragile X syndrome and Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. Hum. Genet 2014. 133: 59–67.

- Peprah E., He W., Allen E., Oliver T., Boyne A., Sherman S.L. Examination of FMR1 transcript and protein levels among 74 premutation carriers. J. Hum. Genet. 2010. 55(1): 66–68.
- Peschansky V.J., Pastori C., Zeier Z., Wentzel K., Velmeshev D., Magistri M., Silva J.P., Wahlestedt C. The long noncoding RNA FMR4 promotes proliferation of human neural precursor cells and epigenetic regulation of gene expression in trans. Mol. Cell. Neurosci. 2016. 74: 49–57.
- Pietrobono R., Pomponi M.G., Tabolacci E., Oostra B., Chiurazzi P., Neri G. Quantitative analysis of DNA demethylation and transcriptional reactivation of the FMR1 gene in fragile X cells treated with 5-azadeoxycytidine. Nucleic. Acids. Res. 2002. 30: 3278–3285.
- Pretto D., Yrigollen C.M., Tang H.T., Williamson J., Espinal G., Iwahashi C.K., Durbin-Johnson B., Hagerman R.J., Hagerman P.J., Tassone F. Clinical and molecular implications of mosaicism in FMR1 full mutations. Front Genet. 2014a. 5: 318.
- Pretto D.I., Hunsaker M.R., Cunningham C.L., Greco C.M., Hagerman R.J., Noctor S.C., Hall D.A., Hagerman P.J., Tassone F. Intranuclear inclusions in a fragile X mosaic male. Transl. Neurodegener. 2013. 2(1): 10.
- Pretto D.I., Mendoza-Morales G., Lo J., Cao R., Hadd A., Latham G.J., Durbin-Johnson B., Hagerman R., Tassone F. CGG allele size somatic mosaicism and methylation in *FMR1* premutation alleles. J. Med. Genet. 2014b. 51(5): 309–318.
- Rajaratnam A., Shergill J., Salcedo-Arellano M., Saldarriaga W., Duan X., Hagerman R. Fragile X syndrome and fragile X-associated disorders. F1000Res. 2017. 6: 2112.
- Raspa M., Wylie A., Wheeler A.C., Kolacz J., Edwards A., Heilman K., Porges S.W. Sensory Difficulties in Children With an FMR1 Premutation. Front Genet. 2018 Aug 28; 9: 351. PMID: 30233641; PMCID: PMC6127619. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00351
- Roberts J.E., Bailey D.B., Mankowski J. Mood and anxiety disorders in females with the FMR1 premutation. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2009a. 150(1): 130–139.
- Roberts J.E., Ezell J.E., Fairchild A.J., Klusek J., Thurman A.J., McDuffie A., Abbeduto L. Biobehavioral composite of social aspects of anxiety in young adults with fragile X syndrome contrasted to autism spectrum disorder. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2018. 177(7): 665–675.
- Rodriguez-Revenga L., Madrigal I., Badenas C., Xunclà M., Jiménez L., Milà M. Premature ovarian failure and fragile X female premutation carriers: no evidence for a skewed X-chromosome inactivation pattern. Menopause. 2009. 16(5): 944–949.
- Rodriguez-Revenga L., Madrigal I., Pagonabarraga J., Xunclà M., Badenas C., Kulisevsky J., Gomez B., Milà M. Penetrance of FMR1 premutation associ-

- ated pathologies in fragile X syndrome families. Eur. J. Hum. Genet. 2009. 17(10): 1359–1362.
- Rousseau F., Heitz D., Biancalana V., Blumenfeld S., Kretz C., Boué J., Tommerup N., Van Der Hagen C., DeLozier-Blanchet C., Croquette M.F. Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation. N. Engl. J. Med. 1991. 325(24): 1673–1681.
- Salcedo-Arellano M.J., Dufour B., McLennan Y., Martinez-Cerdeno V., Hagerman R. Fragile X syndrome and associated disorders: Clinical aspects and pathology. Neurobiol Dis. 2020 Mar; 136: 104740.
- Santa María L., Pugin A., Alliende M.A., Aliaga S., Curotto B., Aravena T., Tang H.T., Mendoza-Morales G., Hagerman R., Tassone F. FXTAS in an unmethylated mosaic male with fragile X syndrome from Chile. Clin. Genet. 2014. 86(4): 378–382.
- Schneider A., Johnston C., Tassone F. Broad autism spectrum and obsessive—compulsive symptoms in adults with the fragile X premutation. Clin. Neuropsychol. 2016. 30(6): 929—943.
- Sellier C., Buijsen RAM, He F., Natla S., Jung L., Tropel P., Gaucherot A., Jacobs H., Meziane H., Vincent A., Champy M.F., Sorg T., Pavlovic G., Wattenhofer-Donze M., Birling M.C., Oulad-Abdelghani M., Eberling P., Ruffenach F., Joint M., Anheim M., Martinez-Cerdeno V., Tassone F., Willemsen R., Hukema R.K., Viville S., Martinat C., Todd P.K., Charlet-Berguerand N. Translation of Expanded CGG Repeats into FMRpolyG Is Pathogenic and May Contribute to Fragile X Tremor Ataxia Syndrome. Neuron. 2017. 93(2): 331–347.
- Sellier C., Usdin K., Pastori C., Peschansky V.J., Tassone F., Charlet-Berguerand N. The multiple molecular facets of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. J Neurodev. Disord. 2014. 6(1): 23.
- Sharma A., Hoeffer C.A., Takayasu Y., Miyawaki T., McBride S.M., Klann E., Zukin R.S. Dysregulation of mTOR signaling in fragile X syndrome. J. Neurosci. 2010. 30(2): 694–702.
- Shelton A.L., Cornish K.M., Godler D., Bui Q.M., Kolbe S., Fielding J. White matter microstructure, cognition, and molecular markers in fragile X premutation females. Neurology. 2017. 88(22): 2080–2088.
- Sherman S.L. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. Am. J. Med. Genet. 2000. 97(3): 189–194.
- Sterling A., Abbeduto L. Language development in school-age girls with fragile X syndrome. Journal of Intellectual Disability Research. 2012. 56(10): 974–983.
- Stöger R., Genereux D.P., Hagerman R.J., Hagerman P.J., Tassone F., Laird C.D. Testing the FMR1 promoter for mosaicism in DNA methylation among CpG sites, strands, and cells in FMR1-expressing males with fragile X syndrome. PLoS One. 2011. 6(8): e23648.
- Sullivan A.K., Marcus M., Epstein M.P., Allen E.G., Anido A.E., Paquin J.J., Yadav-Shah M., Sherman S.L.

- Association of *FMR1* repeat size with ovarian dysfunction. Hum. Reprod. 2005. 20: 402–412.
- Tassone F., Hagerman R.J., Chamberlain W.D., Hagerman P.J. Transcription of the FMR1 gene in individuals with fragile X syndrome. Am. J. Med. Genet. 2000. 97(3): 195–203.
- Tassone F., Beilina A., Carosi C., Albertosi S., Bagni C., Li L., Glover K., Bentley D., Hagerman P.J. Elevated FMR1 mRNA in premutation carriers is due to increased transcription. RNA. 2007. 13(4): 555–562.
- Tassone F., Hagerman R.J., Taylor A.K., Hagerman P.J. A majority of fragile X males with methylated, full mutation alleles have significant levels of *FMR1* messenger RNA. J. Med. Genet. 2001. 38(7): 453–456.
- Tassone F., Iwahashi C., Hagerman P.J. FMR1 RNA within the intranuclear inclusions of Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome (FXTAS). RNA Biology. 2004. 1(2): 103–105.
- Tassone F, Iong K.P., Tong T.H., Lo J., Gane L.W., Berry-Kravis E., Nguyen D., Mu L.Y., Laffin J., Bailey D.B., Hagerman R.J. FMR1 CGG allele size and prevalence ascertained through newborn screening in the United States. Genome Med. 2012. 21.4(12): 100.

https://doi.org/10.1186/gm401

- Todd P.K., Oh S.Y., Krans A., He F., Sellier C., Frazer M., Renoux A.J., Chen K.C., Scaglione K.M., Basrur V., Elenitoba-Johnson K., Vonsattel J.P., Louis E.D., Sutton M.A., Taylor J.P., Mills R.E., Charlet-Berguerand N., Paulson H.L. CGG repeat-associated translation mediates neurodegeneration in fragile X tremor ataxia syndrome. Neuron. 2013. 78(3): 440–455.
- Villate O., Ibarluzea N., Maortua H., de la Hoz A.B., Rodriguez-Revenga L., Izquierdo-Álvarez S., Tejada M.I. Effect of AGG Interruptions on FMR1 Maternal Transmissions. Front. Mol. Biosci. 2020. 7: 135.
- Welt C.K., Smith P.C., Taylor A.E. Evidence of early ovarian aging in fragile X premutation carriers. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004. 89(9): 4569–4574.
- Wheeler A.C., Sideris J., Hagerman R., Berry-Kravis E., Tassone F., Bailey D.B. Jr. Developmental profiles of infants with an *FMR1* premutation. J Neurodev Disord. 2016. 8(40). https://doi.org/10.1186/s11689-016-9171-8
- Westmark C.J., Sokol D.K., Maloney B., Lahiri D.K. Novel roles of amyloid-beta precursor protein metabolites in fragile X syndrome and autism. Mol. Psychiatry. 2016. 21(10): 1333–1341.

THE SPECTRUM OF SYNDROMIC DISORDERS ASSOCIATED WITH EXPANSION OF CGG-REPEATS IN THE *FMR1* PROMOTER: PATHOGENETIC MECHANISMS AND CLINICAL SYMPTOMS

D. S. Pereverzeva^a, S. A. Tyushkevich^a, E. V. Ulas^b, N. L. Gorbachevskaya^{a, c, #}

^aMoscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia
^bInstitute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
^cMental Health Research Center, Moscow, Russia

[#]e-mail: gorbachevskaya@yandex.ru

Fragile X spectrum disorders (FXSD) include Fragile X syndrome (FXS), Fragile X tremor ataxia syndrome (FXTAS), Fragile X premature ovarian insufficiency, fragile X associated neuropsychiatric disorders. They are caused by dynamic mutations of the *FMR1* gene due to expansion of trinucleotide repeats in the gene promoter. Fragile X syndrome (mental retardation, ASD, ADHD) is caused by *FMR1* full mutation (>200 CGG repeats) that results in full or partial suppression of FMRP expression. The clinical symptoms of FXTAS, FXPOI, FXAND can manifest in premutation carriers (CGG repeats from 55 to 200). The pathogenetic mechanism is associated with reduction of FMRP expression and excessive levels of FMR1 mRNA with excessive CGG-repeats number. In this review we focus on the phenotypes and genotypes of FX related disorders, analyzing the relationship between molecular mechanisms (FMRP deficit, atypical isoforms translation, *FMR1* mRNA gain of function) and clinical presentation (cognitive level, severity of ASD, manifestation of FXTAS, FXPOI and FXAND).

Keywords: FMR1 dynamic mutations, FMRP, CGG-repeat expansion, mRNA transcription, FMR1 spectrum disorders, mental retardation, Autism spectrum disorders, ADHD, FXTAS, FXPOI, FXAND

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УЛК 612.821.6

РОЛЬ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ФУНКЦИЙ ГИППОКАМПА: ЗДОРОВЫЙ МОЗГ

© 2022 г. В. Ф. Кичигина^{1, *}, Л. В. Шубина¹, И. Ю. Попова¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия *e-mail: vkitchigina@gmail.com

Поступила в редакцию 28.10.2021 г. После доработки 03.12.2021 г. Принята к публикации 20.12.2021 г.

Зубчатая извилина (ЗИ), входящая в состав гиппокамповой формации, является основной мишенью получаемых гиппокампом неокортикальных и субкортикальных афферентов. что составляет анатомическую основу его участия в когнитивных процессах, таких как внимание и память. ЗИ участвует в организации многих когнитивных функций гиппокампа и мозга в целом, включая детекцию новизны, разделение и завершение паттернов (pattern separation and pattern completion), пространственную рабочую память, кодирование информации и консолидацию памяти. Именно в ЗИ впервые была обнаружена долговременная потенциация - пластические изменения в синапсах, схожие с теми, которые происходят при запоминании информации. ЗИ представляет собой уникальную область мозга, одну из немногих, где обнаруживается нейрогенез у взрослых млекопитающих, включая человека. Другой особенностью ЗИ, отличающей ее от гиппокампа, является наличие в ней двух типов глутаматергических нейронов – гранулярных и мшистых клеток. Гранулярные клетки, в норме обладая низкой активностью, ограничивают возбудимость пирамидных нейронов гиппокампа в неблагоприятных условиях. Функции мшистых нейронов ЗИ наименее ясны; эти клетки, иннервируя как глутаматергические, так и ГАМКергические нейроны, вероятно, участвуют в организации сложной сетевой активности как в самой ЗИ, так и в гиппокампе. Несмотря на интенсивное исследование ЗИ, ее роль в деятельности гиппокампа еще во многом неясна. В предлагаемом обзоре рассматриваются анатомические, гистохимические и функциональные особенности ЗИ, активность отдельных клеточных элементов, а также ее роль в гиппокампальных функциях нормального мозга.

Ключевые слова: зубчатая извилина, гранулярные нейроны, мшистые клетки, гигантские синапсы, нейрогенез, длительная потенциация, шипики, паттерн разделения, паттерн завершения, защитная функция

DOI: 10.31857/S0044467722030030

1.1. АНАТОМИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ

Со времен исследований Рамон-и-Кахала (Ramon y Cajal, 1893) и Лоренте де Но (Lorente de No, 1934), описавших типы, характеристики и связи нейронов гиппокампа (cornu ammonis), его принято подразделять на три

Сокращения: ДП — длительная потенциация; ДД — длительная депрессия; ЛПП — локальные полевые потенциалы, МС-ДБ — медиальное септальное ядро и ядро диагонального пучка Брока; НТФ — нейротрофический фактор головного мозга; ПП — перфорантный путь.

области собственно гиппокампа (*CA1*, *CA2* и *CA3*) (Lorente de No, 1934) и зубчатую извилину (ЗИ) (*dentate gyrus*, *DG*). Подобно гиппокампу, ЗИ содержит основные глутаматергические нейроны и ГАМКергические интернейроны. Однако, в отличие от гиппокампа, ЗИ содержит два типа основных клеток: гранулярные нейроны и мшистые клетки (Scharfman, 1995; Freund, Buzsaki, 1996).

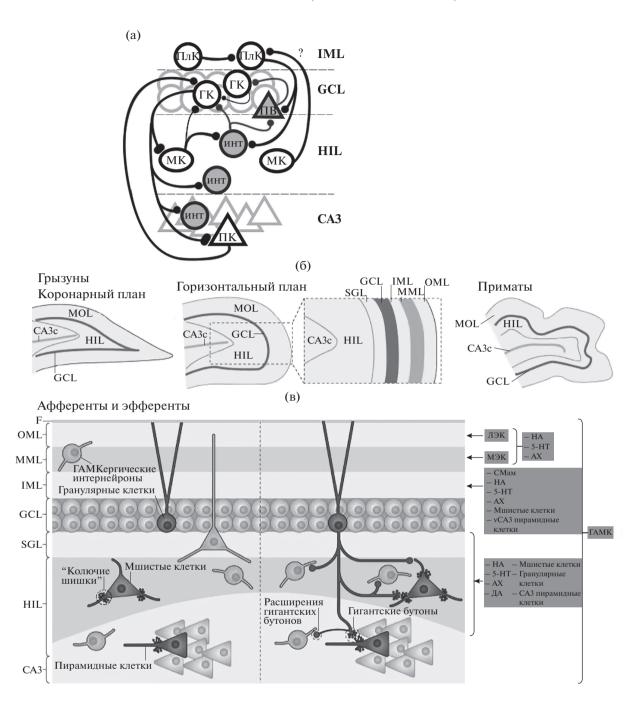
Анатомическая организация ЗИ сходна у грызунов и приматов. Основная структура ЗИ подробно описана в работе (Amaral et al., 2007) и суммирована на рис. 1. ЗИ, начиная от внешней поверхности, делится на три

Рис. 1. Организация зубчатой извилины у грызунов и приматов. (а) Упрощенная схема организации ЗИ. Показаны гранулярные клетки (ГК), полулунные гранулярные клетки (ПлК), минстые клетки (МК), интернейроны (ИНТ), ПВ – парвальбумин-содержащие интернейроны, пирамидные нейроны поля САЗ гиппокампа (Π K), а также связи между ними: возбуждающие (черные линии) и тормозные (серые линии). IML, внутренний молекулярный слой; GCL, гранулярный клеточный слой; HIL, хилус 3И; CA3, поле CA3 гиппокампа. (б) Основная организация зубчатой извилины (ЗИ) в коронарном и горизонтальном планах в мозге грызунов и приматов. Область, выделенная пунктирной линией, представлена при большем увеличении на вставке, гле показана ламинарная организация ЗИ, включающей молекулярный слой (МОL). гранулярный слой (GCL) и хилус (HIL). Схематическое изображение структуры ЗИ у приматов показывает сходство с таковой у грызунов, но форма ее более извилистая; кроме того, САЗс у приматов имеет большую протяженность, чем у грызунов, и включает изгиб. (в) Показаны слои ЗИ, куда приходят афферентные волокна. Источники главных афферентных входов обозначены справа (самый правый квадрат означает ГАМКергический вход, иннервирующий все слои, другие квадраты означают волокна из других нейротрансмиттерных систем). Латеральная (LEC) и медиальная энторинальная кора (MEC) иннервируют внешний молекулярный слой (OML) и срединный слой (MML) соответственно. Супрамамиллярный вход (Mamm), ходинергический вход, вход от мшистых клеток и от пирамидных нейронов вентрального CA3 (vCA3) иннервируют внутренний молекулярный слой (IML). ОМL и MML также получают входы от ствола мозга (включая норадренергический (NA), серотонинергический (5-HT) и холинергический (Ach) от передне-базального мозга. Хилус получает разнообразные входы, включая аксоны гранулярных клеток, ГАМКергических нейронов ЗИ, мшистых клеток, пирамидных нейронов СА3, нейромодуляторные входы от ствола мозга (такие как NA и 5-НТ, а также дофаминергический (DA)), и холинергический от переднебазального мозга. Эфференты от ЗИ в основном идут от гранулярных нейронов, проецирующихся к HIL и САЗ. Аксоны гранулярных клеток образуют, во-первых, гигантские бутоны, иннервируя "колючие шишки" (thorny excrescences) мшистых клеток и пирамидные нейроны CA3, во-вторых, малые бутоны на коллатералях, идущих из хилуса, и, в-третьих, расширения (filamentous extensions) гигантских бутонов. Малые бутоны в основном контактируют с интернейронами, но также с дистальными дендритами мшистых клеток. Подробные пояснения в тексте. ACh, ацетилхолин; F, фиссура; SGZ, субгранулярная зона. (б) и (в) Адаптировано из Scharfman, 2016 (разрешен полный доступ к статье через Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН).

Fig. 1. The organization of the dentate gyrus of rodents and primates. (a) Simplified scheme for organizing the DG. Granular cells (ΓK), semilunar granular cells (ΠπK), mossy cells (MK), interneurons (ИНТ), parvalbumin-containing interneurons (ΠB), pyramidal neurons of the CA3 field of the hippocampus (ΠK), as well as connections between them are shown: excitatory (black lines) and inhibitory (gray lines). IML, inner molecular layer; GCL, granular cell layer; HIL, hilus of the DG; CA3, field CA3 of the hippocampus. (6) The general organization of the (DG) in the coronal and horizontal planes in the rodent and primate brain. The area surrounded by the dashed box is expanded in the inset figure to show the laminar organization of the dentate gyrus, which is composed of a molecular layer (MOL), granule cell layer (GCL) and hilus (HIL). A schematic of the primate dentate gyrus shows that it is similar to that of the rodents; in addition, CA3c is larger in primates than in rodents and includes a reflected blade. (B) The DG lavers are shown, where the afferent fibers come. The sources of major afferent inputs are shown on the right (most right box indicates the GABAergic input and other boxes indicate inputs from other neurotransmitters system). GABAergic interneurons innervate all layers. The lateral entorhinal cortex (LEC) and the medial entorhinal cortex (MEC) innervate the outer molecular layer (OML) and the middle molecular layer (MML), respectively. Supramammillary (Mamm), cholinergic, mossy cell and ventral CA3 (vCA3) pyramidal cell axons innervate the inner molecular layer (IML). The OML and MML also receive inputs from the brainstem (including noradrenergic and 5-hydroxytryptamine (5-HT; also known as serotonin) inputs) and from basal forebrain cholinergic neurons. The HIL receives diverse inputs, including the axons of granule cells, dentate gyrus GABAergic neurons, mossy cells, CA3 pyramidal cells, neuromodulatory inputs from the brainstem (such as noradrenaline (NA), 5-HT and dopamine (DA)) and basal forebrain cholinergic neurons. The efferents from the dentate gyrus to other areas arise mainly from granule cells that project to the HIL and CA3. The granule cell axon, called a mossy fibre, is complex. It makes giant boutons that innervate thorny excrescences of mossy cells and pyramidal cells, and small boutons that arise from hilar collaterals and filamentous extensions from the giant boutons. The small boutons primarily contact interneurons but also form contacts on distal dendrites of mossy cells. Detailed explanations in the text. ACh, acetylcholine; F, fissure; SGZ, subgranular zone. (6) and (B) Adapted from Scharfman, 2016 (full access to the article is allowed through the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences).

слоя: молекулярный, гранулярный и полиморфный (хилус). Основными клеточными элементами ЗИ являются гранулярные нейроны; большинство их расположено в гранулярном слое, но небольшое их количество (полулунные гранулярные клетки, см. ниже) находится рядом с этим слоем (Williams et al., 2007; Larimer, Strowbridge, 2010) и в хилусе

(эктопические гранулярные клетки) (Scharfman et al., 2007); хилус граничит с другой стороны с дендритным слоем поля САЗс. Дендриты гранулярных клеток находятся в молекулярном слое ЗИ, который лишен клеточных элементов и делится на внешний, средний и внутренний подслои. За исключением самых проксимальных участков, все дендриты густо



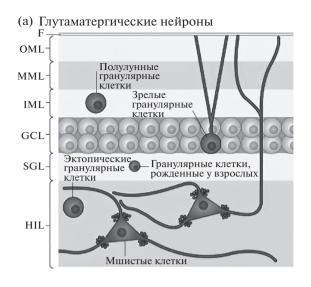
покрыты шипиками. С противоположной стороны от гранулярных нейронов отходят тонкие (0.1 мкм) немиелинизированные аксоны, так называемые мшистые волокна. Главные аксоны гранулярных нейронов проходят рядом со слоем пирамидных клеток в поле CA3, где они образуют по ходу аксона (en passant) чрезвычайно большие ("гигантские", до 4—6 мкм в поперечнике) бутоны — характерные окончания на шипиках прокси-

мальных дендритов пирамидных нейронов, имеющие сложное строение (Hamlyn, 1962; Blackstad, 1963; Freund, Buzsáki, 1996). Значительно реже мшистые волокна заканчиваются на других гранулярных клетках (Fricke, Prince, 1984) (рис. 1 (а), рис. 1 (в)).

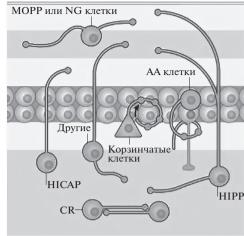
Гранулярные нейроны обычно считаются однородной популяцией относительно связей и функций. Однако особая субпопуляция гранулярных клеток в виде полулунных (semi-

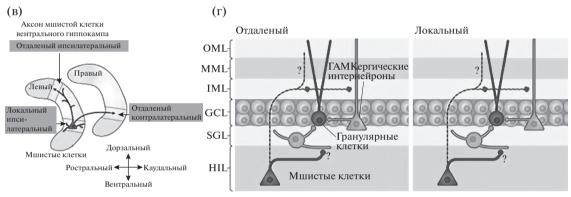
Рис. 2. Типы клеток и связей в зубчатой извилине. (а) Глутаматергические нейроны зубчатой извилины включают гранулярные и мшистые клетки. Гранулярные клетки расположены не только в гранулярном слое (GCL): есть небольшие группы во внутреннем молекулярном слое (IML) и хилусе (HIL), а предшественники гранулярных нейронов расположены в субгранулярной зоне (SGZ). Мшистые клетки имеют длинные дендриты, некоторые из них простираются в молекулярный слой (MOL: состоящий из внутреннего, среднего и внешнего молекулярного слоев (соответственно IML, MML и OML)). (б) ГАМКергические нейроны зубчатой извилины неоднородны. Их номенклатура основана на расположении тела клетки и терминального поля аксона. Например, клетки МОРР имеют тело клетки в МОС и терминали аксонов в ОМL и ММL, где расположены терминали перфорантного пути. Клетки HICAP (интернейроны с сомой в хилусе) иннервируют ІМL, где находятся комиссуральные/ассоциативные проекции от мшистых клеток. Нейроны, которые иннервируют сомы гранулярных клеток или начальные сегменты аксонов (перисоматически проецирующиеся нейроны), включают корзинчатые клетки (Basket cells), которые часто имеют сому пирамидальной формы и расположены на границе GCL и HIL, и аксо-аксональные (АА) клетки. ААклетки часто присутствуют рядом с GCL или в нем самом и иннервируют начальные сегменты аксонов гранулярных клеток. Несколько подтипов ГАМ Кергических нейронов иннервируют дендриты гранулярных клеток. Наиболее распространенными из них являются клетки в HIL, которые иннервируют OML и MML (клетки HIPP, хилусные клетки, которые проецируются в терминальную зону перфорантного пути). Показан пример нейроглиаформной клетки (NG), которая иннервирует молекулярный слой. Есть некоторые типы ГАМКергических нейронов, у которых есть аксон, иннервирующий более одного слоя (обозначен как "other"), а некоторые интернейроны иннервируют друг друга, например, хилусные клетки, экспрессирующие кальретинин (CR). (в) Организация аксонов мшистых клеток. Схематическое изображение аксона олной министой клетки вентрального гиппокампа. Рядом с сомой докальные ипсидатеральные ветви аксона мшистых клеток образуют синапсы в хилусе (HIL) и во внутреннем молекулярном слое (ІМL). Вдали от сомы отдаленные ипсилатеральные или дальние контралатеральные ветви аксона проецируются в основном в ІМС. (г) Дальняя (слева) и локальная (справа) ипсилатеральные проекции. На удаленных ипсилатеральных участках аксон в основном образует синапсы на шипиках; поскольку на интернейронах зубчатой извилины мало шипиков, вполне вероятно, что аксон мшистых клеток в IML иннервирует гранулярные клетки. Кроме того, аксон мшистой клетки простирает коллатерали во внутренний, внешний и средний части молекулярного слоя (IML, OML и MML соответственно). Неясно, создают ли синапсы терминали мшистых волокон клеток в ОМL и ММL, или на какие типы нейронов в хилусе проецируются мшистые клетки (обозначено вопросительными знаками). В ипсилатеральной ЗИ аксоны мшистых клеток образуют локальные коллатерали в HIL (особенно вблизи сомы). Там они, вероятно, контактируют с интернейронами, т.к. там находятся многочисленные дендриты интернейронов этой области и отсутствуют дендриты гранулярных клеток. Мшистые клетки также образуют локальные проекции к IML, но их не так много, как на отдаленных участках. GCL, гранулярный слой; SGZ, субгранулярная зона. Подробные пояснения в тексте. Адаптировано из Scharfman, 2016 (разрешен полный доступ к статье через Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН).

Fig. 2. The cell types and connections of the dentate gyrus (a) Glutamatergic cells of the dentate gyrus include granule cells and mossy cells. Granule cells are not only located in the granule cell layer (GCL); there are small subsets in the inner molecular layer (IML) and hilus (HIL), and precursors to granule cells are located in the subgranular zone (SGZ). Mossy cells have long dendrites, some of which extend into the molecular layer (MOL; comprised of the IML, middle molecular layer (MML) and outer molecular layer (OML)). (6) GABAergic neurons of the dentate gyrus are heterogeneous. Their nomenclature is based on the location of the cell body and the axon terminal field. For example, MOPP cells have a cell body in the MOL and terminals in the OML and MML, where the terminals of the perforant path are located. HICAP cells (interneurons with a hilar cell body) innervate the IML, where the commissural/associational projection from mossy cells is located. The neurons that innervate the granule cell somata or the axon initial segments are called perisomatic-targeting cells. Two of the most common cell types in this group are basket cells, which make basket-like endings around the granule cells and often have a pyramidal-shaped soma that is located at the border of the GCL and HIL, and axo-axonic (AA) cells. AA cells are often present near or in the GCL, and innervate granule cell axon initial segments. Several GABAergic neuron subtypes innervate granule cell dendrites. The most common of these are cells in the HIL that innervate the OML and MML (HIPP cells, hilar cells that project to the terminal zone of the perforant path). An example of a neurogliaform cell (NG) that innervates the molecular layer is shown. There are some types of GABAergic neurons that have an axon that innervates more than one layer (here labelled 'other'), and some interneurons innervate each other, such as calretinin-expressing hilar cells (CR). (B) Organization of the mossy cell axon. The axon of a single ventral mossy cell is illustrated schematically. Near the soma, the local ipsilateral branches of the mossy cell axon make synapses in the hilus (HIL) and the inner molecular layer (IML). Far from the soma, the distant ipsilateral or distant contralateral branches of the axon project primarily to the IML. (r) Distant (left) and local (right) ipsilateral circuitry. At distant ipsilateral locations, the axon primarily makes synapses on spines; because there are few spines on dentate gyrus interneurons, it is likely that the mossy cell axon in the IML innervates granule cells. In addition, the mossy cell axon extends hilar, outer molecular layer (OML) and middle molecular layer (MML) collaterals. It is not clear whether mossy cell terminals in the OML and MML make synapses, or what cell types mossy cells target in the HIL (indicated by question marks). At local ipsilateral locations, the mossy cell axons collateralize in the HIL, especially near the soma. There, they are likely to contact interneurons because of the numerous interneuron dendrites present in this region and the absence of granule cell dendrites. Mossy cells also make local projections to the IML, but these are not as numerous as those to distant sites. GCL, granule cell layer; SGZ, subgranular zone. Adapted from Scharfman, 2016.



(б) ГАМКергические нейроны





lunar) гранулярных клеток (Williams et al., 2007; Larimer, Strowbridge, 2010) (рис. 1 (a), рис. 2 (а)), обнаруживает особые свойства и связи. Эти нейроны имеют иную морфологию, чем классические гранулы: в отличие от монополярных клеток, они мультиполярны, и их дендритная ветвь более широко распространяется в молекулярном слое. Полулунные нейроны располагаются преимущественно около супрагранулярного слоя или глубже, во внутреннем молекулярном слое. У этих нейронов есть особая связь с мшистыми клетками хилуса, благодаря которой полулунные нейроны могут активировать мшистые нейроны, вводя их в особое состояние хилусное возбуждение (hilar up-states) (Williams et al., 2007; Larimer and Strowbridge, 2010). Такое состояние поддерживается за счет особого характера разрядов полулунных клеток (см. ниже) и наличия возвратных связей между этими нейронами. В отличие от типичных гранул, у полулунных нейронов аксон может отдавать коллатерали в пределах гранулярного слоя (Williams et al., 2007). Эти морфологические характеристики позволяют предполагать, что эта популяция гранулярных клеток, хотя и менее многочисленная, находится в "выгодном" положении как источник перисоматических бутонов на парвальбумин-содержащих интернейронах.

Кроме образования гигантских синапсов, еще одним характерным свойством мшистых волокон является высокое содержание в них везикулярного цинка (Cole et al., 1999). "Свободный" цинк (Zn²⁺) вместе с глутаматом содержится лишь в определенной субпопуляции везикул (Haug, 1967; Kay, 2003; Vogt et al., 2000; Qian and Noebels, 2005; Lavoie et al., 2011); по причине такой двойственной нейрохимической природы при описании этих синапсов применяется термин "глюцинергические" ("gluzinergic") (Frederickson, 1989; Frederickson, Bush, 2001). Показано, что цинк модулирует общую возбудимость сети гиппокампа, влияя на выделение глутамата; в от-

сутствие везикулярного цинка экзоцитоз пузырьков замедляется (Lavoie et al., 2011). Предполагается, что, поскольку везикулярный цинк играет важную роль в динамике выделения передатчика, он может влиять на кодирование информации в сети гиппокампа (Lavoie et al., 2011).

Миистые клетки ("mossy cells") ЗИ находятся только в хилусе ЗИ, и число их невелико: у крысы их насчитывается около 10000 (Amaral, 1978; Amaral et al., 1990, 2007; Scharfman, Myers, 2012). В отличие от гранулярных и других основных нейронов гиппокампа, они не образуют клеточного слоя, а разбросаны в хилусе, что затрудняет исследование этих клеток *in vivo*. Их характерным признаком является наличие нескольких шиповидных выростов (thorny excrescenses) на телах нейронов и на проксимальных дендритных участках (Amaral, 1978; Ribak et al., 1985; Frotscher et al., 1991) (рис. 2 (a)), благодаря которым их называют "колючими" клетками (термин "мшистый", используемый как для мшистых клеток, так и для мшистых волокон гранулярных клеток, может вызывать путаницу; тем не менее он уместен, учитывая "мшистый" вид обоих).

По данным (Amaral, 1978) дендриты мшистых клеток ограничены хилусом; однако впоследствии было обнаружено, что некоторые из мшистых клеток имеют единственную дендритную ветвь, пронизывающую молекулярный слой ЗИ (Soltesz, Mody, 1994; Scharfman, 1995b). Основными постсинаптическими мишенями аксонов мшистых клеток являются дендриты гранул (Blasco-Ibáñez, Freund, 1997). Окончания мшистых клеток у мышей могут быть визуализированы по содержанию в них кальретинина (Rovira-Esteban et al., 2020); у крыс мшистые клетки обнаруживают кальцитонин (Freund et al., 1997).

Основная организация шиповидных выростов мшистых клеток и аксональных бутонов гранул схожа в хилусе и поле СА3: гигантские бутоны находятся в оппозиции к шиповидным выростам на мшистых клетках или пирамидных нейронах, а меньшие бутоны контактируют с интернейронами (рис. 1 (а), рис. 1 (в)). Малые бутоны аксонов гранул находятся на коллатералях мшистых волокон в хилусе, где они контактируют с интернейронами хилуса и дистальными дендритами мшистых клеток. Малые бутоны также найдены на расширениях филаментов, исходящих из гигантских бутонов.

Интернейроны зубчатой извилины разнообразны; их обычно классифицируют по местоположению сом и проекций аксонов. Основная популяция интернейронов хилуса, так называемые *HIPP*-клетки, – это клетки, проецирующиеся к терминальной зоне перфорантного пути (Halasy, Somogyi, 1993; Han et al., 1993; Freund, Buzsaki, 1996) (рис. 2 (б)). Интернейроны с телами на границе хилуса или в полиморфном слое имеют восходящие дендриты и аксон; они называются НІСАРклетками, иннервирующими внутренний молекулярный слой ЗИ (Han et al., 1993; Freund, Buzsaki, 1996). Интернейроны с сомой в среднем молекулярном слое и с дендритами и аксоном во внешних двух третях молекулярного слоя (в терминальной зоне перфорантного пути) называются МОРР-клетками (Нап et al., 1993). Интернейроны ЗИ были классифицированы также в соответствии с экспрессией ими кальций-связывающих белков (таких как парвальбумин или кальбиндин (Sloviter, 1989)) или нейропептидов (включая соматостатин, нейропептид Y и холецистокинин (Houser, 2007)). Среди интернейронов парвальбумин (ПВ)-содержащие клетки принадлежат к двум популяциям быстроразряжающихся ГАМКергических клеток: корзинчатые (basket) интернейроны, которые образуют аксо-соматические контакты, и аксо-аксональные (АА) инобразующие тернейроны, синапсы аксонах гранулярных клеток (Halasy, Somogyi, 1993; Han et al., 1993; Freund, Buzsáki, 1996) (см. рис. 2 (б)). Большинство ПВ-интернейронов имеют пирамидальную форму. Хотя большинство интернейронов ЗИ проецируются локально, некоторые из них, экспрессирующие ПВ или нейропептид Ү. проецируются в более отдаленные области, такие как контралатеральная ЗИ (Goodman, Sloviter, 1992; Deller et al., 1995).

Корзинчатые ПВ-нейроны ЗИ считаются ключевыми элементами, участвующими в осуществлении функций гиппокампа как в норме, так и в патологии (Sloviter et al., 2003). Эти клетки перисоматически иннервируются аксонами, образующими возбуждающие синапсы; на их сому и апикальный дендрит поступают также тормозящие воздействия (Ribak, Seress, 1983). В работе (Rovira-Esteban et al., 2020) произведен тщательный анализ происхождения возбуждающих и тормозных сигналов на ПВ-интернейронах в гранулярном слое у мыши, на основе которого сделан вывод, что перисоматическая возбуждающая

иннервация ПВ-нейронов в гранулярном слое сильнее по сравнению с тормозной и происходит преимущественно от полулунных гранулярных клеток.

1.2. СВЯЗИ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ

1.2.1. Афферентные связи

ЗИ является основной гиппокампальной мишенью для путей, несущих сенсорную информацию множества модальностей о внешнем мире; она считается первым переключением внутригиппокампальной трисинаптической петли: ЗИ-СА3-СА1. Источники и нейрохимический характер афферентных сигналов к этой структуре представлен в суммарном виде на рис. 1 (в). Кортикальный вход в 3И — перфорантный путь ($\Pi\Pi$) — идет из слоя II энторинальной коры, которая формирует большинство глутаматергических афферентных входов во внешнем и срединном молекулярном слоях ЗИ; он несет пространственную, а также иную сенсорную информацию в эти разные слои ЗИ соответственно (Amaral, 1978; Steward, Scoville, 1976; Amaral, 1978; Amaral et al., 2007; Witter, 2007; Hunsaker et al., 2007).

Второй главный внешний афферентный путь к ЗИ образован субкортикальными структурами. Эти пути сформированы волокнами нейронов, находящихся в медиальной септальной области (МС-ДБ) (холинергических, ГАМКергических и глутаматергических), супрамамиллярном ядре (глутаматергических и ГАМКергических), медианном ядре шва (серотонинергических), голубом пятне (норадренергических) и вентральной тегментальной области (дофаминергических); еще один путь образован комиссуральной проекционной системой (Amaral, Campbell, 1986; Swanson et al., 1987; Leranth, Frotscher, 1987; Nyakas et al., 1987; Gaykema et al., 1990; Leranth, Brown et al., 2005; Colom et al., 2005; Etter, Krezel, 2014; Hashimotodani et al., 2018; Salib et al., 2019). Пути от МС-ДБ идут неодинаково к разным областям ЗИ: к дорзальной части волокна идут почти исключительно от ДБ, в то время как к вентральной — от MC и ДБ (Nyakas et al., 1987). Клетки супрамамиллярного ядра избирательно иннервируют разные нейроны ЗИ: они образуют моносинаптические связи с гранулярными клетками и ГАМКергическими интернейронами, но не с мшистыми клетками. При этом в синапсах одновременно выделяются глутамат и ГАМК (Hashimotodani et al., 2018). Таким образом, 3И получает входы как от неокортекса, так и от субкортикальных структур. Выяснение того, как 3И интегрирует эти входы, важно для понимания информационных процессов в 3И.

1.2.2. Выходные пути зубчатой извилины

ЗИ уникальна в том отношении, что она является исключительно внутренним реле гиппокампа: аксоны клеток ЗИ уходят не дальше, чем к контралатеральной его области (Raisman et al., 1965; Blackstad, et al., 1970; Amaral, 1978; Ribak et al., 1985).

Гранулярные нейроны ЗИ посредством мшистых волокон образуют синапсы как на пирамидных нейронах поля САЗ, так и на мшистых клетках хилуса, а также на ГАМ-Кергических интернейронах (Ribak et al., 1985; Frotscher et al., 1991; Soltesz et al., 1993; Wenzel et al., 1997; Buckmaster et al., 1996; Acsady et al., 1998) (puc. 1 (a), puc. 1 (B), cnpa-Количество иннервируемых одним мшистым волокном пирамидных клеток достигает 15-20 (Amaral et al., 2007). Гранулы также контактируют посредством аксонных коллатералей с таким же количеством (15–20) мшистых клеток и с ~100—150 ГАМКергических интернейронов в хилусе и поле САЗ (Acsády et al., 1998). Интересно, что гигантские бутоны могут образовывать филоподиальные расширения (filamentous extentions), благодаря которым мшистые волокна формируют в слое люцидум моносинаптический возбуждающий вход к интернейронам, находящимся в этом слое (Acsády et al. 1998) (рис. 1 (в)). Тот факт, что число синапсов мшистых волокон на ГАМКергических нейронах на порядок превышает количество синапсов на пирамидных клетках САЗ, позволяет предположить, что этот путь оказывает сильные ингибирующие эффекты.

Входом к гранулярным нейронам во внутреннем молекулярном слое являются аксоны мшистых клеток (Ribak et al., 1985; Buckmaster et al., 1996; Scharfman, Myers, 2012) (рис. 2 (г)); при этом гранулярные нейроны и мшистые клетки связаны двусторонними связями (Ribak et al., 1985; Frotscher et al., 1991; Wenzel et al., 1997). Гранулы получают также возвратные коллатерали от пирамидных клеток поля CA3 (Zimmer, 1971; Lynch et al., 1973).

Мшистые клетки образуют сложные внутренние проекции (рис. 2 (в), рис. 2 (г)). Большие проекции (известные как "дальние" или

"интраламеллярные") заканчиваются далеко от тела клетки как в ипсилатеральной, так и в контралатеральной ЗИ (Zimmer, 1971; Berger et al., 1981; Ribak et al., 1985; Frotscher et al., 1991; Buckmaster et al., 1996; Scharfman, Myers, 2012). Терминали этой отдаленной проекции образуют синапсы во внутреннем молекулярном слое; электронная микроскопия показывает, что они в первую очередь иннервируют дендритные шипики гранулярных клеток (Buckmaster et al., 1996). Аксоны мшистых клеток также отдают коллатерали в хилусе и распространяются во все слои ЗИ (Scharfman, Schwartzkroin, 1988; Buckmaster et al., 1996; Scharfman, Myers, 2012). Таким образом, мшистые клетки иннервируют все слои зубчатой извилины, как локальные, так и отдаленные ее части.

Недавно было показано, что проекции аксонов мшистых клеток в дорзальном и вентральном гиппокампе значительно различаются. Мшистые клетки в дорзальной и вентральной частях селективно метили Стезависимыми маркерами при использовании двух линий трансгенных мышей. После односторонней маркировки мшистых клеток в вентральной ЗИ плотная полоса волокон была видна во внутренней четверти молекулярного слоя и простиралась с двух сторон по всей ростро-каудальной протяженности ЗИ. Напротив, после маркировки мшистых клеток в дорзальной ЗИ проекции были распределены более диффузно: на уровне маркировки волокна присутствовали во внутреннем молекулярном слое, но они постепенно расширялись в средний молекулярный слой и, наиболее вентрально, образовывали отчетливую полосу в этом слое (Houser et al., 2021).

Необходимо отметить также, что, по недавним данным, гранулярные нейроны, мшистые клетки и локальные интернейроны в пределах ЗИ обнаруживают сложный паттерн возвратных связей, сила которых изменяется в онтогенезе (Shi et al., 2019).

1.3. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ

1.3.1. Характеристики активности различных нейронов ЗИ

В ранних работах сведения о характере активности нейронов ЗИ были крайне противоречивыми, что лишь частично зависело от точности размещения регистрирующих электродов; в основном это объяснялось тем, что

мшистые клетки и большие интернейроны, находящиеся в субгранулярном слое, генерируют высокоамплитудные спайки, которые из-за объемного распространения могут регистрироваться в гранулярном слое. Это приволило к ошибочному объединению различных по природе клеток в одну группу (см. Henze, Buzsáki, 2007). Позднее в работе (Senzai, Buzsáki, 2017), проведенной на мышах в свободном поведении, авторы, основываясь на предыдущих исследованиях (Bragin et al., 1995; Penttonen et al., 1997), разработали нейрофизиологический метод классификации нейронов, который был подтвержден ими при использовании трансгенных мышей и оптогенетического метода. Они смогли сначала отделить основные глутаматергические нейроны ЗИ от интернейронов, имеющих характерную пачечную активность. Затем, для разделения гранулярных и мшистых клеток, учитывали три основные характеристики: (1) расположение (глубина) регистрируемых клеток, определяемое по реверсии локального полевого потенциала; (2) относительная частота спайков в состояниях медленного сна и бодрствования; и (3) форма потенциала действия. Гранулярные клетки (их тела) располагались по глубине вблизи реверсии потенциала, имели возрастающую частоту разрядов в состоянии медленного сна по сравнению с бодрствованием и несимметричную острую форму потенциала действия. В отличие от них, мшистые клетки находились значительно ниже глубины реверсии потенциала, имели близкую частоту разрядов в состояниях медленного сна и бодрствования и более симметричную форму потенциала действия. Гранулярные нейроны во время бодрствования в основном имели низкую активность (редкие разряды); напротив, для мшистых клеток свойственна более высокочастотная активность (Bragin et al., 1995; Penttonen et al., 1997; GoodSmith et al., 2017; Senzai, Buzsaki 2017; Meier et al., 2020).

1.3.2. Характер межнейронных взаимодействий в зубчатой извилине и гиппокампе

Взаимодействие гранулярных нейронов и пирамидных клеток поля САЗ гиппокампа. При стимуляции гранулярных нейронов (с частотой от 0.1 до 100 Гц, пачками стимулов длительностью 1 с) и регистрации ответов одиночных нейронов в поле САЗ гиппокампа было выявлено, что у разных клеток ответы

могли существенно различаться. У большинства нейронов наблюдались ответы "стимулспайк" с постепенным вовлечением в ответ, но латентные периоды таких ответов сильно варьировали, от 4 до 35-40 мс. Характерным было наличие достаточно узкого и относительно низкого частотного оптимума (10–30 Гц), а при повторных стимуляциях – длительное сохранение потенцированного ответа (в течение 12 ч и более). После окончания стимуляции наблюдалось торможение нейронной активности различной длительности, от 300 мс до 3 с; иногда оно могло достигать 5–8 с. У 9% нейронов таких ответов не наблюдалось, но регистрировалось подавление спонтанной активности либо диффузная активация (Брагин, Виноградова, 1973; Кичигина, Брагин, 1976). Эти различия в характере ответов авторы объясняли морфологическими особенностями данной системы связей, показанными в работе (Hamlyn, 1963). Впоследствии причины таких различий ответов стали более понятными. Во-первых, в гранулярном слое, который стимулировался в упомянутых работах, находятся интернейроны (Freund, Buzsaкі, 1996), раздражение которых может быть причиной тормозных ответов у некоторых клеток САЗ, что подтвердилось данными, полученными (Acsady et al., 1998). Кроме того, хотя мшистые волокна, идущие от гранулярных нейронов, образуют прямой путь к САЗ, однако коллатерали аксонов клеток САЗ проецируются обратно к ЗИ (Scharfman, 2007) и простираются далеко в хилус (Ishizuka et al., 1990: Li et al., 1994). Эти возвратные проекции могут влиять на нейронные цепи как в ЗИ, так и в CA3 (Penttonen et al., 1997; Lisman et al., 2005), что, по-видимому, и является причиной большого разброса латентных периодов и различной длительности тормозного последействия в ответах нейронов САЗ при стимуляции гранулярного слоя. Интересно, что в работе на срезах гиппокампа показано, что основным эффектом залповых разрядов в поле САЗ является ГАМКергическое ингибирование гранулярных клеток (Scharfman, 1994). Известно, что пирамидные нейроны САЗ иннервируют мшистые клетки и интернейроны хилуса (у большинства интернейронов ЗИ есть сома или дендриты в хилусе) (Scharfman et al., 1991, 1994; Kneisler, Dinglediпе, 1995). Таким образом, при активации САЗ наиболее вероятно включение цепи: пирамидная клетка – мшистая клетка – интернейрон – гранулярная клетка; возможен также путь: пирамидная клетка — пирамидная клетка — интернейрон — гранулярная клетка (Scharfman, 1994). Примечательно, что при блокировании ГАМКергического ингибирования выявляется надежный возбуждающий путь пирамидная клетка — мшистая клетка — гранулярная клетка (Scharfman, 1994). Все эти данные могут объяснять как большой разброс латентных периодов, так и различную длительность тормозного последействия в ответах нейронов САЗ при стимуляции гранулярного слоя ЗИ в работах (Брагин, Виноградова, 1973; Кичигина, Брагин, 1976).

Влияния мшистых клеток на гранулярные нейроны. Эксперименты по выяснению характера действия мшистых клеток на гранулярные нейроны ЗИ начались в 1980-х годах с выяснения того, являются ли мшистые клетвозбуждающими ИЛИ тормозящими (Buzsáki, Eidelberg, 1981; Douglas et al., 1983). Одна из проблем в этом аспекте заключалась в том, что было сложно избирательно активировать мшистые нейроны с помощью стимулирующих электродов: аксоны и дендриты мшистых клеток пространственно близки к другим клеткам ЗИ и аксональным проекциям, которые влияют на нее. Одна из стратегий обойти эту проблему заключалась в регистрации пар моносинаптически связанных мшистых и гранулярных нейронов (Scharfтап, 1995). Этот подход показал, что моносинаптический вход мшистых клеток к гранулам генерирует ВПСП, который, однако, может быть обнаружен только в одном из двух случаев: либо при блокаде ГАМКергического торможения, либо при деполяризации постсинаптическиго гранулярного нейрона (Scharfman, 1995). Таким образом, было установлено, что мшистые клетки могут возбуждать гранулы посредством прямого воздействия (Scharfman, 1995; Larimer, Strowbridge, 2008). Исследования, проводимые на срезах гиппокампа с повреждением мшистых клеток или молекулярного слоя (Jackson, Scharfman, 1996; Wright, Jackson, 2014), представили дополнительные доказательства того, что прямое влияние мшистых клеток на гранулы является возбуждающим. Однако мшистые клетки активируют также интернейроны ЗИ, которые в свою очередь тормозят гранулы (Scharfman, 1995; Larimer, Strowbridge, 2008). При этом мшистые клетки могут активировать ГАМКергические интернейроны широко и синхронно и, следовательно, увеличивать ГАМКергическое ингибирование гранул. Тем

не менее убедительные эксперименты на бодрствующих животных, доказывающие это, долгое время отсутствовали. В связи с этим становилось все более важным найти способ селективного тестирования мшистых клеток; важным лостижением в этом аспекте стало создание линии трансгенных мышей, которые относительно специфично экспрессируют Сте-рекомбиназу (Сте) в мшистых клетках. В этой линии был использован промотор Crlr для управления экспрессией Cre (Jinde et al., 2012). Этих мышей скрещивали с мышами, несущими рецептор дифтерийного токсина, который вводили взрослым мышам для уничтожения мшистых клеток; через неделю после инъекции токсина мшистые клетки погибали. У этих животных гранулярные нейроны демонстрировали гипервозбудимость в ответ на стимуляцию перфорантного пути. Это подтвердило гипотезу о том, что в норме ингибирование гранулярных нейронов является основной функциональной ролью мшистых клеток (Jinde et al., 2012). Такое утверждение согласуется также с предположением об опосредованной мшистыми клетками фазовой синхронизации гранул (Soltesz et al., 1993; Henze, Buzsáki, 2007).

Проблема о характере действия мшистых клеток на гранулярные нейроны отчасти также решалась при избирательной активации мшистых клеток с помощью оптогенетики в опытах *ex vivo*, проведенных на срезах гиппокампа (Hsu et al., 2016). Результаты показали, что *in vivo* ингибирующее действие мшистых клеток может быть сильнее их возбуждающих эффектов.

При хилусном возбуждении (hilar up-states) (Williams et al., 2007; Larimer and Strowbridge, 2010) полулунные гранулярные клетки, специфически иннервирующие ПВ-содержащие интернейроны, выполняют критическую роль в управлении активностью нейронных ансамблей в ЗИ, наряду с мшистыми клетками (Larimer, Strowbridge, 2010). Во время состояния хилусного возбуждения полулунные гранулярные нейроны могут эффективно и одновременно вызывать разряды мшистых клеток и ПВ-баскетных интернейронов, приводя тем самым к параллельному возбуждению дендритов гранулярных клеток во внутреннем молекулярном слое и ингибированию перисоматической области гранулярных нейронов. Эти данные находят подтверждение в недавних результатах, полученных *in vivo*, показывающих, что разряды гранулярных клеток довольно редки в разных условиях, тогда как мшистые клетки обычно сильно активированы (GoodSmith et al., 2017; Senzai, Buzsáki, 2017). Предполагается, что полулунные гранулярные нейроны, хотя они немногочисленны, являются ключевыми сетевыми элементами в функции ЗИ, поскольку эти нейроны могут одновременно управлять разрядами мшистых клеток хилуса и ПВ-интернейронов; в течение этого временного окна сильное энторинальное возбуждающее воздействие может вызвать активацию только у ограниченной популяции гранулярных клеток, преодолевая их перисоматическое торможение с помощью возбуждения мшистых клеток.

1.3.3. Нейрогенез в зубчатой извилине

Одним из важнейших свойств ЗИ является ее способность к нейрогенезу в течение всей жизни (van Praag et al., 2002). Предполагается, что нейрогенез в ЗИ у взрослых особей — это непрерывный процесс, который поддерживает функционирование гиппокампа у многих видов млекопитающих, в том числе у человека (Eriksson et al., 1998; Spalding et al., 2013). Он заключается в генерации новых функциональных нейронов из нервных стволовых клеток посредством амплификации промежуточных предшественников и нейробластов, а также интеграции этих новых нейронов в существующие нервные цепи. Нейрогенез в ЗИ у взрослых обеспечивает значительную степень структурной и функциональной пластичности в трисинаптической цепи гиппокампа ЗИ—СА3—СА1. Взрослые нейральные стволовые клетки (радиальные глиальные клетки) присутствуют в субгранулярной зоне ЗИ.

Доказательства нейрогенеза были впервые получены у грызунов (Altman, 1962, 1963); впоследствии это было подтверждено у людей и низших приматов (Kuhn et al., 1996; Kempermann et al., 1997; Seki, Arai, 1998; Roy et al., 2000; Knoth et al., 2010; Mathews et al., 2017). Значительный прогресс в понимании нейрогенеза у взрослых был достигнут на моделях грызунов благодаря возможности использования новых технологий, включая создание трансгенных мышей.

Нейрогенез у взрослых начинается с деления нейральных предшественников в субгранулярной зоне ЗИ. Предшественники мигрируют в гранулярный слой, обычно оставаясь в

его внутренней трети (Esposito, 2005). Многие из этих новорожденных нейронов не доживают до зрелости. Существуют по крайней мере две важные критические точки для их выживания: первая — в течение первых нескольких дней после рождения, а вторая — примерно через три недели (Ming, Song, 2011).

Различные формы активации окружающей среды стимулируют покоящиеся радиальные глиальные клетки и способствуют их пролиферации. Активные радиальные глиальные клетки самообновляются, а также генерируют ряд промежуточных нейральных предшественников, которые впоследствии дифференцируются в нейробласты и, наконец, дают начало гранулярным нейронам ЗИ, а также, в меньшей степени, астроцитам. пролиферацию, Эти процессы, включая дифференцировку, миграцию, распространение нейритов и синаптическую интеграцию, регулируются рядом сигналов из локальных нейронных цепей, в частности, глутаматергическими и ГАМКергическими входами (Ge et al., 2007; Bergami, et al., 2015; Alvarez et al., 2016). Глутаматергические входы через NMDAрецепторы имеют решающее значение для выживания незрелых нейронов (Tashiro et al., 2006); выжившие нейроны функционально интегрируются в существующие цепи в течение одного месяца (Jessberger, Kempermann, 2003). Осцилляторная активность в гиппокампе может регулировать интеграцию молодых нейронов ЗИ в нейронные сети гиппокампа посредством облегчения передачи ГАМК-сигналов. Важно отметить, что обогащение окружающей среды оказывает существенное влияние на выживание и интеграцию новых гранулярных клеток у взрослых, хотя оно ограничивается первыми тремя неделями после рождения нейронов (Tashiro et al., 2007). В частности, обогащенная среда стимулирует ГАМКергические входы от парвальбумин-положительных интернейронов, способствуя интеграции и созреванию молодых нейронов ЗИ (Alvarez et al., 2016). В то же время стресс и старение уменьшают нейрогенез в ЗИ у взрослых посредством передачи сигналов от коры надпочечников, продуцирующих стероидные гормоны (Kuhn et al., 1996; Gould et al., 1997; Snyder et al., 2011).

Первичный вход к незрелым гранулам обеспечивает окружающая ГАМК (Ge et al., 2006), после чего в течение первых двух недель клеточной жизни развиваются синапти-

ческие связи от локальных тормозных интернейронов (Esposito et al., 2005; Deshpande, 2013). По мере развития незрелых гранул они посылают аксоны для контактов с нейронами поля CA3 (Faulkner et al., 2008; Toni et al., 2008); функциональные связи с CA3 могут наблюдаться через четыре—шесть недель (Restivo, 2015). Созревающие гранулы также образуют дендриты в молекулярном слое для получения входа от энторинальной коры через перфорантный путь (Esposito et al., 2005; Deshpande, 2013). Правильная интеграция новых гранул зависит от активности существующих в ЗИ нейронных цепей в период созревания.

В течение периода времени от четырех до шести недель после рождения новые гранулы электрофизиологически отличаются от своих зрелых собратьев. В исследованиях на переживающих срезах незрелые гранулы (в возрасте 40 дней) реагируют на более широкий диапазон входных сигналов (Marin-Burgin et al., 2012) и демонстрируют повышенную возбудимость и пластичность, которая отличает их от менее пластичной и относительно низковозбудимой популяции зрелых гранул (в возрасте 60 дней) (Espósito et al., 2005; Ge et al., 2007; Schmidt-Hieber et al., 2004; Mongiat et al., 2009). Вероятно, это обеспечено тем, что незрелые гранулы получают меньшее синаптическое торможение по сравнению со зрелыми гранулярными нейронами (Dieni et al., 2015). Это физиологическое состояние вновь рожденных клеток, отличное от обычных гранул, предполагает, что незрелые гранулы играют уникальную роль в сети ЗИ: по-видимому, они снижают возбудимость соседних зрелых гранулярных нейронов. Используя потенциал-зависимые красители, (Ikrar et al., 2013) обнаружили, что устранение нейрогенеза приводит к более широкому распространению деполяризации после стимуляции. В то же время усиление нейрогенеза (за счет удаления проапоптотического гена Вах) приводит к уменьшению плотности шипиков и снижению ВПСП в зрелых гранулах; напротив, подавление (нокдаун) нейрогенеза усиливает ВПСП в зрелых клетках (Adlaf et al., 2017). Эти результаты предполагают, что некоторые существующие синаптические контакты могут перераспределяться от зрелых к незрелым нейронам, поскольку последние интегрируются в нейронную сеть ЗИ. Общее время достижения зрелого морфологического и электрофизиологического фенотипа вновь рожденных гранул у грызунов составляет приблизительно восемь недель.

Включение новых клеток в нейронную сеть гиппокампа – замечательный пример пластичности. Сохранение у млекопитающих такого энергозатратного процесса генерации и отбраковки новых нейронов предполагает, что вновь рожденные гранулы должны иметь некоторые важные функции, в частности, в обучении и памяти, выполнение которых невозможно лишь с помощью гранулярных клеток, рожденных в процессе развития. Существуют данные о том, что незрелые гранулярные клетки включаются преимущественно в нейронные цепи, поддерживающие пространственную память (Kee et al., 2007); при этом изменения в генерации незрелых гранулярных клеток коррелируют с силой ДП в зубчатой извилине (Park et al., 2015). Известно также, что подавление нейрогенеза нарушает обратное обучение (reversal learning) в водном лабиринте Морриса (Garthe et al., 2009), исполнение задачи активного избегания (Burghardt et al., 2012; Park et al., 2015) и распознавание местоположения на основе сенсорных экранов (Swan et al., 2014). В то же время усиление нейрогенеза может улучшать способность распознавать местоположение в задаче с сенсорным экраном (Creer et al... 2010) или в аналогичных задачах с использованием подкрепления в виде удара слабым электрическим током (выработка условнорефлекторного страха) (Sahay et al., 2011). Сообщалось также, что, хотя усиление нейрогенеза при возрастании подвижности (бега) приводило к менее устойчивой памяти о местоположении платформы в водном лабиринте Морриса, тем не менее бег увеличивал скорость обратного обучения (Epp et al., 2016).

Недавно было высказано предположение, что нейрогенез у взрослых может играть роль не только в приобретении новой информации, но и в ее забывании (Akers et al., 2014). Результаты, полученные в приведенной работе, предполагают, что высокие темпы нейрогенеза в раннем постнатальном периоде способствуют детской амнезии, а усиление нейрогенеза у взрослых может способствовать забыванию. Однако почему тогда у большинства млекопитающих сохраняется нейрогенез, если он способствует забыванию? Не объясняется ли это тем, что объем памяти ограничен, и в связи с этим есть необходимость дестабилизации и удаления некоторых старых следов памяти для включения новых

воспоминаний в специфическую сеть? В настоящее время гипотеза о том, что нейрогенез взрослых способствует забыванию, является спорной: в этой области нет единого мнения о том, является ли забывание отдельным процессом, принципиально отличающимся от пластичности.

1.3.5. Синаптическая пластичность в зубчатой извилине

Именно в ЗИ впервые было обнаружено такое замечательное свойство нейронных связей, как долговременная потенциация $(\Pi\Pi)$, определяемая как длительное повышение эффективности синаптической передачи. В 1966 г. в экспериментах на кроликах было обнаружено, что высокочастотная стимуляция перфорантного пути (ПП) вызывала увеличение первоначального ответа гранулярных клеток ЗИ на одиночные стимулы, наносимые на этот путь с исходными параметрами (Lomo, 1966). В 1973 г. это явление было более детально описано Блиссом и Ломо (Bliss, Lomo, 1973). Практически одновременно с этим открытием наши соотечественники обнаружили ДП в поле САЗ гиппокампа кролика при раздражении гранулярного слоя ЗИ, являющейся первым звеном кортикального входа в гиппокамп в его трисинаптической цепи (Брагин, 1973; Брагин, Виноградова, 1973). Достигнутый уровень потенциации мог сохраняться до 12 ч и более (несколько дней).

Позднее в экспериментах Брагина и Виноградовой было неожиданно выявлено, что стимуляция ПП или мшистых волокон приводила не только к развитию ДП, но и к параллельному подавлению реакций нейронов гиппокампа на сенсорные стимулы (Виноградова, 1975; Брагин и др., 1976). При этом была выявлена отрицательная корреляция между степенью ДП и уровнем реактивности на сенсорные раздражители. В то же время за пределами потенцированного сегмента гиппокампа сенсорные реакции нейронов были вполне нормальными (Брагин и др., 1976). Таким образом, потенцирование синапсов имитировало эффект привыкания, как если бы первоначально новые сенсорные стимулы стали знакомыми и не включали внимание. Авторы рассматривали это явление как дополнительный механизм селективной обработки информации и защиту от интерферирующих сигналов.

Интересно, что ДП в системе "гранулярные нейроны-пирамидные клетки САЗ" посредством мшистых волокон не зависит от ионотропных глутаматных активации NMDA-рецепторов (Grover, Teyler, 1990), хотя эти рецепторы участвуют в кратковременной пластичности синапсов в данной системе связи (Lituma et al., 2021). В то же время в других отделах гиппокампа NMDA-рецепторы участвуют в осуществлении ДП (Buonomano, 1999; Honoré et al., 2021). Это подтверждает мнение, что активация NMDA-рецепторов может быть критична для индукции многих форм ДП, но не необходима для всех ее форм (Lynch, 2004). Относительно участия метаботропных глутаматных mGluR1-рецепторов для осуществления ДП с участием мшистых волокон мнения расходятся. У мутантных мышей, лишенных mGluR1, одна группа исследователей сообщала, что ДП отсутствовала (Conquet et al., 1994), но это не было подтверждено результатами, полученными второй группой авторов (Hsia et al., 1995; Martin, Morris, 1997).

Вход гранулярных нейронов к мшистым клеткам обнаруживает ДП с характеристиками, сходными с таковыми в системе связи "гранулярные нейроны-пирамидные клетки CA3" (Lysetskiy et al., 2005). Однако вопрос о том, существует ли ДП в синапсах, образуемых мшистыми клетками на гранулярных нейронах (т.е. в системе связи в обратном направлении), имеются разногласия. Одно исследование *in vivo* показало ДП полевых потенциалов, зарегистрированных во внутреннем молекулярном слое (т.е. вблизи гранулярных клеток) после высокочастотной стимуляции хилуса (Hetherington et al., 1994). Но другое исследование, тоже *in vivo*, не обнаружило ДП в синапсах "мшистые клетки - гранулярные нейроны" (Kleschevnikov, Routtenberg, 2003).

До настоящего времени продолжается изучение ДП в синапсах "ПП—гранулярные нейроны", начатое Блиссом и Ломо (Lomo, 1966; Bliss, Lomo, 1973; Bliss, Collingridge, 1993), которые частично проясняют некоторые упомянутые выше вопросы. Обнаружено, в частности, что стимуляция ПП вызывает ДП не только в синапсах, образуемых этим входом на гранулярных клетках, но и гетеросинаптическую ДП ответа, вызываемого во внутреннем молекулярном слое, указывая, что вход мшистых клеток к гранулярным нейронам может быть усилен (Kleschevnikov, Routtenberg, 2003). Другое исследование *in vivo* показало,

что ДП в синапсах "ПП-гранулярные нейроны" ведет к ДП в синапсах "контралатеральные мшистые клетки-гранулярные клетки" (Alvarez-Salvado et al., 2014). Это исследование показало, что ДП в синапсах "ПП-гранулярные нейроны" индуцирует пластичность "нижележащих" мшистых клеток и, таким образом, оказывается пермиссивной для ДП в синапсах "мшистые клетки-гранулярные нейроны". Было высказано предположение, что входы мшистых клеток и перфорантного пути к гранулярным нейронам кооперативны (Namgung et al., 1997; Kleschevnikov, Routtenberg, 2003). Более поздние исследования подтвердили, что мшистые клетки могут способствовать или даже быть необходимыми для ДП в синапсах "ПП-гранулярные клетки". Так, имиджинг потенциалов в срезах гиппокампа показал, что цепь "гранулярный нейрон-мшистая клетка-гранулярный нейрон" необходима для ДП в синапсах "ПП-гранулярная клетка" (Wright, Jackson, 2014). Кроме того, ранее было выявлено, что экспрессия белка GAP43 (нейромодулина) была увеличена в мшистых клетках в ответ на высокочастотную стимуляцию ПП, что могло поддерживать устойчивость ДП (Namgung et al., 1997). Таким образом, подтверждается предположение о кооперативности входов мшистых клеток и перфорантного пути к гранулярным нейронам (Namgung et al., 1997; Kleschevnikov, Routtenberg, 2003).

Интересно, что нейротрофический фактор головного мозга (НТФ) при его внутригиппокампальном введении приводит к усилению синаптического ответа в ЗИ (Messaoudi et al., 1998). Более того, ДП может быть вызвана повышением уровня НТФ, подобно тому, как она индуцируется тетанической стимуляцией $\Pi\Pi$; при этом НТ Φ -вызванная Д Π , как и при стимуляции ПП, обеспечивается активацией NMDA-рецепторов и обнаруживает зависимость от ERK и CREB (Messaoudi et al., 2002). Параллельно с индукцией ДП в ЗИ было выявлено увеличение мРНК и белка НТФ после обучения в тесте пассивного избегания. Было также показано, что поведение в водном лабиринте нарушалось у крыс, которым интрацеребровентрикулярно вводили антитела против НТФ (Mu et al., 1999). Более того, подавление экспрессии НТФ в ЗИ нарушало обучение в парадигме пассивного избегания (Nosten-Bertrand et al., 1996).

Интересно, что ДП в ЗИ облегчается, как показано, пространственным обучением

(Kemp, Manahan-Vaughan, 2008a, 2008b), a также стимуляцией голубого пятна (locus coeruleus) (Hansen и Manahan-Vaughan, 2014). Обнаружено также, что голубое пятно активируется во время обучения, приводящего к накоплению нового опыта (Sara et al., 1994; Kitchigina et al., 1997). Таким образом, когда оно активировано, происходит активация β-адренорецепторов в ЗИ, что способствует кодированию нового опыта с помощью синаптической пластичности, что было подтверждено впоследствии (Gelinas and Nguyen, 2005; Kemp, Manahan-Vaughan, 2008a, 2008b; Hagena, Manahan-Vaughan, 2012; Goh et al., 2013). Позже было показано, что нейроны голубого пятна, экспрессирующие тирозин-гидроксилазу, могут опосредовать кодирование нового опыта и улучшение памяти в результате совместного высвобождения норадреналина и дофамина в гиппокампе (Takeuchi et al., 2016).

Дендритные шипики гранулярных клеток 3И - 9то основные мишени, куда поток информации из неокортекса поступает к гиппокампу. Синаптическая пластичность может быстро влиять на способность синапсов хранить информацию; показано, что в срединном молекулярном слое 3И через 30 мин после индукции ДП *in vivo* заметно увеличилось количество как малых, так и больших шипиков, что могло быть временным явлением (Bromer, 2018).

Кроме ДП, другая форма синаптической пластичности была выявлена в ЗИ, а именно долговременная депрессия (ДД), вызываемая в основном низкочастотной $(1-2 \Gamma_{II})$ стимуляцией медиального ПП в течение 5–15 мин. Эта форма пластичности определяется как длительное (от часов до недель) снижение эффективности синаптической передачи (Sahay et al., 2007). В зубчатой извилине ДП (Bliss, Gardner-Medwin, 1973; Douglas and Goddard, 1975) и ДД (Levy and Steward, 1979; Doyère et al., 1997; Abraham et al., 2001) могут одновременно индуцироваться в соседних синаптических путях, через медиальный и латеральный ПП. При изучении *in vivo* ДП и сопутствующая ДД в ЗИ могут сохраняться в течение многих месяцев (Abraham et al., 1994, 2002). ДД, так же, как и ДП, присутствующие в синапсах ЗИ, участвуют в когнитивных процессах, таких как обучение и память.

При использовании стимуляции ЗИ при обучении был выявлен низкий порог внутренней пластичности (Lopez-Rojas et al., 2016). Применение трехмерной электронной

микроскопии выявило заметное расширение динамического диапазона размеров синапсов и снижение коэффициента вариации после индукции ДП в зубчатой извилине. Эти изменения приводили к значительному увеличению емкости хранения информации, которая, тем не менее, была значительно ниже емкости синапсов СА1 даже в контроле.

Поскольку ЗИ свойствен нейрогенез, в ней обнаружена синаптическая пластичность, на которую влияет относительный нейрональный возраст (Saxe et al., 2006; Snyder et al., 2001). В опытах ex vivo, на срезах гиппокампа, незрелые гранулярные нейроны имеют более низкий порог пластичности, чем зрелые гранулы (Ratzliff et al., 2002; Toni et al., 2002). Изменения в генерации незрелых гранулярных клеток коррелируют с силой ДП в зубчатой извилине (Park et al., 2015). Имеет место общее представление о существовании положительной корреляции между нейрогенезом и силой синаптической пластичности у взрослых (Khuu et al., 2019).

1.4. РОЛЬ ЗИ В КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЯХ

Предполагается, что ЗИ участвует во многих когнитивных функциях, включая детекцию новизны (Vinogradova, 2001; Hunsaker et al., 2008), разделение и завершение паттернов (pattern separation and pattern completion) (Rolls, 2016), пространственную рабочую память (Sasaki et al., 2018), кодирование информации (Treves, Rolls, 1994; Rolls, 2018) и консолидацию памяти (Nakashiba et al., 2008; Kitamura et al., 2014; Park et al., 2016; Sasaki et al., 2018).

Участие ЗИ в способности гиппокампа определять, что является знакомым для мозга, а что является новым в окружающей среде (Vinogradova, 2001; Hunsaker et al., 2008; Aggleton et al., 2013), осуществляется благодаря тому, что ЗИ получает афференты как от стволовых структур (несущих "сырые" сигналы об окружающей среде), так и от неокортекса (передающего хранящуюся в памяти обработанную информацию). В этом процессе гиппокамп выполняет компараторную функцию (Виноградова, Дудаева, 1972; Vinogradova, 2001).

Выявление роли ЗИ в ментальных процессах основано, в частности, на результатах экспериментов с оптогенетической активацией специфичных для памяти нейронных ансамблей, или "энграмм", в ЗИ, которая может вызывать искусственное воспроизведение памяти у мышей (Liu et al., 2012) и создавать мнемонические ассоциации между отдельными событиями (Ramirez et al., 2013). Данные об активности ЗИ во время распознавания и планирования на основе памяти (Gilbert et al., 2001; van Dijk, Fenton, 2018) и опосредованного гранулярными нейронами торможения в CA3 (Ruediger et al., 2011; Guo et al., 2018) позволяют предполагать, что активность нейронов ЗИ повышает точность во время воспроизведения памяти.

Участие ЗИ в кодировании информации и консолидации памяти. Основная гипотеза относительно роли гранулярных нейронов в кодировании информации заключается в том, что они вовлекают уникальные ансамбли пирамидных клеток САЗ во время кодирования сигналов в системе памяти, которые затем становятся ассоциированными с энторинальным входным паттерном, представляющим новую информацию (Treves, Rolls, 1994). Поскольку синаптическая пластичность постоянно усиливает внутренние и внешние связи этих клеточных ансамблей, ПП-входы могут реактивировать их, способствуя воспроизведению ассоциированной памяти без необходимости активации входов через мшистые волокна (Rolls, 2018).

Предполагается, что входы от гранулярных клеток к САЗ могут потребоваться для ранней консолидации памяти. Считают, что в поддержании памяти во время ее консолидации ключевую роль играет кратковременное увеличение двух входов к пирамидным нейронам СА3: входа от энторинальной коры (посредством ПП) и от гранулярных клеток (через мшистые волокна) (Park et al., 2016; Sasaki et al., 2018). Долгое время считалось, что информация проходит через гиппокамп однонаправленно по трисинаптической петле ЗИ-САЗ-СА1; однако позже теоретические (Treves, Rolls, 1994) и экспериментальные данные (McNaughton, Barnes, 1989; Kitamura et al., 2014, 2015) изменили эту точку зрения. Во-первых, индивидуальные пирамидные клетки САЗ получают входные данные от тысяч энторинальных и других пирамидных нейронов САЗ, но только от ~50 гранулярных клеток (Amaral, Ishizuka, 1990), и многие из этих клеток "молчат" во время исследовательского поведения (Chawla et al., 2005; Hainmueller, Bartos, 2018). Вследствие этого, хотя образуемые мшистыми волокнами одиночные синапсы эффективнее, чем ПП- или

рекуррентно-коллатеральные входы, только залповая активность гранулярных клеток способна рекрутировать пирамидные нейроны САЗ, тогда как низкочастотное возбуждение в первую очередь активирует прямое ингибирование (Henze et al., 2002; Mori et al., 2004; Zucca et al., 2017). Следовательно, существуют ситуации, когда правильное сохранение и поиск в памяти могут быть достигнуты только на основе цикла ПП—СА1 или ПП—СА3—СА1 (Nakashiba et al., 2008; Kitamura et al., 2014).

Большинство авторов из своих наблюдений делает вывод, что активность гранулярных нейронов может быть необходимой во время начального кодирования и ранней консолидации памяти в гиппокампе, но необязательна для ее воспроизведения (Lee, Kesner, 2004; Lassalle et al., 2000; Kheirbek et al., 2013; Denny et al., 2014; Madroñal et al., 2016; Park et al., 2016).

Наибольшее внимание в исследованиях когнитивной роли зубчатой извилины уделяется ее основным функциям: "разделению паттернов" (pattern separation) и "завершению паттернов" (pattern completion). Под разделением паттернов подразумевается способность сети ЗИ принимать паттерн афферентных входов от неокортекса и "разделять" его так, чтобы выходы были менее похожи, чем входы (Marr, 1971; McNaughton, Morris, 1987; Rolls, 2006, 2016; Kesner, 2007; Myers, Scharfman, 2011; Yassa, Stark, 2011; Jung et al., 2013). Например, если два паттерна активности, поступающие в ЗИ, перекрываются на 50%, а активность пирамидных клеток САЗ после воздействия этих двух паттернов перекрывается только на 20%, можно сделать вывод, что произошло разделение паттернов. Обычно гранулярные клетки ЗИ имеют удивительно низкую частоту разрядов, и уменьшение перекрытия, как полагают, частично достигается за счет разреженного кодирования в ЗИ, где низки уровни активности, что известно из электрофизиологических и иммуногистохимических данных (Chawla et al., 2005; Leutgeb et al., 2007; Jung et al., 2013; Deng et al., 2013). Эта разреженность обеспечивает способность распознавать и усиливать небольшие различия во входных сигналах, что позволяет избежать интерференции. Перекрывающиеся паттерны из кортикальных входов могут быть рассредоточены по большому количеству гранул в ЗИ с низкой активностью, которые, в свою очередь, образуют немногие, но эффективные синапсы на пирамидных клетках CA3 (McNaughton, Morris, 1987). С помощью ЗИ субъекты могут различать похожие воспоминания, потому что редкая связь между гранулами и пирамидными клетками САЗ гарантирует, что никакие две пирамидные клетки не получают входных данных от одних и тех же гранулярных нейронов (McHugh et al., 2007; Leutgeb et al., 2007). Эта предполагаемая функция поддерживается сетью ЗИ, которая состоит из входов от энторинальных нейронов (слоя II), локальных взаимодействий между гранулярными клетками, мшистыми клетками и интернейронами, и выходов к пирамидным клеткам СА3. Т.к. количество гранулярных клеток (один миллион в каждом полушарии крысы) в пять раз больше, чем входных нейронов из энторинальной коры, и они не общаются друг с другом напрямую (Amaral, 1978), разветвленная связь в энторинально-гранулярной клеточной системе может сегрегировать даже незначительные, но важные различия, присутствующие во входных паттернах (McNaughton, Morris, 1987; McNaughton, Nadel, 1990). В частности, мшистые клетки получают ограниченное, но сильное сходящееся возбуждение от 40 до 100 гранулярных клеток и возвращают билатеральное, широко распространенное возбуждение в гранулы (Buckmaster et al., 1992, 1996).

Было высказано предположение, что разделение паттернов в ЗИ важно для хранения памяти в области САЗ, поскольку оно позволяет сохранять аналогичную накопленную опытом информацию в различных подмножествах пирамидных клеток САЗ, облегчая, таким образом, точное извлечение памяти (Yassa, Stark, 2011). Эта теория предполагает, что афферентные входные паттерны, которые подвержены разделению, поступают в ЗИ через ПП. Однако основной, не менее важный, глутаматергический вход к гранулярным клеткам обеспечивают мшистые клетки; это дает основание предполагать, что они могут посылать входные паттерны гранулярным клеткам в дополнение к перфорантному пути или вместо него (Scharfman, 2016). На поведенческом уровне предполагаемое проявление разделения паттернов — это улучшение различения очень похожих событий или окружающих условий.

Завершение паттернов (*pattern copmpletion*) соотносят с извлечением из сохраненной памяти, когда предъявляется часть (фрагмент)

исходного входного сигнала, подаваемого при его запоминании (McNaughton, Morris, 1987; Hunsaker et al., 2008; Nakashiba et al., 2012). Разделение паттернов и завершение паттернов часто обсуждаются, когда речь идет о ЗИ и САЗ соответственно, и их связи посредством мшистых волокон. В срезах гиппокампа основным эффектом активации САЗ является ГАМКергическое ингибирование гранулярных клеток (Scharfman, 1994). Однако достаточно длительная задержка между потенциалом действия пирамидных клеток и началом торможения гранулярных клеток (10-20 мс) предполагает, что простой путь: "пирамидная клетка-интернейронгранулярная клетка" - неактивен; вместо этого путь: "пирамидная клетка-мшистая клетка-интернейрон-гранулярная клетка" или путь: "пирамидная клетка-пирамидная клетка-интернейрон-гранулярная клетка" по-видимому, более вероятны (Scharfman, 1994а). Примечательно, что надежный дисинаптический путь возбуждения: "пирамидная клетка-мшистая клетка-гранулярная клетка" – выявляется, когда ГАМКергическое ингибирование блокируется (Scharfman, 1994).

Обратное проецирование от САЗ к ЗИ может влиять на сети в ЗИ и САЗ (Penttonen et al., 1997; Lisman et al., 2005), и существование этого пути может играть значительную роль в обработке информации. Действительно, использование компьютерного моделирования показало, что эта обратная проекция играет решающую роль в способности вычислительной модели выполнять моделируемое разделение и завершение паттернов (Myers, Scharfman, 2011).

Роль нейронов, вновь рожденных у взрослых, в процессах "разделения поведенческих паттернов" была продемонстрирована путем подавления нейрогенеза и оценки способности различать похожие контексты при обусловливании страхом (Tronel et al., 2012; Nakashiba et al., 2012; Danielson et al., 2016), B частности, близлежащие местоположения в радиальном лабиринте (Clelland et al., 2009) и "объект-местоположение" (Bekinschtein et al., 2014). Вновь рожденные нейроны наиболее наглядно влияют на успешность при выполнении задач, когда представляется новая или противоречивая информация, то есть условия, при которых, как ожидается, в ЗИ будут направляться перекрывающиеся паттерны сенсорной информации и в ней будет происходить разделение паттернов. Действительно, подавление нейрогенеза нарушает обратное обучение в водном лабиринте Морриса (Garthe et al., 2009), выполнение задачи активного избегания (Burghardt et al., 2012; Park et al., 2015) и распознавание местоположения на основе сенсорных экранов (Swan et al., 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные исследования зубчатой извилины свидетельствуют о ее важной роли в функционировании гиппокампа. ЗИ, являясь его внутренним реле, необходима для осуществления таких когнитивных функций, как распознавание новизны, кодирование информации и консолидация памяти, в которых гиппокамп играет ключевую роль. Это обеспечивается чрезвычайной синаптической пластичностью связей, а именно пластическими изменениями в синапсах, образуемых аксонами перфорантного пути на гранулярных нейронах, и в синапсах, образуемых аксонами гранулярных клеток на мшистых клетках и на нейронах поля САЗ гиппокампа. Однако относительно наличия длительной потенциации в синапсах, образуемых мшистыми клетками на гранулярных нейронах, существуют противоречивые сообщения. Кроме этого, количественные данные о входах и выходах мшистых клеток неполны как для грызунов, так и, особенно, для приматов. Окончательно не выяснены функции мшистых клеток. Имеются разногласия относительно специфической роли происходящего в ЗИ нейрогенеза для когнитивных функций у взрослых млекопитающих и человека. Пока еще существует определенный разрыв между исследованиями нейронной сети зубчатой извилины и изучением зависимого от ЗИ поведения, поэтому главной целью в будущем относительно функций ЗИ, как предполагается, будет заполнение этого разрыва.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом РНФ № 20-65-46035.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Брагин А.Г. Характер ответов пирамид поля САЗ гиппокампа на электрическую стимуляцию зубчатой фасции. Лимбическая система моз-

- га. Под ред А.Н. Черкашина и К.Н Культас, Пущино, 1973, стр. 141—160.
- Брагин А.Г., Виноградова О.С. Явление хронической потенциации в кортикальном афферентном входе пирамид поля САЗ гиппокампа. Физиологические механизмы памяти. Пущино-на-Оке: Изд-во НЦБИ Пущино. 1973. С. 8—24.
- Брагин А.Г., Виноградова О.С., Емельянов В.В. Пространственная организация нейронов поля САЗ гиппокампа на электрическую стимуляцию зубчатой фасции. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 1976. 26(3), 605—611.
- *Виноградова О.С.* Гиппокамп и память. Москва, Наука, 1975.
- *Виноградова О.С., Дудаева К.И.* О компараторной функции гиппокампа. Доклады АН СССР. 1972. 202(1), 241—244.
- Кичигина В.Ф., Брагин А.Г. Функциональные характеристики основных внутренних систем связей гиппокампа. Нейрофизиология 1976. 6(3): 259—266.
- Abraham W.C., Christie B.R., Logan B., Lawlor P., Dragunow M. Immediate early gene expression associated with the persistence of heterosynaptic long-term depression in the hippocampus. Proc. Natl. Acad Sci. USA. 1994. 91: 10049–10053.
- Abraham W.C., Logan B., Greenwood J.M., Dragunow M. Induction and experience-dependent consolidation of stable long-term potentiation lasting months in the hippocampus. J. Neurosci. 2002. 22: 9626–9634.
- Abraham W.C., Mason-Parker S.E., Bear M.F., Webb S., Tate W.P. Heterosynaptic metaplasticity in the hippocampus in vivo: A BCM-like modifiable threshold for LTP. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001. 98: 10924–10929.
- Acsady L., Kamondi A., Sik A., Freund T., Buzsaki G. GABAergic cells are the major postsynaptic targets of mossy fibers in the rat hippocampus. J Neurosci. 1998. 18: 3386–3403.
- Adams B., Lee M., Fahnestock M., Racine R. Longterm potentiation trains induce mossy fiber sprouting. Brain Res. 1997. 775: 193–197.
- Aizenman E., Stout A.K., Hartnett K.A., Dineley K.E., McLaughlin B., Reynolds I.J. Induction of neuronal apoptosis by thiol oxidation: putative role of intracellular zinc release. J. Neurochem. 2000. 75: 1878–1888.
- Aggleton J.P., Brown M.W., Albasser M.M. Contrasting brain activity patterns for item recognition memory and associative recognition memory: insights from immediate-early gene functional imaging. Neuropsychologia. 2013. 50: 3141–3155.
- Althaus A., Zhang H., Parent J. Axonal plasticity of age-defined dentate granule cells in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy. Neurobiol. Dis. 2016. 86: 187–96.

- Alvarez-Salvado E., Pallares V., Moreno A., Canals S. Functional MRI of long-term potentiation: imaging network plasticity. Phil. Trans. R. Soc. B. 2014. 369: 20130152.
- Amaral D.G. A golgi study of cell types in the hilar region of the hippocampus in the rat. J. Comp. Neurol. 1978. 15: 851–914.
- Amaral D.G., Campbell M.J. Transmitter systems in the primate dentate gyrus. Hum. Neurobiol. 1986. 5: 169–180.
- Amaral D.G., Dent J.A. Development of the mossy fibers of the dentate gyrus: I. A light and electron microscopic study of the mossy fibers and their expansions. J. Comp. Neurol. 1981. 195: 51–86.
- Amaral D.G., Ishizuka N., Claiborne B. Neurons, numbers and the hippocampal network. Prog. Brain Res. 1990. 83: 1–11.
- Amaral D.G., Scharfman H.E., Lavenex P. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). Prog. Brain Res. 2007. 163: 3–22.
- Axmacher N., Elger C.E., Fell J. Ripples in the medial temporal lobe are relevant for human memory consolidation. Brain J. Neurol. 2008. 131: 1806—1817.
- Beck H., Blumcke I., Kral T., Clusmann H., Schramm J., Wiestler, O.D., Elger, C.E. Properties of a delayed rectifier potassium current in dentate granule cells isolated from the hippocampus of patients with chronic temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 1996. 37. 892–901.
- Bekinschtein P., Kent B.A., Oomen C.A., Clemenson G.D., Gage F.H., Saksida L.M., Bussey T.J. Brain-derived neurotrophic factor interacts with adult-born immature cells in the dentate gyrus during consolidation of overlapping memories. Hippocampus. 2014. 24: 905–911.
- Bekirov I.H., Nagy V., Svoronos A., Huntley G.W., Benson D.L. Cadherin-8 and N-cadherin differentially regulate pre- and postsynaptic development of the hippocampal mossy fiber pathway. Hippocampus 2008. 18: 349–63.
- Berger T.W., Semple-Rowland S., Bassett J.L. Hippocampal polymorph neurons are the cells of origin for ipsilateral association and commissural afferents to the dentate gyrus. Brain Res. 1981. 224: 329–336.
- Binder D.K., Croll S.D., Gall C.M., Scharfman H.E. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? Trends Neurosci. 2001. 24: 47–53.
- Bittencourt S., Covolan L., Hamani C., Longo B., Faria F., Freymuller E., Ottersen O.P., Mello L.E. Replacement of asymmetric synaptic profiles in the molecular layer of dentate gyrus following cycloheximide in the pilocarpine model in rats. Front Psychiatry. 2015. 6: 157.
- Blackstad T.W., Brink K., Hem J., Jeun B. Distribution of hippocampal mossy fibers in the rat. An experimental study with silver impregnation methods. J. Compar. Neurol. 1970. 138: 433–447.

- Blackstad T.W., Kjaerheim A. Special axo-dendritic synapses in the hippocampal cortex: electron and light microscopic studies on the layer of mossy fibers. J. Comp. Neurol. 1961. 117: 133–159.
- Blasco-Ibáñez J.M., Freund T.F. Distribution, ultrastructure, and connectivity of calretinin immunoreactive mossy cells of the mouse dentate gyrus. Hippocampus. 1997. 7: 307—320.
- Bliss T.V., Gardner-Medwin A.R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaestetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. 1973. 232: 357—374.
- Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature. 1993. 361: 31–39.
- Bliss T.V., Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. 1973. 232: 331–356.
- Blümcke I., Zuschratter W., Schewe J.C., Suter B., Lie A.A., Riederer B.M., Meyer B., Schramm J., Elger C.E., Wiestler O.D. Cellular pathology of hilar neurons in Ammon's horn sclerosis. The Journal of Comparative Neurology. 1999. 414: 437–453.
- Bragin A., Jandó G., Nádasdy Z., van Landeghem M., Buzsáki G. Dentate EEG spikes and associated interneuronal population bursts in the hippocampal hilar region of the rat. J. Neurophysiol. 1995. 73: 1691–1705.
- Bromer C., Bartol T.M., Bowden J.B., Hubbard D.D., Hanka D.C., Gonzalez P.V., Kuwajima M., Mendenhall J.M., Parker P.H., Abraham W.C., Sejnowski T.J., Harris K.M. Long-term potentiation expands information content of hippocampal dentate gyrus synapses. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2018. 115(10): E2410-E2418.
- Bronzino J.D., Kehoe P., Mallinson K., Fortin D.A. Increased extracellular release of hippocampal NE is associated with tetanization of the medial perforant pathway in the freely moving adult male rat. Hippocampus. 2001. 11: 423–429.
- Brown R.A., Walling S.G., Milway J.S., Harley C.W. Locus ceruleus activation suppresses feedforward interneurons and reduces β - γ electroencephalogram frequencies while it enhances θ frequencies in rat dentate gyrus. J. Neurosci. 2005. 25: 1985–1991.
- Buckmaster P. Does mossy fiber sprouting give rise to the epileptic state? In: Scharfman H., Buckmaster P., editors. Issues in Clinical Epileptology: A View From the Bench, Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol. 813. Dordrecht: Springer. 2014.
- Buckmaster P.S., Strowbridge B.W., Kunkel D.D., Schmiege D.L., Schwartzkroin P.A. Mossy cell axonal projections to the dentate gyrus molecular layer in the rat hippocampal slice. Hippocampus. 1992. 2: 349–362.
- Buckmaster P.S., Abrams E., Wen X. Seizure frequency correlates with loss of dentate gyrus GABAergic

- neurons in a mouse model of temporal lobe epilepsy. J. Comp. Neurol. 2017. 525(11): 2592–2610.
- Buckmaster P.S., Wenzel H.J., Kunkel D.D., Schwartzkroin P.A. Axon arbors and synaptic connections of hippocampal mossy cells in the rat in vivo. J. Comp Neurol. 1996. 366: 271–292.
- Buonomano D.V. Distinct Functional Types of Associative Long-Term Potentiation in Neocortical and Hippocampal Pyramidal Neurons. J. Neurosci. 1999. 19(16): 6748–6754.
- Burgess N., Maguire E., O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. Neuron 2002. 35: 625–641.
- Burghardt N.S., Park E.H., Hen R., Fenton A.A. Adultborn hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. Hippocampus. 2012. 22: 1795—1808.
- Chawla M.K., Guzowski J.F., Ramirez-Amaya V., Lipa P., Hoffman K.L., Marriott L.K., Worley P.F., Mc-Naughton B.L., Barnes C.A. Sparse, environmentally selective expression of Arc RNA in the upper blade of the rodent fascia dentata by brief spatial experience. Hippocampus. 2005. 15: 579–586.
- Chicurel M.E., Harris K.M. Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched dendritic spines and their synaptic relationships with mossy fiber boutons in the rat hippocampus. J. Comp. Neurol. 1992. 325: 169–182.
- Clelland C.D., Choi M., Romberg C., Clemenson G.D. Jr., Fragniere A., Tyers P., Jessberger S., Saksida L.M., Barker R.A., Gage F.H., Bussey T.J. A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. Science. 2009. 325: 210–213.
- Cole T.B., Wenzel H.J., Kafer K.E., Schwartzkroin P.A., Palmiter R.D. Elimination of zinc from synaptic vesicles in the intact mouse brain by disruption of the ZnT3 gene. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1999. 96: 1716 –1721.
- Colling S., Khana M., Collinge J., Jefferys J. Mossy fibre reorganization in the hippocampus of prion protein null mice. Brain Res. 1997. 755: 28–35.
- Colom L.V., Castañeda M.T., Reyna T., Hernandez S., Garrido-Sanabria E. Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus. Synapse. 2005. 58: 151–164.
- Conquet F., Bashir Z.I., Davies C.H., Daniel H., Ferraguti F., Bordi F., Franz-Bacon K., Reggiani A., Matarese V., Conde F., Collingridge G.L. Motor deficit and impairment of synaptic plasticity in mice lacking mGluR1. Nature. 1994. 372: 237–243.
- Cossart R., Dinocourt C., Hirsch J.C., Merchan-Perez A., De F.J., Ben-Ari Y., Esclapez M., Bernard C. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. Nat. Neurosci. 2001. 4: 52–62.
- Coulter D.A., Carlson G.C. Functional regulation of the dentate gyrus by GABA-mediated inhibition. Prog. Brain Res. 2007. 163: 235–243.

- Cronin J., Obenaus A., Houser C., Dudek F. Electrophysiology of dentate granule cells after kainate-induced synaptic reorganization of the mossy fibers. Brain Res. 1992. 573: 305–310.
- Danielson N.B., Kaifosh P., Zaremba J.D., Lovett-Barron M., Tsai J., Denny C.A., et al. Distinct Contribution of Adult-Born Hippocampal Granule Cells to Context Encoding. Neuron. 2016. 90: 101–112.
- Das A., Wallace G.C., Holmes C., McDowell M.L., Smith J.A., Marshall JD, Bonilha L., Edwards J.C., Glazier S.S., Ray S.K., Banik N.L. Hippocampal tissue of patients with refractory temporal lobe epilepsy is associated with astrocyte activation, inflammation, and altered expression of channels and receptors. Neuroscience. 2012. 220: 237–246.
- Deller T., Nitsch R., Frotscher M. Phaseolus vulgaris—leucoagglutinin tracing of commissural fibers to the rat dentate gyrus: evidence for a previously unknown commissural projection to the outer molecular layer. J. Comp. Neurol. 1995. 352: 55–68.
- Deller T., Katona I., Cozzari C., Frotscher M., Freund T.F. Cholinergic innervation of mossy cells in the rat fascia dentata. Hippocampus. 1999. 9: 314–320.
- Deng W., Mayford M., Gage F.H. Selection of distinct populations of dentate granule cells in response to inputs as a mechanism for pattern separation in mice. Elife. 2013. 2: e00312.
- Dengler C.G., Coulter D.A. Normal and epilepsy-associated pathologic function of the dentate gyrus. Prog. Brain Res. 2016. 226: 155–178.
- Denny C.A., Kheirbek M.A., Alba E.L., Tanaka K.F., Brachman R.A., Laughman K.B., Tomm N.K., Turi G.F., Losonczy A., Hen R. Hippocampal memory traces are differentially modulated by experience, time, and adult neurogenesis. Neuron. 2014. 83: 189–201.
- van Dijk M.T., Fenton A.A. On How the Dentate Gyrus Contributes to Memory Discrimination. Neuron. 2018. 98: 832–845.e5.
- Douglas R.M., Goddard G.V. Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. Brain Res. 1975. 86: 205–215.
- Doyère V., Srebro B., Laroche S. Heterosynaptic LTD, depotentiation in the medial perforant path of the dentate gyrus in the freely moving rat. J. Neurophysiol. 1997. 77: 571–578.
- El Bahh B., Lespinet V., Lurton D., Coussemacq M., Le Gal La Salle G, Rougier A. Correlations between granule cell dispersion, mossy fiber sprouting, and hippocampal cell loss in temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 1999. 40: 1393–1401.
- Elmer E., Kokaia Z., Kokaia M., Lindvall O., McIntyre D. Mossy fibre sprouting: evidence against a facilitatory role in epileptogenesis. Neuroreport. 1997. 8: 1193–1196.
- Engel Jr.J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia. 2001. 42: 796–803.

- Etter G., Krezel W. Dopamine D2 receptor controls hilar mossy cells excitability. Hippocampus. 2014. 24: 725–732.
- Ezrokhi V.L., Zosimovskii V.A., Korshunov V.A., Markevich V.A. Restoration of decaying long-term potentiation in the hippocampal formation by stimulation of neuromodulatory nuclei in freely moving rats. Neuroscience. 1999. 88: 741–753.
- Frederickson C.J. Neurobiology of zinc and zinc containing neurons. Int. Rev. Neurobiol. 1989. 31: 145–238.
- Frederickson C.J., Bush A.I. Synaptically released zinc: physiological functions and pathological effects. Biometals. 2001. 14: 353–366.
- Freund T.F. GABAergic septal and serotonergic median raphe afferents preferentially innervate inhibitory interneurons in the hippocampus and dentate gyrus. Epilepsy Res. Suppl. 1992. 7: 79–91.
- Freund T.F., Buzsaki, G. Interneurons of the hippocampus. Hippocampus. 1996. 4: 347–470.
- Freund T.F., Hajos N., Acsady L., Gorcs T.J., Katona I. Mossy cells of the rat dentate gyrus are immunoreactive for calcitonin gene-related peptide (CGRP). Eur. J. Neurosci. 1997. 9: 1815–1830.
- *Fricke R., Prince D.* Electrophysiology of dentate gyrus granule cells. J. Neurophysiol. 1984. 51: 195–209.
- Frotscher M., Seress L., Schwerdtfeger W.K., Buhl E. The mossy cells of the fascia dentata: a comparative study of their fine structure and synaptic connections in rodents and primates. J. Comp. Neurol. 1991. 312: 145–163.
- *Hainmueller T., Bartos M.* Parallel emergence of stable and dynamic memory engrams in the hippocampus. Nature. 2018. 558: 292–296.
- Hagena H., Manahan-Vaughan D. Learning-facilitated longterm depression and long-term potentiation at mossy fiber-CA3 synapses requires activation of b-adrenergic receptors. Frontiers Integr. Neurosci. 2012. 6: 23.
- Halasy K., Somogyi P. Subdivisions in the multiple GABAergic innervation of granule cells in the dentate gyrus of the rat hippocampus. Eur. J. Neurosci. 1993. 5: 411–429.
- Halabisky B., Parada I., Buckmaster P.S., Prince D.A. Excitatory Input Onto Hilar Somatostatin Interneurons Is Increased in a Chronic Model of Epilepsy. J. Neurophysiol. 2010. 104(4): 2214–2223.
- Hamlyn L.H. An electron microscope study of pyramidal neurons in the Ammon's Horn of the rabbit. J. Anat. 1963. 97(Pt 2): 189–201.
- Han Z.S., Buhl E.H., Lorinczi Z., Somogyi P. A high degree of spatial selectivity in the axonal and dendritic domains of physiologically identified local-circuit neurons in the dentate gyrus of the rat hippocampus. Eur. J. Neurosci. 1993. 5: 395–410.
- Hansen N., Manahan-Vaughan D. Locus coeruleus stimulation facilitates long-term depression in the dentate gyrus that requires activation of b-adrenergic receptors. Cereb Cortex. 2015 Jul; 25(7): 1889–1896.

- Hashimotodani Y., Karube F., Yanagawa Y., Fujiyama F., Kano M. Supramammillary Nucleus Afferents to the Dentate Gyrus Co-release Glutamate and GABA and Potentiate Granule Cell Output. Cell Rep. 2018. 25(10): 2704-2715.e4.
- Haug F.M. Electron microscopical localization of the zinc in hippocampal mossy fibre synapses by a modified sulfide silver procedure. Histochemie. 1967. 8: 355–368.
- Hendricks L., Chen Y., Bensen A., Westbrook G., Schnell E. Short-term depression of sprouted mossy fiber synapses from adult-born granule cells. J. Neurosci. 2017. 37: 5722–5735.
- Heng K, Haney M, Buckmaster P. High-dose rapamycin blocks mossy fiber sprouting but not seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 2013. 54: 1535–1341.
- Henze D.A., Wittner L., Buzsáki G. Single granule cells reliably discharge targets in the hippocampal CA3 network in vivo. Nat. Neurosci. 2002. 5: 790–795.
- Henze D.A., Buzsáki G. Hilar mossy cells: functional identification and activity in vivo. Prog. Brain Res. 2007. 163: 199–216.
- Hetherington P.A., Austin K.B., Shapiro M.L. Ipsilateral associational pathway in the dentate gyrus: an excitatory feedback system that supports N-methyl-D-aspartate—dependent long-term potentiation. Hippocampus. 1994. 4: 422—438.
- Hofmann M.E., Frazier C.J. Muscarinic receptor activation modulates the excitability of hilar mossy cells through the induction of an afterdepolarization. Brain Res. 2010. 1318: 42–51.
- Holtmaat A., Gorter J., De Wit J., Tolner E., Spijker S., Giger R., Lopes da Silva F.H., Verhaagen J. Transient downregulation of Sema3A mRNA in a rat model for temporal lobe epilepsy. A novel molecular event potentially contributing to mossy fiber sprouting. Exp. Neurol. 2003. 182: 142–150.
- Honoré E., Khlaifia A., Bosson A., Lacaille J.-C. Hippocampal Somatostatin Interneurons, Long-Term Synaptic Plasticity and Memory. Front. Neural. Circuits. 2021. 15: 687558.
- Houser C.R. Interneurons of the dentate gyrus: an overview of cell types, terminal fields and neuro-chemical identity. Prog. Brain Res. 2007. 163: 217–232.
- Houser C.R., Peng Z., Wei X., Huang C.S., Mody I. Mossy Cells in the Dorsal and Ventral Dentate Gyrus Differ in Their Patterns of Axonal Projections. J. Neurosci. 2021. 41(5): 991–1004.
- Hsia A.Y., Salin P.A., Catillo P.E., Abeliovich A., Tonegawa S., Nicoll R.A. Evidence against a role for metabotropic glutamate receptors in mossy fibre LTP: the use of mutant mice and pharmacological antagonists. Neuropharmacology. 1995. 34: 1567–1572.
- Hsu T.T., Lee C.T., Tai M.H., Lien C.C. Differential recruitment of dentate gyrus interneuron types by commissural versus perforant pathways. Cereb. Cortex. 2016. 26: 2715–2727.

- Hunsaker M.R., Rosenberg J.S., Kesner R.P. The role of the dentate gyrus, CA3a,b, and CA3c for detecting spatial and environmental novelty. Hippocampus. 2008. 18: 1064–1073.
- Hunsaker M.R., Mooy G.G., Swift J.S., Kesner R.P. Dissociations of the medial and lateral perforant path projections into dorsal DG, CA3, and CA1 for spatial and nonspatial (visual object) information processing. Behav. Neurosci. 2007. 121(4): 742–750.
- *Igarashi K.M., Lu L., Colgin, L.L., Moser M.B., Moser E.I.* Coordination of entorhinal-hippocampal ensemble activity during associative learning. Nature. 2014. 510: 143–147.
- Ikegaya Y. Abnormal targeting of developing hippocampal mossy fibers after epileptiform activities via L-type Ca2+channel activation in vitro. J. Neurosci. 1999. 19: 802–812.
- *Ishizuka N., Weber J., Amaral D.G.* Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. J. Comp. Neurol. 1990. 295: 580–623.
- Garthe A., Behr J., Kempermann G. Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. PLoS One. 2009. 4: e5464.
- Gaykema R.P., Luiten P.G., Nyakas C., Traber J. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. J. Comp. Neurol. 1990. 293: 103–124.
- Gelinas J.N., Nguyen P.V. Beta-adrenergic receptor activation facilitates induction of a protein synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. J. Neurosci. 2005. 25: 3294–3303.
- Gilbert P.E., Kesner R.P., Lee I. Dissociating hippocampal subregions: double dissociation between dentate gyrus and CA1. Hippocampus. 2001. 11: 626–636.
- Gloor P. The Temporal Lobe and Limbic System. New York, NY: Oxford University *Press* (1997).
- Goh J.J., Manahan-Vaughan D. Hippocampal long-term depression in freely behaving mice requires the activation of beta-adrenergic receptors. Hippocampus. 2013. 23: 1299–1308.
- Gorter J., van Vliet E., Aronica E., Lopes da Silva F. Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatinimmunoreactive neurons. Eur. J. Neurosci. Biobehav. Rev. 2001. 13: 657–669.
- Goodman J.H., Sloviter R.S. Evidence for commissurally projecting parvalbumin-immunoreactive basket cells in the dentate gyrus of the rat. Hippocampus. 1992. 2: 13–21.
- GoodSmith D., Chen X., Wang C., Kim S.H., Song H., Burgalossi A., Christian K.M., Knierim J.J. Spatial representations of granule cells and mossy cells of the dentate gyrus. Neuron. 2017. 93(3): 677–690.e5.

- *Grover L.M., Teyler T.J.* Two components of long-term potentiation induced by different patterns of afferent activation. Nature. 1990. 347: 477–479.
- Guo N., Soden M.E., Herber C., Kim M.T., Besnard A., Lin P., Ma X., Cepko C.L., Zweifel L.S., Sahay A. Dentate granule cell recruitment of feedforward inhibition governs engram maintenance and remote memory generalization. Nat. Med. 2018. 24: 438–449.
- Jinde S., Zsiros V., Jiang Z., Nakao K., Pickel J., Kohno K., Belforte J. E., Nakazawa K. Hilar mossy cell degeneration causes transient dentate granule cell hyperexcitability and impaired pattern separation. Neuron. 2012. 76: 1189–1200.
- Jung H.J., Lee J.M., Yang S.H., Young S.G., Fong L.G. Nuclear lamins in the brain - new insights into function and regulation. Mol. Neurobiol. 2013. 47: 290–301.
- Jung M.W., McNaughton B.L. Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. Hippocampus. 1993. 3: 165–182.
- Kay A.R., Tóth K. Is zinc a neuromodulator? Sci. Signal. 2008. 1: re3.
- Kemp A., Manahan-Vaughan D. Beta-adrenoreceptors comprise a critical element in learning-facilitated long-term plasticity. Cereb. Cortex 2008a. 18: 1326–1334.
- Kemp A., Manahan-Vaughan D. The hippocampal CA1 region and dentate gyrus differentiate between environmental and spatial feature encoding through long-term depression. Cereb. Cortex 2008b. 18: 968–977.
- *Kesner R.P.* A behavioral analysis of dentate gyrus function. Prog. Brain Res. 2007. 163: 567–576.
- Khuu M.A., Pagan C.M., Nallamothu T., Hevner R.F., Hodge R.D., Ramirez J.-M., Garcia III A.J. Intermittent Hypoxia Disrupts Adult Neurogenesis and Synaptic Plasticity in the Dentate Gyrus. J. Neurosci. 2019. 39(7): 1320–1331.
- Kheirbek M.A., Drew L.J., Burghardt N.S., Costantini D.O., Tannenholz L., Ahmari S.E., Zeng H., Fenton A.A., Hen R. Differential Control of Learning and Anxiety along the Dorsoventral Axis of the Dentate Gyrus. Neuron. 2013. 77: 955–968.
- Kitamura T, Pignatelli M., Suh J., Kohara K., Yoshiki A., Abe K., Tonegawa S. Island cells control temporal association memory. Science. 2014. 343: 896–901.
- Kitamura T., Sun C., Martin J., Kitch L.J., Schnitzer M.J., Tonegawa S. Entorhinal Cortical Ocean Cells Encode Specific Contexts and Drive Context-Specific Fear Memory. Neuron. 2015. 87: 1317–1331.
- Kitchigina V., Vankov A., Harley C., Sara S.J. Novelty-elicited, noradrenaline-dependent enhancement of excitability in the dentate gyrus. Eur. J. Neurosci. 1997. 9: 41–47.
- Koyama R., Yamada M.K., Fujisawa S., Katoh-Semba R., Matsuki N., Ikegaya Y. Brain-derived neurotrophic factor induces hyperexcitable reentrant circuits in the dentate gyrus. J. Neurosci. 2004. 24: 7215–7224.

- Kleschevnikov A.M., Routtenberg A. Long-term potentiation recruits a trisynaptic excitatory associative network within the mouse dentate gyrus. Eur. J. Neurosci. 2003. 17: 2690–2702.
- Larimer P., Strowbridge B.W. Representing information in cell assemblies: persistent activity mediated by semilunar granule cells. Nat. Neurosci. 2010. 13: 213–222.
- Lassalle J.M., Bataille T., Halley H. Reversible inactivation of the hippocampal mossy fiber synapses in mice impairs spatial learning, but neither consolidation nor memory retrieval, in the Morris navigation task. Neurobiol. Learn. Mem. 2000. 73: 243—257.
- Lee I., Kesner R.P. Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. Hippocampus. 2004. 14: 66–76.
- *Leranth C., Hajszan T.* Extrinsic afferent systems to the dentate gyrus. Prog. Brain Res. 2007. 163: 63–84.
- Leranth C., Frotscher M. Cholinergic innervation of hippocampal GAD- and somatostatin-immunoreactive commissural neurons. J. Comp. Neurol. 1987, 261: 33–47.
- Levy W.B., Steward O. Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. Brain Res. 1979. 175: 233–245.
- Leutgeb J.K., Leutgeb S., Moser M.B., Moser E.I. Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus. Science. 2007. 315: 961–966.
- Li X., Somogyi P., Ylinen A., Buzsáki G. The hippocampal CA3 network: an in vivo intracellular labeling study. J. Comp. Neurol. 1994. 339: 181–208.
- *Lindvall O., Stenevi U.* Dopamine and noradrenaline neurons projecting to the septal area in the rat. Cell Tissue Res. 1978. 190: 383–407.
- Lisman J.E., Talamini L.M., Raffone A. Recall of memory sequences by interaction of the dentate and CA3: a revised model of the phase precession. Neural Netw. 2005. 18: 1191–1201.
- Lituma P.J., Kwon H.-B., Alviña K., Luján R.l, Castillo P.E. Presynaptic NMDA receptors facilitate short-term plasticity and BDNF release at hippocampal mossy fiber synapses. eLife. 2021. 10: e66612.
- Liu X., Ramirez S., Pang P.T., Puryear C.B., Govindarajan A., Deisseroth K., Tonegawa S. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. Nature. 2012. 484: 381–385.
- Liu R.S., Lemieux L., Bell G.S., Sisodiya S.M., Bartlett P.A., Shorvon S.D., Sander J.W., Duncan J.S. Cerebral damage in epilepsy: a population-based longitudinal quantitative MRI study. Epilepsia. 2005. 46: 1482–1494.
- Longo B., Covolan L., Chadi G., Mello L. Sprouting of mossy fibers and the vacating of postsynaptic targets in the inner molecular layer of the dentate gyrus. Exp. Neurol. 2003. 181: 57–67.

- Lopez-Rojas J., Heine M., Kreutz M.R. Plasticity of intrinsic excitability in mature granule cells of the dentate gyrus. Sci. Rep. 2016. 6: 21615.
- Lorente de No R. Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the of the study of of the ammonic system. J. Psychol. Neurol. (Leipz.). 1934. 46.113.
- *Lynch M.A.* Long-Term Potentiation and Memory. Physiol. Rev. 2004. 84: 87–136.
- Lysetskiy M., Foldy C., Soltesz I. Long- and short-term plasticity at mossy fiber synapses on mossy cells in the rat dentate gyrus. Hippocampus. 2005. 15: 691–696.
- Madroñal N., Delgado-García J.M., Fernández-Guizán A., Chatterjee J., Köhn M., Mattucci C., Jain A., Tsetsenis T., Illarionova A., Grinevich V., Gross C.T., Gruart A. Rapid erasure of hippocampal memory following inhibition of dentate gyrus granule cells. Nat. Comm. 2016. 7: 10923.
- Malenka R.C., Bear M.F. LTP and LTD: an embarrassment of riches. Neuron. 2004. 44: 5–21.
- Malheiros J., Paiva F., Longo B., Hamani C., Covolan L. Manganese-enhanced MRI: biological applications in neuroscience. Front. Neurol. 2015. 6: 161.
- *Marr D.* Simple memory: a theory for archicortex. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1971. 262: 23–81.
- Mathern G., Cifuentes F., Leite J., Pretorius J., Babb T. Hippocampal EEG excitability and chronic spontaneous seizures are associated with aberrant synaptic reorganization in the rat intrahippocampal kainate model. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1993. 87: 326–339.
- Mitsueda-Ono T., Ikeda A., Sawamoto N., Aso T., Hanakawa T., Kinoshita M., Matsumoto R., Mikuni N., Amano S., Fukuyama H., Takahashi R. Internal structural changes in the hippocampus observed on 3-tesla MRI in patients with mesial temporal lobe epilepsy. Intern. Med. 2013. 52: 877–885.
- McHugh T.J., Jones M.W., Quinn J.J., Balthasar N., Coppari R., Elmquist J.K., Lowell B.B., Fanselow M.S., Wilson M.A., Tonegawa S. Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network. Science. 2007. 317(5834): 94–99.
- *McNamara J.* Cellular and molecular basis of epilepsy. J. Neurosci. 1994. 14: 3413–3425.
- McNaughton B.L., Barnes C.A., Meltzer J., Sutherland R.J. Hippocampal granule cells are necessary for normal spatial learning but not for spatially-selective pyramidal cell discharge. Exp. Brain Res. 1989. 76: 485–496.
- McNaughton B.L., Morris R.G. Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. Trends in neurosciences. 1987. 10: 408–415.
- McNaughton B.L., Nadel L. Hebb-Marr networks and the neurobiological representation of action in space. In: Neuroscience and Connectionist Theo-

- ry, M.A. Gluck and D.E. Rumelhart, eds. (Erlbaum), 1990. 1–63 pp.
- Meier K., Merseburg A., Isbrandt D., Marguet S.L., Morellini F. Dentate gyrus sharp waves, a local field potential correlate of learning in the dentate gyrus of mice. J. Neurosci. 2020. 40: 7105–7118.
- Mello L., Covolan L. Neuronal injury and progressive cell damage. In: Schwartzkroin PA, editor. Encyclopedia of Basic Epilepsy Research. Cambridge, MA; London: Academic Press. 2009. 125—128 pp.
- Messaoudi E., Bardsen K., Srebro B., Bramham C.R. Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. J. Neurophysiol. 1998. 79: 496–499.
- Messaoudi E., Ying S.W., Kanhema T., Croll S.D., Bramham C.R. Brain-derived neurotrophic factor triggers transcription-dependent, late phase long-term potentiation in vivo. J. Neurosci. 2002. 22: 7453–7461.
- Mori M., Abegg M.H., Gähwiler B.H., Gerber U. A frequency-dependent switch from inhibition to excitation in a hippocampal unitary circuit. Nature. 2004. 431: 453–456.
- Morimoto K., Fahnestock M., Racine R.J. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog. Neurobiol. 2004. 73: 1–60.
- Moser M.B., Moser E.I. Functional differentiation in the hippocampus. Hippocampus. 1998. 8: 608–619.
- Mu J.S., Li W.P., Yao Z.B., Zhou X.F. Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats. Brain Res. 1999. 835: 259–265.
- Myers C.E., Scharfman H.E. Pattern separation in the dentate gyrus: a role for the CA3 backprojection. Hippocampus. 2011. 21: 1190–1215.
- Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W. Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with kainic acid. Brain Res. 1980. 182: 1–9.
- Nakashiba T., Young J.Z., McHugh T.J., Buhl D.L., Tonegawa S. Transgenic inhibition of synaptic transmission reveals role of CA3 output in hippocampal learning. Science. 2008. 319: 1260–1264.
- Nakashiba T., Cushman J.D., Pelkey K.A., Renaudineau S., Buhl D.L., McHugh T.J., Rodriguez Barrera V., Chittajallu R., Iwamoto K.S., McBain C.J., et al. Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion. Cell. 2012 149: 188–201.
- Namgung U., Matsuyama S., Routtenberg A. Longterm potentiation activates the GAP-43 promoter: selective participation of hippocampal mossy cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. 94: 11675—11680.
- Nissinen J., Lukasiuk K., Pitkänen A. Is mossy fiber sprouting present at the time of the first spontaneous seizures in rat experimental temporal lobe epilepsy? Hippocampus. 2001. 11: 299–310.

- Nosten-Bertrand M., Errington M.L., Murphy K.P., Tokugawa Y., Barboni E., Kozlova E., Michalovich D., Morris R.G., Silver J., Stewart C.L., Bliss T.V., Morris R.J. Normal spatial learning despite regional inhibition of LTP in mice lacking thy-1. Nature. 1996. 379: 826–829.
- Parent J.M., Elliott R.C., Pleasure S.J., Barbaro N.M., Lowenstein D.H. Aberrant seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy. Ann. Neurol. 2006. 59: 81–91.
- Park S., Kramer E.E., Mercaldo V., Rashid A.J., Insel N., Frankland P.W., Josselyn S.A. Neuronal Allocation to a Hippocampal Engram. Neuropsychopharmacol. 2016. 41: 2987–2993.
- Park E.H., Burghardt N.S., Dvorak D. Hen R., Fenton A.A. Experience-dependent regulation of dentate gyrus excitability by adult-born granule cells. J. Neurosci. 2015. 35: 11656 –11666.
- Penttonen M., Kamondi A., Sik A., Acsady L., Buzsaki G. Feed-forward and feed-back activation of the dentate gyrus in vivo during dentate spikes and sharp wave bursts. *Hippocampus*. 1997. 7: 437–450.
- Phillips R.G., LeDoux J.E. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. Behav Neurosci. 1992. 106: 274–285.
- Pierce J., Melton J., Punsoni M., McCloskey D., Scharfman H. Mossy fibers are the primary source of afferent input to ectopic granule cells that are born after pilocarpine-induced seizures. Exp. Neurol. 2005. 196: 316–331.
- Polli R., Malheiros J., Dos Santos R., Hamani C., Longo B., Tannús A., Mello L.E., Covolan L. Changes in hippocampal volume are correlated with cell loss but not with seizure frequency in two chronic models of temporal lobe epilepsy. Front. Neurol. 2014. 5: 111.
- Raisman G., Cowan W.M., Powel T.P.S. The extrinsic afferent, commissural and association fibers of hippocampus. Brain. 1965. 88: 963–981.
- Ramirez S., Liu X., Lin P.A., Suh J., Pignatelli M., Redondo R.L., Ryan T.J., Tonegawa S. Creating a false memory in the hippocampus. Science. 2013. 341: 387–391.
- Ramon y Cajal S. Estructura del asfa de Ammon y fascia dentata. Ann. SOC Esp. Hist. Nat. Madrid. 1893. 22. 1.
- Reyes-Garcia S.Z., Scorza C.A., Araújo N.S, Ortiz-Villatoro N.N., Prada J.A., Ricardo C., Yacubian E.M.T., Faber J., Cavalheiro E.A. Different patterns of epileptiform-like activity are generated in the sclerotic hippocampus from patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy. Sci. Rep. 2018. 8: 7116.
- Ribak C.E., Seress L. Five types of basket cell in the hippocampal dentate gyrus: a combined Golgi and electron microscopic study. J. Neurocytol. 1983. 12: 577-597.
- Ribak CE, Seress L, Amaral DG. The development, ultrastructure and synaptic connections of the

- mossy cells of the dentate gyrus. J Neurocytol. 1985. 14: 835–857.
- Rolls E.T. Pattern separation, completion, and categorisation in the hippocampus and neocortex. Neurobiol. Learn. Mem. 2016. 129: 4–28.
- *Rolls E.T.* The storage and recall of memories in the hippocampo-cortical system. Cell Tissue Research. 2018. 373(3): 577–604.
- *Rolls E.T., Kesner R.P.* A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. Prog. Neurobiol. 2006. 79: 1–48.
- Roth B.L. DREADDs for neuroscientists. Neuron. 2016. 89(4): 683–694.
- Rovira-Esteban L., Hájos N., Nagy G.A., Crespo C., Nacher J., Varea E., Blasco-Ibáñez J.M. Semilunar Granule Cells Are the Primary Source of the Perisomatic Excitatory Innervation onto Parvalbumin-Expressing Interneurons in the Dentate Gyrus. eNeuro. 2020. 7(4): 1–17.
- Ruediger S., Vittori C., Bednarek E., Genoud C., Strata P., Sacchetti B., Caroni P. Learning-related feedforward inhibitory connectivity growth required for memory precision. Nature. 2011. 473: 514–518.
- Sajikumar S., Frey J.U. Late-associativity, synaptic tagging, and the role of dopamine during LTP and LTD. Neurobiol. Learn. Mem. 2004. 82: 12–25.
- Sahay A., Drew M.R., Hen R. Dentate gyrus neurogenesis and depression. Prog. Brain Res. 2007. 163: 697–722.
- Sahay A., Scobie K.N., Hill A.S., O'Carroll C.M., Kheirbek M.A., Burghardt N.S., Fenton A.A., Dranovsky A., Hen R. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. Nature. 2011. 472(7344): 466–470.
- Sakon J.J., Suzuki W.A. A neural signature of pattern separation in the monkey hippocampus. PNAS. 2019. 116: 9634–9643.
- Salib M., Joshi A., Katona L., Howarth M., Micklem B.R., Somogyi P., Viney T.J. GABAergic Medial Septal Neurons with Low-Rhythmic Firing Innervating the Dentate Gyrus and Hippocampal Area CA3. J. Neurosci. 2019. 39(23): 4527–4549.
- Sara S.J., Vankov A., Hervé A. Locus coeruleusevoked responses in behaving rats: A clue to the role of noradrenaline in memory. Brain Res. Bull. 1994. 35: 457–465.
- Saxe MD, Battaglia F., Wang J.-W., Malleret G., David D.J., Monckton J. E, A. Garcia D. R., Sofroniew M. V., Kandel E.R., Santarelli L., Hen R., Drew M. R. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. 103: 17501–17506.
- Scharfman H.E. EPSPs of dentate gyrus granule cells during epileptiform bursts of dentate hilar "mossy" cells and area CA3 pyramidal cells in disinhibited rat hippocampal slices. J. Neurosci. 1994. 14: 6041–6057.
- Scharfman H.E. Dentate hilar cells with dendrites in the molecular layer have lower thresholds for syn-

- aptic activation by perforant path than granule cells. J. Neurosci. 1991. 11: 1660–1673.
- Scharfman H.E. The CA 3 "backprojection" to the dentate gyrus. Prog. Brain Res. 2007. 163: 627–637.
- Scharfman H.E. Electrophysiological evidence that dentate hilar mossy cells are excitatory and innervate both granule cells and interneurons. J Neurophysiol. 1995. 74: 179–194.
- Scharfman H.E. Characteristics of spontaneous and evoked EPSPs recorded from dentate spiny hilar cells in rat hippocampal slices. J. Neurophysiol. 1993. 70: 742–757.
- Scharfman H.E. The enigmatic mossy cell of the dentate gyrus. Nat. Rev. Neurosci. 2016. 17(9): 562–575.
- Scharfman H.E., Goodman J., McCloskey D. Ectopic granule cells of the rat dentate gyrus. Dev. Neurosci. 2007. 29: 14–27.
- Scharfman H.E., Myers C.E. Hilar mossy cells of the dentate gyrus: a historical perspective. Front. Neural. Circuits. 2012. 6: 106.
- Scharfman H.E., Pierce J.P. New insights into the role of hilar ectopic granule cells in the dentate gyrus based on quantitative anatomic analysis and three-dimensional reconstruction. Epilepsia. 2012. 53(Suppl 1): 98–108.
- Sensi S.L., Ton-That D., Weiss J.H. Mitochondrial sequestration and Ca²⁺-dependent release of cytosolic Zn²⁺ loads in cortical neurons. Neurobiol. Dis. 2002. 10: 100–108.
- Senzai Y., Buzsáki G. Physiological properties and behavioral correlates of hippocampal granule cells and mossy cells. Neuron. 2017. 93(3): 691–704. e5.
- Shibata K., Nakahara S., Shimizu E., Yamashita T., Matsuki N., Koyama R. Repulsive guidance molecule a regulates hippocampal mossy fiber branching in vitro. Neuroreport. 2013. 24: 609–615.
- Shi Y., Grieco S.F., Holmes T.C., Xu X. Development of Local Circuit Connections to Hilar Mossy Cells in the Mouse Dentate Gyrus. eNeuro. 2019. 6(2) e0370-18: 1–14.
- Sloviter R.S., Zappone C.A., Harvey B.D., Bumanglag A.V., Bender R.A., Frotscher M. Dormant basket cell" hypothesis revisited: relative vulnerabilities of dentate gyrus mossy cells and inhibitory interneurons after hippocampal status epilepticus in the rat. J. Comp. Neurol. 2003. 459: 44–76.
- Sloviter R.S. Decreased hippocampal inhibition and selective loss of interneurons in experimental epilepsy. Science. 1987. 235: 73–76.
- Sloviter R.S. Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo. Hippocampus. 1991a. 1: 31–40.
- Sloviter R.S. Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the "dormant basket

- cell" hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. Hippocampus. 1991b. 1: 41–66.
- Sloviter R.S. Status epilepticus-induced neuronal injury and network reorganization. Epilepsia. 1999. 40 S34–9.
- Sloviter R., Bumanglag A., Schwarcz R., Frotscher M. Abnormal dentate gyrus network circuitry in temporal lobe epilepsy. In: Noebels J., Avoli M., Rogawski M., Olsen R., Delgado-Escueta A., editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. Bethesda. MD: National Center for Biotechnology Information. 2012.
- Smith R.L., Mensah P., Cotman C. Tracing the dentate gyrus mossy fiber system with horseradish peroxidase histochemistry. Exp. Neurol. 1973. 40(2): 516–524.
- Snyder J.S., Kee N., Wojtowicz J.M. Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. J. Neurophysiol. 2001. 85: 2423–2431.
- Song M.Y., Tian F.F, Wang Y.Z., Huang X., Guo J.L., Ding D.X. Potential roles of the RGMa-FAK-Ras pathway in hippocampal mossy fiber sprouting in the pentylenetetrazole kindling model. Mol. Med. Rep. 2015. 11: 1738–1744.
- Steward O., Scoville S.A. Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. J. Comp. Neurol. 1976. 169: 347–370.
- Strowbridge B.W., Schwartzkroin P.A. Transient potentiation of spontaneous EPSPs in rat mossy cells induced by depolarization of a single neuron. J. Physiol. 1996. 494: 493–510.
- Strüber M., Sauer J.F., Jonas P., Bartos M. Distance-dependent inhibition facilitates focality of gamma oscillations in the dentate gyrus. Nat. Commun. 2017. 8(1): 758.
- Swan A.A., Clutton J.E., Chary P.K., Cook S.G., Liu G.G., Drew M.R. Characterization of the role of adult neurogenesis in touch-screen discrimination learning. Hippocampus. 2014. 24: 1581–1591.
- Swanson L.W., Kohler C., Bjorklund A. Handbook of Chemical Neuroanatomy. Hokfelt T., Bjorklund A., Swanson L.W., editors. Vol. 5. Elsevier; 1987. pp. 125–277.
- Sun C., Mtchedlishvili Z., Bertram E.H., Erisir A., Kapur J. Selective loss of dentate hilar interneurons contributes to reduced synaptic inhibition of granule cells in an electrical stimulation-based animal model of temporal lobe epilepsy. J. Comp. Neurol. 2007. 500: 876–893.
- Takeuchi T., Duszkiewicz, A.J., Sonneborn A., Spooner P.A., Yamasaki M., Watanabe M., Smith C.C., Fernández G., Deisseroth K., Greene R.W., Morris R.G.M. Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. Nature. 2016. 537(7620): 357–362.
- Tamagnone L., Comoglio P. Signalling by semaphorin receptors: cell guidance and beyond. Trends Cell. Biol. 2000. 10: 377–383.

- *Tauck D., Nadler J.* Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. J. Neurosci. 1985. 5: 1016–1022.
- Toni N., Laplagne D.A., Zhao C., Lombardi G., Ribak C.E., Gage F.H., Schinder A.F. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. Nat. Neurosci. 2008. 11: 901–907.
- *Treves A., Rolls E.T.* Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. Hippocampus. 1994. 4: 374–391.
- Tronel S., Belnoue L., Grosjean N., Revest J.M., Piazza P.V., Koehl M., Belnoue L., Abrous D.N. Adult-born neurons are necessary for extended contextual discrimination. Hippocampus. 2012. 22: 292–298.
- *Tulving E.* Episodic memory: from mind to brain. Annu. Rev. Psychol. 2002. 53: 1–25.
- Van Paesschen W., Revesz T., Duncan J.S., King M.D., Connelly A. Quantitative neuropathology and quantitative magnetic resonance imaging of the hippocampus in temporal lobe epilepsy. Annals of Neurology. 1997. 42: 756–766.
- Vinogradova O.S. Hippocampus as comparator: Role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. Hippocampus. 2001. 11: 578–597.
- *Vogt K., Mellor J., Tong G., Nicoll R.* The actions of synaptically released zinc at hippocampal mossy fiber synapses. Neuron. 2000. 26: 187–196.
- Williams P.A., Larimer P., Gao Y., Strowbridge B.W. Semilunar granule cells: glutamatergic neurons in the rat dentate gyrus with axon collaterals in the inner molecular layer. J Neurosci. 2007. 27: 13756–13761.
- *Witter M.P.* The perforant path: projections from the entorhinal cortex to the dentate gyrus. Prog. Brain Res. 2007. 163: 43–61.
- Wittner L. Maglóczky Z., Borhegyi Z., Halász P., Tóth S., Eross L., Szabó Z., Freund T.F. Preservation of perisomatic inhibitory input of granule cells in the epileptic human dentate gyrus. Neuroscience. 2021. 108: 587–600.
- Wright B.J., Jackson M.B. Long-term potentiation in hilar circuitry modulates gating by the dentate gyrus. J. Neurosci. 2014. 34: 9743–9753.
- Wuarin J., Dudek F. Excitatory synaptic input to granule cells increases with time after kainate treatment. J. Neurophysiol. 2001. 85: 1067–1077.
- Yassa M.A., Stark C.E. Pattern separation in the hip-pocampus. Trends Neurosci. 2011. 34: 515–525.
- Zimmer J. Changes in the Timm sulfide silver staining patter of the rat hippocampus and fascia dentata following early postnatal deaferentiation. Brain Res. 1973. 64: 313–326.
- Zimmer J. Long-term synaptic reorganization in rat fascia dentate deafferented at adolescent and adult stages: observations with the Timm method. Brain Res. 1974. 76: 336–242.
- Yamawaki R., Thind K., Buckmaster P.S. Blockade of excitatory synaptogenesis with proximal dendrites of dentate granule cells following rapamycin treat-

ment in a mouse model of temporal lobe epilepsy. J. Comp. Neurol. 2015. 523: 281–297.

Zimmer J. Ipsilateral afferents to the commissural zone of the fascia dentata, demonstrated in decommissurated rats by silver impregnation. J. Comp. Neurol. 1971. 142: 393–416.

Zucca S., Griguoli M., Malézieux M., Grosjean N., Carta M., Mulle C. Control of Spike Transfer at Hippocampal Mossy Fiber Synapses In Vivo by GABA A and GABA B Receptor-Mediated Inhibition. The Journal of Neuroscience. 2017. 37: 587–598.

THE ROLE OF THE DENTATE GYRUS IN THE IMPLEMENTATION OF THE HIPPOCAMPAL FUNCTIONS: HEALTHY BRAIN

V. F. Kitchigina^{a, #}, L. V. Shubina^a, I. Yu. Popova^a

^aInstitute of Theoretical and Experimental Biophysics Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia [#]e-mail: vkitchigina@gmail.com

The dentate gyrus (DG), part of the hippocampal formation, is the main target of the neocortical and subcortical afferents received by the hippocampus; these afferents constitute the anatomical basis for the involvement of the hippocampus in cognitive processes such as attention and memory. Namely in the DG a long-term potentiation was first discovered, – plastic changes in synapses, similar to those that occur when information memorizing. DG is a unique region of the brain, one of the few where neurogenesis is found in adult mammals, including humans. Another feature of the DG, which distinguishes it from the hippocampus, is the presence of two types of glutamatergic neurons, granular and mossy cells. Granular cells, normally having low excitability, restrict the activation of pyramidal neurons of the hippocampus and effectively restrain the flow of information passing through the hippocampal network. This property of granular neurons underlies the protective function of DG, which counteracts overexcitation of the hippocampal network. The functions of the mossy neurons of the DG are the least clear; these cells, innervating both glutamatergic and GABAergic neurons, are likely to participate in the organization of complex network activity both in the DG itself and in the hippocampus. Despite intensive investigation of the DG, its role in the activity of the hippocampus is still largely unclear. This review examines the anatomical, histochemical, and functional DG features, the activity of individual cellular elements, as well as its role in hippocampal functions of normal brain. Special attention is paid to unresolved issues in these aspects.

Keywords: dentate gyrus, granular neurons, mossy cells, giant synapses, neurogenesis, long-term potentiation, spines, pattern of separation, pattern of completion, protective function

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УЛК 612.821.6+612.822.3

РОЛЬ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ФУНКЦИЙ ГИППОКАМПА: ЭПИЛЕПТИЧЕСКИЙ МОЗГ

© 2022 г. В. Ф. Кичигина^{1, *}, Л. В. Шубина¹, И. Ю. Попова¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия *e-mail: vkitchigina@gmail.com

Поступила в редакцию 28.10.2021 г. После доработки 03.12.2021 г. Принята к публикации 20.12.2021 г.

Височная эпилепсия (ВЭ) характеризуется потерей клеток гиппокампа, часто приводящей к его склерозу, последующей реорганизацией гиппокампальной сети и дефицитом декларативной памяти. Несмотря на огромное количество экспериментальных, доклинических и клинических исследований, существует все еще ограниченное понимание основных механизмов, лежащих в основе развития ВЭ. Существует предположение, что именно ЗИ играет решающую роль в механизмах развития этого заболевания. Считают, что при ВЭ нарушается защитная функция ЗИ, основанная на низкой возбудимости гранулярных нейронов и предохраняющая пирамидные клетки гиппокампа от гиперактивации при сильных возбуждающих воздействиях. У пациентов с височной эпилепсией в хилусе ЗИ обнаружена потеря мшистых клеток. Уязвимость мшистых клеток рассматривается некоторыми авторами как критический фактор в развитии ВЭ: эти нейроны в норме ведут себя как предохранители, а их гибель разрывает естественную нейронную сеть, приводя к возникновению патологической активности. В предлагаемой работе рассматриваются изменения морфологических и функциональных свойств ЗИ в эпилептическом мозге, роль спрутинга мшистых волокон и нейрогенеза в развитии ВЭ, а также нарушения когнитивных функций гиппокампа при потере зубчатой извилиной ее защитной роли в условиях гиперактивации.

Ключевые слова: зубчатая извилина, височная эпилепсия, судорожная активность, эпилептический статус, гиперактивация, мшистые клетки, защитная функция, спрутинг мшистых волокон, нейрогенез, риппл-осцилляции

DOI: 10.31857/S0044467722030042

ВВЕДЕНИЕ

Височная эпилепсия (ВЭ) — это разновидность фокальной эпилепсии, при которой судорожная активность (пароксизм) или само органическое поражение мозга, ее вызывающее, локализовано целиком или частично в височной доле. Область возможной локализации эпилептогенного поражения может включать как структуры самой височной доли (гиппокамп, амигдалярный комплекс, неокортекс), так и ряд других образований (поясную извилину, орбитофронтальную кору и др.) (Карлов, 2000). Основным повреждени-

Сокращения: ${\bf B}{\bf 9}$ — височная эпилепсия; ${\bf Л}{\bf \Pi}{\bf \Pi}$ — локальные полевые потенциалы; ${\bf \Pi}{\bf \Pi}$ — перфорантный путь; ${\bf CMB}$ — спрутинг мшистых волокон; ${\bf 9C}$ — эпилептический статус.

ем мозга при височной эпилепсии считается гибель нейронов гиппокампа, часто приводящая к его склерозу, а также последующая реорганизация гиппокампальной сети (Babb, Brown, 1987; de Lanerolle et al., 1992, Lowenstein 2001; см. также обзор Viscomi et al., 2010). Такие события обычно приводят к нарушению эпизодической (автобиографической) памяти (Burgess et al., 2002; Tulving, 2002; Inostrosa et al., 2013).

Приобретенная (ненаследуемая) ВЭ может развиваться как следствие черепно-мозговой травмы, инсульта или токсических воздействий, которые приводят к резкому повышению возбудимости гиппокампальных нейронов (Engel, 2001). Это событие опосредуется дисбалансом тормозных и возбуждаю-

ших нейромедиаторов и изменением эффективности функционирования рецепторных комплексов. Ведущая роль в эпилептогенезе принадлежит глутамату и ГАМК. Высокая концентрация глутамата в межклеточном пространстве в гиппокампе, по-видимому, является основной причиной гибели нервных клеток и последующих морфологических перестроек при эпилептогенезе (Haglid et al., 1994; Ueda et al., 2002). Показано, что периодическое кратковременное повышение глутамата в гиппокампе приводит к развитию экспериментальной эпилепсии; при этом во время интериктальной (межсудорожной) фазы накопление глутамата происходит за счет нарушения механизмов его захвата (Ueda et al., 2002). В процессе эпилептогенеза происходит также возрастание количества всех трех типов глутаматных рецепторов (АМРА, NMDA и метаботропных), в результате чего возрастает эффективность возбуждающей синаптической передачи, наблюдаются гиперактивация нейронов и накопление внутриклеточных ионов кальция – события, ведущие к гибели клеток. Обнаружено, что для индукции клеточной гибели важна локализация NMDA-рецепторов: активация экстрасинаптических NMDA-рецепторов обеспечивает клеточную смерть, в то время как активация синаптических, напротив – нейропротекцию. Такое различие определяется активацией различных геномных программ и противоположными влияниями на внутриклеточные сигнальные пути (см. обзор Hardingham, Bading, 2010). В "эксайтотоксической" гипотезе (ОІпеу, 1969) следует различать "острую" гибель клеток, как результат входа в постсинаптическую клетку катионов и воды, которая может быть кальций-независимой, и "отсроченную", по сценарию апоптоза, которая является кальций-зависимой (см. обзор Freund, Buzsaki, 1996).

При височной эпилепсии (ВЭ) около трети пациентов резистентны к существующим методам лечения. Остаются особенно опасными генерализованные конвульсии, ассоциируемые с тяжелым состоянием и смертностью. В отдельных случаях, чтобы избежать судорожных приступов, единственным методом лечения является хирургическое удаление склеротических структур, прежде всего гиппокампа, что вызывает серьезные когнитивные расстройства. Современные методы лечения эпилепсии в основном основываются на симптоматических стратегиях, фарма-

кологических или хирургических, при этом оба подхода направлены на подавление судорог, но не на эпилептогенез (Loscher, Schmidt, 2004). Эти факты указывают на низкий уровень понимания механизмов нарушений функционирования мозга, приводящих к генерации судорожной активности.

Для изучения механизмов развития ВЭ используются экспериментальные модели ВЭ у животных: каинатная, пилокарпиновая, а также модель киндлинга (раскачки). Каинатная и пилокарпиновая модели создаются введением животным нейротоксинов каиновой кислоты или литий-пилокарпина, соответственно, приводящим к развитию эпилептического статуса (продолжающихся несколько часов судорожных приступов, в которых различают иктальную, т.е. судорожную фазу, и интериктальную, межсудорожную); обычно это приводит к постепенному формированию патологического очага. Для моделирования ВЭ посредством киндлинга используют высокочастотную стимуляцию глутаматергических волокон, чаще всего перфорантного пути (см. обзор Morimoto et al., 2004).

Какую роль играет 3И в развитии височной эпилепсии, приводящей к серьезным нарушениям функционирования мозга? Выяснение этой роли может помочь пониманию механизмов развития этой опасной болезни и предотвращению ее возникновения.

Анатомические аномалии в зубчатой извилине при височной эпилепсии

Именно нарушение структуры ЗИ рассматривается некоторыми авторами как возможная причина начальных этапов развития этой патологии, поскольку ЗИ является основным входным звеном в гиппокамп со стороны возбуждающего энторинального входа, обеспечивающего распространение судорожной активности в поля CA3 и CA1 (McNamara, 1994). В нейронной сети ЗИ наиболее уязвимыми являются мшистые клетки. Причина их уязвимости, как предполагается, в основном обусловлена пресинаптическими механизмами: гигантские синапсы многочисленных гранулярных нейронов, заканчивающихся на мшистых клетках, могут выделять глутамат в больших концентрациях, что приводит к эксайтотоксичности (Buckmaster, Schwartzkroin, 1994; Sloviter, 1994; Scharfman, 1999; Scharfman, Myers, 2012). Пептиды, такие как нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), которые находятся в плотных пузырьках внутри гигантских бутонов, могут способствовать высвобождению глутамата, усугубляя эту эксайтотоксичность (Scharfman, 2005). Кроме этого, мшистые клетки имеют низкие уровни δ -субъединицы ГАМК_А-рецепторов, обычно способствующей ГАМКергическому ингибированию; это может сделать клетку уязвимой к токсическому влиянию глутамата (Tong et al., 2015).

У пациентов с ВЭ в хилусе обнаружена потеря части мшистых клеток (Blümcke et al., 1999). Уязвимость мшистых клеток рассматривается как ключевой фактор: эти нейроны в норме ведут себя как предохранители, и их быстрая гибель разрывает цепь после изменения электрической активности в сети ЗИ (Buckmaster, Schwartzkroin, 1994; Ratzliff et al., 2002). В чем заключается преобразование цепи ЗИ после гибели мшистых клеток? В норме мшистые нейроны хилуса ЗИ проецируются на ее интернейроны, которые, в свою очередь, образуют ГАМКергический вход к гранулярным клеткам; по этой причине гибель возбуждающих хилусных мшистых клеток может вызывать гипервозбудимость гранулярных нейронов (Sloviter, 1991b). Следовательно, утрата части мшистых клеток снижает их ингибирующее влияние на гранулы, опосредованное через тормозные интернейроны; как следствие, на гранулярных клетках образуются "свободные" синаптические локусы (ранее занятые синапсами, образованными ГАМКергическими окончаниями), в результате чего между ними формиру-ЮТСЯ возвратные возбуждающие (McNamara, 1994). Позднее эта гипотеза была переоценена с использованием трансгенных мышей с токсин-опосредованной гибелью мшистых клеток. На этих животных было продемонстрировано, что обширное удаление мшистых клеток вызывало повышение возбудимости гранулярных нейронов, хотя само по себе отсутствие мшистых клеток недостаточно, чтобы вызвать клиническую эпилепсию (Jinde et al., 2013). Интересно, что, хотя у пациентов с ВЭ обнаруживается, как отмечалось выше, потеря мшистых клеток в хилусе (Blümcke et al., 1999), часть их остается сохранной (Seress et al., 2009); при этом выжившие мшистые клетки становятся проэпилептогенными, за счет чрезмерного усиления активности проецирующихся на них гранулярных нейронов (Santhakumar et al., 2000; Ratzliff et al., 2002). Это свойство мшистых клеток легло в основу гипотезы о сверхчувствительных мшистых клетках ("irritable mossy cell") как причине начала эпилептогенеза (Santhakumar et al., 2000). Кроме этого, накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что эктопические гранулярные нейроны ненормально интегрированы и гипервозбудимы и, следовательно, могут способствовать генерации и распространению судорог (Scharfman et al., 2000; Dashtipour et al., 2001; Jung et al., 2004).

Другим морфологическим нарушением в 3И при ВЭ является гибель хилусных тормозных нейронов (Buckmaster, Jongen-Rêlo, 1999), проецирующихся к дистальным дендритам гранул, что, как предполагается, приводит к растормаживанию последних (Sloviter, 1987; 1991a, 19916; Cossart et al., 2001; Sun et al., 2007; Sloviter et al., 2012).

Исследования на материале, взятом у пациентов с ВЭ, прошедших оперативное удаление гиппокампа, показали, что кроме утраты хилусных тормозных нейронов также гибнут интернейроны гранулярного и субгранулярного слоев, в основном корзинчатые клетки (Babb, 1987; de Lanerolle et al., 1992; Mathern et al., 1997). Подобные явления выявлены также в исследованиях на мышах, при этом частота судорожных событий у них коррелировала с гибелью интернейронов гранулярного слоя (но не парвальбумин-содержащих тормозных клеток) (Buckmaster et al., 2017). Следует отметить, что в интерпретации этих исследований проблемой является то, что клетки в основном идентифицируют путем окрашивания на клеточные маркеры, и о потере клеток судят чаще всего по изменению экспрессии этих маркеров, что не всегда соответствует действительной гибели нейронов. Это было постулировано, когда потеря парвальбумин-экспрессирующих клеток, к которым относятся корзинчатые и аксо-аксональные интернейроны, не сопровождалась потерей ГАМКергических контактов в этих локусах у пациентов с ВЭ, а в пилокарпиновой модели ВЭ у крыс предполагаемые контакты корзиночных клеток в ЗИ сохранялись (Obenaus et al., 1993; Wittner et al., 2001). Дальнейшее исследование иммунореактивности на парвальбумин в образцах ткани у пациентов с ВЭ, проведенное на световом и электронно-микроскопическом уровнях, показало, что парвальбумин-содержащие интернейроны в СА1 сохранялись до тех пор, пока пирамидные клетки СА1 (их мишени)

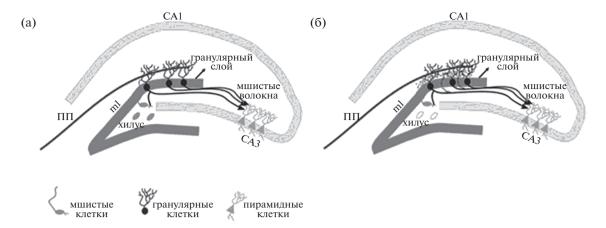


Рис. 1. Гиппокампальная формация в нормальном и эпилептическом мозге. (а) Гранулярный слой зубчатой извилины плотно упакован телами нейронов малого диаметра (гранулярными клетками). Прямо над слоем гранулярных клеток находится молекулярный слой (ml), который считается бесклеточным, поскольку он содержит апикальные дендриты гранул. Внешний молекулярный слой получает информацию от энторинальной коры через перфорантный путь (ПП). Аксоны гранулярных клеток (мшистые волокна) достигают хилуса и проецируются на мшистые клетки и пирамидные нейроны САЗ. Аксоны мшистых клеток проецируются на дендриты гранулярных клеток во внутреннем молекулярном слое контралатерального гиппокампа. (б) В эпилептическом гиппокампе, где гибнут мишени аксонов гранулярных нейронов (мшистые клетки) в хилусе, аксоны гранулярных клеток прорастают и интенсивно иннервируют внутренний молекулярный слой зубчатой извилины — явление, называемое спрутингом мшистых волокон (показано пунктиром). Адаптировано из Cavarsan et al., 2018 (Open access).

Fig. 1. Hippocampal formation in the normal and epileptic brain. (a) The granular layer of the dentate gyrus is densely packed with small-diameter neuronal bodies (granular cells). Directly above the granular cell layer is the molecular layer (ml), which is considered acellular because it contains the apical dendrites of the granules. The outer molecular layer receives information from the entorhinal cortex via the perforant pathway (ΠΠ). Granular cell axons (mossy fibers) reach the hilus and project onto mossy cells and CA3 pyramidal neurons. Mossy cell axons are projected onto granular cell dendrites in the inner molecular layer of the contralateral hippocampus. (6) In the epileptic hippocampus, where hilar mossy cells die, the axons of the granular neurons sprout and intensively innervate the inner molecular layer of the dentate gyrus, a phenomenon called sprouting of mossy fibers (shown by the dotted line). Adapted from Cavarsan et al., 2018 (Open access).

не дегенерируют. Это исследование показало, что интернейроны, которые изначально экспрессируют парвальбумин, могут выживать, даже если иммунореактивность на парвальбумин исчезает. Кроме того, несмотря на многочисленные сообщения о потере парвальбумин-содержащих клеток, в пилокарпиновой модели у мышей гибли корзинчатые клетки, экспрессирующие холецистокинин, а парвальбумин-иммунореактивные корзинчатые клетки оставались сохранными (Wyeth et al., 2010). Таким образом, вопрос о том, какие интернейроны гибнут, а какие просто изменяются, и к каким функциональным последствиям это приводит, является пока не вполне решенным; на этот вопрос еще предстоит ответить в будущем.

В целом у пациентов с ВЭ и у животных на моделях эпилепсии в ЗИ обнаружено несколько анатомических аномалий. Во-первых, происходит спрутирование мшистых во-

локон, причем выявлено спрутирование двух типов: во внутреннем молекулярном слое (рис. 1) и в хилусе ЗИ; при этом в среднем один гранулярный нейрон у эпилептических крыс образует на 75% проекций больше по сравнению с контрольной группой животных (за счет формирования коллатералей) (Tauck, Nadler, 1985; Buckmaster, Dudek, 1999; Longo et al., 2003; Nadler, 2003; Buckmaster, 2012). Во-вторых, образуются входы возвратных коллатералей аксонов клеток САЗ на гранулах (Nadler et al., 1980; Sutula et al., 1989; Nadler, 2003; Sutula, Dudek, 2007; Scharfman, Mvers, 2012). Выявлена также значительная потеря соматостатин-содержащих интернейронов в хилусе (Sloviter, 1987, 1991a, 1991б; Cossart et al., 2001; Sun et al., 2007; Sloviter et al., 2012).

Кроме гибели нейронов при ВЭ обнаружены дисперсия гранулярного слоя и генерация эктопических гранулярных нейронов в хилу-

ce (Houser et al., 1990; Parent et al., 2006). Обнаружены также синаптическая реорганизация гранулярных клеток (Houser et al., 1990; Babb et al., 1991) и астроглиоз (Van Paesschen et al., 1997; Das et al., 2012; Johnson et al., 2016).

Молекулярные внутрисинаптические нарушения в ЗИ при эпилептогенезе

Относительно качественных и количественных внутрисинаптических нарушений необходимо отметить, что в химических синапсах выявлены изменения субъединиц как ионотропных, так и метаботропных глутаматных рецепторов, а также ГАМКа- и Γ АМК_Б-рецепторов. Кроме этого, обнаружены изменения в электрических синапсах (шелевых контактах, gap junctions), как в нейрональных, так и в астроцитарных (см. обзор Ren, Curia, 2021). В этом отношении авторы отмечают некоторые разногласия в данных, полученных на пациентах, с одной стороны, и на моделях ВЭ у животных, с другой. Например, обнаружено возрастание мРНК и уровня белка АМПА-рецепторов у больных ВЭ, что редко выявляется на моделях у животных; такие же разногласия отмечаются в ГАМК_Б-рецепторов, отношении возрастают в ЗИ у пациентов, однако этого не выявлено на моделях ВЭ у животных (см. обзор Ren, Curia, 2021). Причины такого несоответствия клинических и экспериментальных результатов пока неясны. В указанной обзорной работе отмечается, что в целом в ЗИ, как и в гиппокампе, при ВЭ наблюдается возрастание глутаматергических рецепторов наряду с общим снижением ГАМКергических ионотропных рецепторов и увеличением субъединиц щелевых контактов, что вызывает дисбаланс между возбуждением и торможением. В отдельных областях гиппокампа при эпилептогенезе было показано возрастание субъединиц ГАМК-рецепторов по сравнению со здоровым гиппокампом, в чем можно увидеть "безуспешную" попытку противодействия гипервозбудимости нейронной сети во время эпилептогенеза (Ren, Curia, 2021).

Нарушения электрической активности

Изменение структуры ЗИ приводит к изменению возбудимости гранулярных нейронов: если в нормальных условиях гранулы демонстрируют низкий уровень возбудимости, что эффективно ограничивает возбуждение

пирамидных клеток и сдерживает поток активности в пределах гиппокампа (Coulter, Carlson, 2007; Hsu, 2007), то после ЭС гранулярные нейроны становятся гипервозбудимыми (Sloviter, 1987, 1991b; Harvey, Sloviter, 2005), что снижает их способность контролировать распространение возбуждающих сигналов из неокортекса. Синаптическая реорганизация в ЗИ и образование входов возвратных коллатералей аксонов клеток САЗ на гранулах также существенно изменяют возбудимость гранулярных нейронов (Nadler, 2003; Sutula, Dudek, 2007; Scharfman, Myers, 2012). Кроме этого, образование в хилусе ЗИ эктопических гранул (Houser, 1990; Parent, et al., 2006) вызывает формирование из них возбуждающих сверх-связанных локусов (Cameron et al., 2011; Scharfman, Pierce, 2012). Учитывая эти факты, было предложено рассматривать ЗИ как структуру, выполняющую в норме фильтрующую ("gate") функцию, явление, получившее название "dentate gating" (Lothman et al., 1992), ограничивающее возбуждение пирамидных клеток гиппокампа. Нарушение этой функции считается рядом авторов потенциальным механизмом для генерации иктальных и интериктальных событий у людей и животных (Heinemann et al., 1992; Houser, 1992; Hsu, 2007; но см. Ratzliff et al., 2004; Howard et al., 2007). Интересно, что оптогенетическое повышение или подавление активности гранулярных нейронов может спровоцировать или подавить судорожные приступы соответственно (Krook-Magnuson et al., 2015).

В исследовании, проведенном на срезах гиппокампа, взятого после операции у пациентов с лекарственно-устойчивой ВЭ, при регистрации активности в ЗИ было выявлено, что низкочастотная стимуляция хилуса ЗИ склеротического гиппокампа вызывает судорожно-подобные события при незначительном повышении концентрации внеклеточного калия; в то же время в несклеротическом гиппокампе пациентов с диагнозом ВЭ для этого требовалось более значительное повышение концентрации калия (Gabriel et al., 2004); это свидетельствует о том, что при ВЭ возбудимость в ЗИ возрастает.

В срезах склеротического гиппокампа, взятых от пациентов с фармакорезистентной ВЭ, при сравнении активности в полях СА1-СА3 и ЗИ было выявлено, что ЗИ обнаруживает наибольшую склонность к генерации эпилептиформно-подобных эпизодов,

вызываемых повышением концентрации внеклеточного калия и стимуляцией хилуса (Reves-Garcia et al., 2018). На основании этих и более ранних результатов (Beck et al., 1996; Wittner et al., 2001; Gabriel et al., 2004) предполагается, что такие патологические события являются результатом реорганизации нейронной сети в склеротическом гиппокампе человека, а именно спрутинга мшистых волокон (см. рис. 1), а также возникновения калиевого тока (Ik); эти события считаются важными факторами при генерации популяционных ответов, проявляющих признаки гипервозбуждения (Reves-Garcia et al., 2018).

Интересно, что в нормальном гиппокампе человека во время медленноволнового сна регистрируются физиологические относительно высокочастотные (риппл)-осцилляции с частотой 80-200 Гц; обычно они при**урочены** к определенной фазе медленных волн (от пика до впадины) (Frauscher et al., 2015; von Ellenrieder et al., 2016; Song et al., 2017; Weiss et al., 2020) и важны для консолидации памяти, осуществляемой в покое и во сне (Axmacher et al., 2008). В эпилептическом мозге частота риппл-осцилляций увеличивается (Jacobs et al., 2008, 2016). У пациентов с ВЭ во время предоперационной оценки судорожного очага с помощью внутримозговых записей посредством микроэлектродов показано, что в ЗИ регистрируются патологические высокочастотные (или быстрые) рипплосцилляции (пВЧО) (200-600 Гц) (Bragin et al., 1999a, 1999b, 2011; Staba et al., 2002). Показано также, что в гиппокампе они связаны с другой фазой медленных волн (от впадины до пика) (Weiss et al., 2020). У грызунов в норме в ЗИ не регистрируются быстрые рипплосцилляции; поэтому при создании модели ВЭ появление осцилляций на частоте выше 100 Гц рассматривалось как патологические эпилептиформные события, т.е. это являлось маркером эпилептогенеза (Bragin et al., 2011; Csicsvari et al., 2003). Во время быстрых риппл-осцилляций полевой потенциал представлял собой популяционные спайки, состоящие из суммы нейронных спайков ЗИ (Bragin et al., 2011). В этой работе на пилокарпиновой модели ВЭ у эпилептических мышей, анестезированных уретаном и кетамином и находящихся в стереотаксическом аппарате, регистрировали активность идентифицированных гранулярных клеток и интернейронов ЗИ при одновременной регистрации пВЧО. Гранулярные клетки разряжались преимущественно синхронно с пВЧО и одиночными популяционными спайками (рис. 2), в то время как интернейроны уменьшали частоту разрядов (Bragin et al., 2011).

Кроме введения пилокарпина для создания моделей ВЭ животным вводят другие нейротоксины или применяют высокочастотную стимуляцию возбуждающих волокон, что инициирует эпилептический статус (ЭС). В течение нескольких часов или дней после ЭС в ЗИ наблюдались активация нейрогенеза (Parent et al., 1997; Scott et al., 2000; Covolan et al., 2000; Shapiro et al., 2007; Hester, Danzer, 2013; Bielefeld et al., 2014), продукция эктопических гранулярных клеток (Dudek, 2004; Pierce et al., 2005, 2007; Parent et al., 2006; Scharfman et al., 2007) и базальных дендритов (Spigelman et al., 1998; Avanzi et al., 2010; Sanchez et al., 2012; Kelly, Beck, 2017). Поздними изменениями в ЗИ, которые могут по времени совпадать с началом спонтанных припадков, являются синаптическая реорганизация (Sloviter, 1999; Kienzler et al., 2009; Zhang et al., 2014) и дисперсия гранулярных клеток (Houser, 1990; Mello et al., 1992; Lowenstein, 2001; Jessberger et al., 2005; El Bahh et al., 2008).

Роль спрутинга мшистых волокон в развитии височной эпилепсии

Одно из самых заметных явлений, наблюдающихся при эпилептогенезе, - прорастание, или спрутинг, мшистых волокон (СМВ) во внутренний молекулярный слой ЗИ (Саvarsan et al., 2018) (рис. 1). СМВ происходит в две фазы: (1) повреждения клеток вызывают повышение нейрональной активности и высвобождение ростовых факторов (Ikegava et al... 1999; Binder et al., 2001; Koyama et al., 2004); и (2) рост аксонов и образование аксонных коллатералей у гранулярных клеток (Bekirov et al., 2008; Shibata et al., 2013; Song et al., 2015). Для выявления аномальных содержащих цинк терминалей во внутреннем молекулярном слое ЗИ окрашивание по методу Тимма считается "золотым стандартом"; однако недавние данные показали, что СМВ можно отслеживать in vivo в MPT-исследованиях (Nairismägi et al., 2006; Malheiros et al., 2015). Предполагается, что спрутинг происходит, во-первых, из-за образования вакантных синаптических сайтов (Longo et al., 2003) на проксимальных дендритах гранулярных клеток, вызванного гибелью нейронов хилуса после повреждающего воздействия (Sloviter,

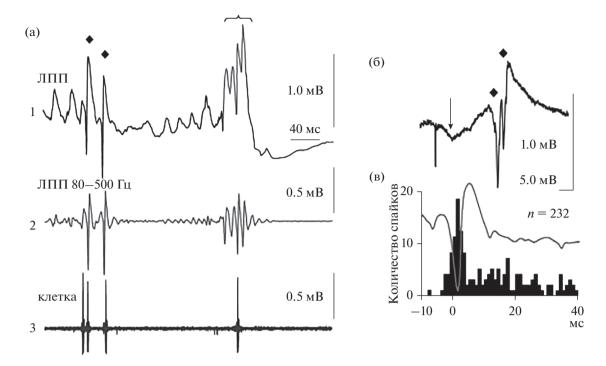


Рис. 2. Разряды идентифицированных гранулярных клеток зубчатой извилины во время одиночных популяционных спайков и патологических высокочастотных осцилляций (пВЧО). (а) Пример двух одиночных популяционных спайков (ромбы) и пВЧО (фигурная скобка), сопровождаемых разрядами гранулярной клетки. А1 — экспериментальные (сырые) записи в частотном диапазоне 0.1 Гц—5.0 кГц. А2 — те же данные, отфильтрованные в полосе частот 200—500 Гц. А3 — разряды гранулярной клетки, зарегистрированной стеклянным микроэлектродом, расположенным на расстоянии 200 мкм от вольфрамового микроэлектрода для регистрации полевых потенциалов на А1. (б) Вызванный полевой потенциал в ответ на стимуляцию перфорантного пути. Вслед за популяционным ВПСП, обозначенным стрелкой, следуют два популяционных спайка (ромбы). (в) Гистограмма разрядов гранулярной клетки (черный цвет) во время 232 популяционных спайков (серый цвет), где "0" — начало популяционного спайка. Адаптировано из: Bragin et al., 2011 (Full access).

Fig. 2. Discharges of identified granular cells of the dentate gyrus during single population spikes and pathological high-frequency oscillations (pHFO). (a) An example of two single population spikes (rhombuses) and pHPO (curly brace), accompanied by granular cell discharges. A1. Experimental (raw) data recorded with 0.1 Hz–5.0 kHz frequency band. A2. The same data filtered in the 200–500 Hz frequency band. A3. Discharges of a granular cell recorded by the glass microelectrode located 200 μm from the tungsten microelectrode which recorded the field potentials in A1. (6) An evoked field potential in response to perforant path stimulation. The beginning of a population EPSP indicated by the arrow is followed by two population spikes (diamonds). (B) Histogram of granular cell discharges (black) during 232 population spikes (gray), where "0" is the beginning of the population spike. Adapted from: Bragin et al., 2011 (Full access).

1987), и, во-вторых, подавлением хемопеллентов, таких как Sema3A (Holtmaat et al., 2003). Sema3A в норме секретируется в аксонах клеток энторинальной коры, проецирующихся в молекулярный слой ЗИ; как предполагается, этот путь в норме активен в гиппокампальной формации (см. обзор Tamagnone, Comoglio, 2000), но не активен после ЭС. Это говорит о том, что подавление хемопеллентов, таких как Sema3A, может действовать как молекулярный элемент, способствующий формированию возвратных проекций

мшистых волокон во внутренний молекулярный слой ЗИ после ЭС.

В настоящее время оспариваются причины (Schmeiser et al., 2017) и роль спрутинга при ВЭ (Elmer et al., 1997; Nissinen et al., 2001). Вопрос о том, является ли СМВ эпилептогенным или адаптивным процессом, остается спорным. Первоначально СМВ описывали как результат образования возвратных возбуждающих проекций гранулярных клеток (Tauck, Nadler, 1985), вызванного гибелью их мишеней, в частности, гибелью клеток хилу-

са, которая является одной из первых находок экспериментальных моделей ВЭ (Mello, Covolan, 2009). Однако нет четких доказательств того, что потеря именно мшистых клеток, а не других нейронов хилуса запускаeт CMB (Gorter et al., 2001), и, хотя реорганизация внутригиппокампальной сети может быть причиной эпилептиформной активности в гиппокампе, некоторые исследования показывают, что СМВ не обязательно связан с возникновением спонтанных судорожных припадков (Heng et al., 2013). Переоцененная в 1990-х годах "гипотеза прорастания мшистых волокон" (МсNamara, 1994) утверждает, что увеличение возбудимости гранулярных клеток является следствием патологической перестройки нейронных цепей, в которых возбуждающие гранулярные нейроны иннервируют сами себя, "выстраивая" возвратные возбуждающие сети. Эта гипотеза подтвердилась многими фактами, некоторые из которых описаны ниже. Доказательства проэпилептогенной роли СМВ включают, в частности, его присутствие примерно у 60% пациентов с ВЭ (Sutula et al., 1989; Isokawa et al., 1993) и у животных в моделях эпилепсии (Cronin et al., 1992; Mathern et al., 1993; Wuarin, Dudek, 2001). Кроме этого, электронно-микроскопические исследования показывают, что окончания проросших мшистых волокон образуют асимметричные (возбуждающие) контакты с дендритными шипиками гранул (Represa et al., 1993). Получены также электрофизиологические данные, подтверждающие эту гипотезу. На срезах гиппокампа крыс производилась парная стимуляция ПП (с задержкой 40 мс) и регистрировались ответы в гранулярном слое. В срезах, взятых от нормальных животных, на первый стимул наблюдались популяционные ВПСП и популяционные спайки, в то время как на второй стимул последний компонент отсутствовал, вероятно, в результате включения возвратного торможения. Однако в срезах, взятых от крыс с каинатной моделью ВЭ, в ответах присутствовали оба компонента; это означает, что гранулярные нейроны расторможены, т.е. гипервозбудимы. Эти результаты коррелировали с наличием устойчивого CMB в гиппокампальных срезах (Tauck, Nadler, 1985). Все это позволяет предположить, что аберрантный СМВ связан с утратой фильтрующей ("gate"), т.е. защитной, функции ЗИ. Похожие результаты были получены в срезах, взятых от животных с введением каината, когда антидромная стимуляция гранулярных клеток вызывала судорожно-подобные залпы потенциалов действия (Cronin et al., 1992; Wuarin, Dudek, 2001). Важное свидетельство проэпилептогенной роли СМВ было продемонстрировано при киндлинге — модели ВЭ, в которой степень прорастания мшистых волокон увеличивалась с возрастанием количества судорожных приступов (Cavazos et al., 1991).

Хотя СМВ положительно коррелирует с потерей мшистых клеток у пациентов с ВЭ (Schmeiser et al., 2017b) и на моделях ВЭ у животных (Pierce et al., 2005; Polli et al., 2014), уместен вопрос: необходим и достаточен ли этот процесс для возникновения судорожных приступов? Существуют данные, показывающие, что СМВ может быть вызван экспериментально без судорог, в результате длительной потенциации (Adams, Lee, 1997) или повреждения ПП (Zimmer, 1973, 1974), a также генетической мутацией (Colling et al., 1997). После электростимуляции миндалины у некоторых животных развивались судороги, но отсутствовал СМВ (Nissinen et al., 2001). В пилокарпиновой и каинатной моделях наличие и интенсивность СМВ положительно коррелировали с количеством спонтанных судорожных припадков и степенью гибели гранулярных клеток ЗИ и пирамидных нейронов в полях СА1 и СА3, но не в хилусе ЗИ (Polli et al., 2014). Эти результаты согласуются с предыдущими данными (Liu et al., 2005; Mitsueda-Ono et al., 2013) и указывают, что, несмотря на важность СМВ, он может развиваться независимо от гибели клеточных мишеней мшистых волокон (Ratzliff et al., 2002); он присутствует у животных со спонтанными судорожными приступами, но его наличие не обязательно связано с их возникновением (Nissinen et al., 2001). Соответственно, хотя у животных, проявляющих большее количество судорог, наблюдается большее количество цинксодержащих терминалей, ультраструктурный анализ молекулярного слоя ЗИ не показал повышенного числа возбуждающих синапсов, что поддерживает идею о том, что СМВ связан с заменой или восстановлением утраченных контактов, а не с повышением возбудимости (Buckmaster, 2014; Bittencourt et al., 2015), T.e. что он является адаптивным процессом. Кроме этого, эксперименты с манипулированием СМВ показали, что введение рапамицина успешно подавляет СМВ, но дает противоречивые результаты в отношении развития эпилепсии (Zeng et al., 2009; Buckmaster, Lew, 2011). Некоторые другие данные указывают на то, что СМВ — активное явление, возможно, нормальный репаративный механизм, который может в определенных условиях становиться патогенным (Buckmaster, 2014; Yamawaki et al., 2015).

Таким образом, относительно роли спрутинга мшистых волокон в развитии ВЭ в литературе нет единого мнения; эти противоречия, вероятно, будут разрешены в будущем.

Роль нейрогенеза в развитии височной эпилепсии

Выявлено, что при судорогах в гранулярном слое ЗИ усиливается нейрогенез, сохраняющийся в мозге взрослых млекопитающих (Cameron et al., 1993; Parent et al., 1997; Bengzon et al., 1997). Гранулярные клетки гиппокампа, образовавшиеся за несколько недель до и после эпилептогенного повреждения мозга, могут аномально интегрироваться со сформированной сетью ЗИ, потенциально опосредуя эпилептогенез в височной доле. Вполне вероятно также, что продолжение нейрогенеза может приводить к увеличению СМВ, который дополнительно усиливается последующими спонтанными судорогами и вызывает повышенную возбудимость в ЗИ (но см. Zeng et al., 2009; Buckmaster, Lew, 2011).

Показано, что после индуцированного пилокарпином ЭС как новорожденные, так и зрелые гранулы вносят свой вклад в прорастание и аберрантную реорганизацию мшистых волокон (Parent et al., 1997, 1999). У взрослых грызунов через несколько недель после введения пилокарпина, вызывающего ЭС, предполагаемые предшественники гранулярных нейронов напоминают "эктопические" гранулоподобные клетки, обнаруженные в образцах гиппокампа, взятых от людей с ВЭ (Houser, 1990); они встречаются до 21 месяцев после ЭС, вызванного конвульсантом (Scharfman et al., 2000). Показано, что эпилептические припадки приводят не только к СМВ, но и к гипертрофии нейронов и проецированию базальных дендритов хилусных нейронов ко вновь рожденным гранулярным клеткам (Parent et al., 1997; Scharfman et al., 2002; Pun et al., 2012). С другой стороны, нейроны, рожденные за 1 неделю до эпилептогенного повреждения, могут создавать

аберрантные дендритные проекции в хилусе ЗИ (Walter et al., 2007), тогда как клетки, рожденные за 1 месяц до инсульта, способствуют аберрантному разрастанию аксонов во внутренний молекулярной слой (Kron et al., 2010). Таким образом, эти морфологические аномалии создают *de novo* возвратные возбуждающие петли внутри ЗИ — процесс, гипотетически способствующий эпилептогенезу (Jessberger, Parent, 2015).

Однако относительно роли нейрогенеза в развитии ВЭ в литературных данных имеются противоречия; в одних работах показано, что ингибирование нейрогенеза гиппокампа у взрослых особей после острых судорожных приступов приводило к уменьшению их количества (Jung et al., 2004, 2006; Cho et al., 2015), в то время как другие исследования указывали на то, что блокирование нейрогенеза у взрослых с помощью облучения в малых дозах не меняло ступенчатого прогрессирования киндлинга (Pekcec et al., 2011) или даже немного усиливало его (Raedt et al., 2007). Позднее эти результаты были дополнены посредством удаления после эпилептогенного инсульта новых гранулярных клеток при использовании стратегии экспрессии рецептора дифтерийного токсина у мышей. Экспрессия этого рецептора была индуцирована у гранулярных клеток, рожденных за 5 недель до вызванного пилокарпином эпилептического статуса; затем, через 3 дня после эпилептогенного воздействия, эти клетки удалялись. Это воздействие привело к сокращению частоты судорог на 50%. Но когда животных обследовали через 2 месяца после этой процедуры, то было обнаружено не только сокращение частоты приступов, но также увеличение их продолжительности на 20%. Авторы предполагают, что этот парадоксальный эффект может отражать нарушение гомеостатических механизмов, которые при частых припадках обычно сокращают их продолжительность. В целом, эти данные, подтверждая давнюю гипотезу о том, что вновь образованные гранулярные клетки являются проэпилептогенными и имеют значение в возникновении судорог, вносят дополнение в представление о том, что процедура устранения вновь рожденных гранулярных клеток, применяемая в клинически значимый момент времени после эпилептогенного инсульта, может иметь модифицирующие болезнь эффекты в развитии эпилепсии (Hosford et al., 2016).

Сообщалось также, что гранулярные нейроны, рождающиеся после эпилептогенных воздействий, демонстрируют различные уровни возбудимости (Cameron et al., 1993; Scharfman et al., 2000; Jakubs et al., 2006; Thind et al., 2008; Zhan et al., 2010; Ribak et al., 2012; Myers et al., 2013). Хилусные эктопические гранулы получают больше возбуждающих сигналов и повышают возбудимость гиппокампа (Cameron et al., 1993; Scharfman et al., 2000; Zhan et al., 2010; Myers et al., 2013), тогда как нейроны в гранулярном слое либо демонстрируют пониженную возбудимость (Jakubs et al., 2006), либо получают чрезмерное возбуждение (Thind et al., 2008; Ribak et al., 2012). Более того, на трансгенных мышах с использованием оптогенетических методов недавно было продемонстрировано, что, несмотря на наличие СМВ гранулярных клеток, рожденных после ЭС, образованные ими синапсы не были функционально активны и не могли вызывать возвратное возбуждение (Hendricks et al., 2017). Таким образом, эти эксперименты противоречат выводам, сделанным в более ранней работе (Hosford et al., 2016).

Нарушение когнитивных функций при ВЭ

ЗИ имеет фундаментальное значение для когнитивных функций, осуществляемых гиппокампом. Одним из нарушений, сопутствующих ВЭ, является когнитивный дефицит, который в повседневной жизни не менее опасен, чем сами судороги (Holmes, 2013). Тем не менее нейронные механизмы такого дефицита не совсем понятны. Многочисленные работы на грызунах показали, что при ВЭ нарушается, в частности, пространственная дискриминация (Gilbert et al., 2001; Clelland et al., 2009; Nakashiba et al., 2012; Kheirbek et al., 2013), что влечет за собой дефицит эпизодической памяти при ВЭ (Burgess et al., 2002; Tulving, 2002; Inostrosa et al., 2013). Kak отмечалось выше, в ЗИ при эпилептогенезе наблюдается резкое повышение возбудимости (Dengler et al., 2016); при этом повышение или подавление активности гранулярных нейронов с помощью оптогенетических методов может спровоцировать или подавить судорожные приступы соответственно (Krook-Magnuson et al., 2015). В недавней работе на мышах (Kahn et al., 2019) на пилокарпиновой модели ВЭ было обнаружено, что гранулярные клетки ЗИ проявляют чрезмерную возбудимость и мыши не справляются с ЗИ-зависимой задачей пространственной дискриминации. В этой работе использовали хемогенетический метод (DREADDs, designer receptors exclusively activated by designer drugs) (Roth, 2016), дающий возможность снизить гиперактивность гранулярных клеток, что позволяло восстановить поведенческие характеристики; в этом случае эпилептические животные осуществляли задачу так же, как контрольные мыши дикого типа. Кроме того, создание гипервозбудимости гранулярных клеток у контрольных мышей посредством возбуждения хемогенетических рецепторов также приводило к дефициту пространственной памяти, наблюдаемой у мышей с эпилепсией. Однако при чрезмерно сниженной возбудимости гранулярных клеток животные как с эпилепсией, так и контрольные снова обнаруживали нарушенные поведенческие характеристики. Эти двунаправленные манипуляции показывают, что для гранулярных нейронов существует оптимальное окно возбудимости, которое необходимо для успешного осуществления когнитивных функций (Kahn et al., 2019).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Факты, указывающие на решающую роль ЗИ в развитии височной эпилепсии и нарушениях функционирования мозга при ВЭ, достаточно убедительны. Являясь основным входным звеном в гиппокамп со стороны глутаматергического неокортикального входа, ЗИ регулирует возбудимость пирамидных нейронов гиппокампа и предохраняет их от генерации патологической активности. Спрутинг МШИСТЫХ ВОЛОКОН, ВОЗМОЖНО, ВНОСИТ ВКЛАЛ В развитие гипервозбудимости гранулярных клеток, при этом повышенная скорость нейрогенеза после судорог может приводить к увеличению СМВ. Однако вопрос о том, является ли СМВ эпилептогенным или адаптивным процессом, остается спорным, так же как и вопрос о роли самого нейрогенеза в развитии ВЭ. Таким образом, вопрос о том, какие изменения в ЗИ играют решающую роль в эпилептогенезе: гибель тормозных интернейронов (и каких именно), потеря мшистых клеток, образование на гранулах синапсов коллатералями возвратных аксонов клеток САЗ, спрутинг мшистых волокон, аномальное встраивание вновь рожденных и "молодых" нейронов в гиппокампальную сеть, этот вопрос пока не решен. Наиболее вероятно, что все эти изменения в комплексе, а не какое-то одно из них, приводят к развитию эпилепсии. Более того, существующая гипотеза о нарушении фильтрующей ("gate") функции ЗИ, рассматриваемая долгое время в качестве основной причины эпилептогенеза, еще не получила окончательной экспериментальной поддержки; в этом отношении также существуют сомнения. Относительно качественных и количественных внутрисинаптических нарушений в ЗИ при височной эпилепсии существуют разногласия в данных, полученных на пациентах и на моделях ВЭ у животных, причины которых пока неясны.

Прогресс новых технологий (оптогенетических, визуализационных подходов, магнитоэнцефалографии) поможет в будущем решить эти вопросы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом РНФ № 20-65-46035.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Карлов В.А. Эпилепсия как клиническая и нейрофизиологическая проблема. Журнал неврологии и психиатрии. 2000. 100 (9): 7—15.
- Adams B., Lee M., Fahnestock M., Racine R. Longterm potentiation trains induce mossy fiber sprouting. Brain Res. 1997. 775: 193–7.
- Axmacher N., Elger C.E., Fell J. Ripples in the medial temporal lobe are relevant for human memory consolidation. Brain J Neurol. 2008. 131: 1806–17.
- Avanzi R.D., Cavarsan C.F., Santos J.G. Jr., Hamani C., Mello L.E., Covolan L. Basal dendrites are present in newly born dentate granule cells of young but not aged pilocarpine-treated chronic epileptic rats. Neuroscience. 2010. 170: 687–91.
- Babb T.L., Brown W.J. Pathological findings in epilepsy. Surgical treatment of the epilepsies. Ed. Engel. J.Jr. New York: Raven Press, 1987. 511–540 pp.
- Babb T.L., Kupfer W.R., Pretorius J.K., Crandall P.H., Levesque M.F. Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. Neuroscience. 1991. 42: 351–363.
- Beck H., Blümcke I., Kral T., Clusmann H., Schramm J., Wiestler O.D., Heinemann U., Elger C.E. Properties of a delayed rectifier potassium current in dentate granule cells isolated from the hippocampus of patients with chronic temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 1996. 37: 892–901.
- Bekirov I.H., Nagy V., Svoronos A., Huntley G.W., Benson D.L. Cadherin-8 and N-cadherin differentially regulate pre- and postsynaptic development of the

- hippocampal mossy fiber pathway. Hippocampus. 2008. 18: 349–63.
- Bengzon J., Kokaia Z., Elmer E., Nanobashvili A., Kokaia M., Lindvall O. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 1997. 94: 10432–10437.
- Bielefeld P., van Vliet E.A., Gorter J.A., Lucassen P.J., Fitzsimons C.P. Different subsets of newborn granule cells: a possible role in epileptogenesis? Eur. J. Neurosci. 2014. 39(1): 1–11.
- Binder D.K., Croll S.D., Gall C.M., Scharfman H.E. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? Trends Neurosci. 2001. 24: 47–53.
- Bittencourt S., Covolan L. C.H., Hamani C., Longo B., Faria F., Freymuller E., Freymuller E., Ottersen O.P., Mello L.E. Replacement of asymmetric synaptic profiles in the molecular layer of dentate gyrus following cycloheximide in the pilocarpine model in rats. Front Psychiatry. 2015. 6: 157.
- Blümcke I., Zuschratter W., Schewe J.C., Suter B., Lie A.A., Riederer B.M., Meyer B., Schramm J., Elger C.E., Wiestler O.D. Cellular pathology of hilar neurons in Ammon's horn sclerosis. The Journal of Comparative Neurology. 1999. 414: 437–453.
- Bragin A., Benassi S.K., Kheiri F., Engel J. Jr. Further evidence that pathological high frequency oscillations are bursts of population spikes derived from recordings of identified cells in dentate gyrus. Epilepsia. 2011. 52(1): 45–52.
- Bragin A., Engel J.Jr., Wilson C.L., Fried I., Buzsaki G. High-frequency oscillations in human brain. Hippocampus. 1999a. 9: 137–142.
- Bragin A., Engel Jr.J., Wilson C.L., Fried I., Mathern G.W. Hippocampal and entorhinal cortex high-frequency oscillations (100–500 Hz) in human epileptic brain and in kainic acid-treated rats with chronic seizures. Epilepsia. 1999b. 40: 127–137.
- Bragin A., Jandó G., Nádasdy Z., van Landeghem M., Buzsáki G. Dentate EEG spikes and associated interneuronal population bursts in the hippocampal hilar region of the rat. J. Neurophysiol. 1995. 73: 1691–1705.
- Buckmaster P.S. Mossy cell dendritic structure quantified and compared with other hippocampal neurons labeled in rats in vivo: Epilepsia. 2012. 53 (Suppl 1): 9–17.
- Buckmaster P. Does mossy fiber sprouting give rise to the epileptic state? Issues in Clinical Epileptology: A View From the Bench. Advances in Experimental Medicine and Biology. Ed. Scharfman H., Buckmaster P. Dordrecht: Springer, 2014. 161–168 pp.
- Buckmaster P.S., Abrams E., Wen X. Seizure frequency correlates with loss of dentate gyrus GABAergic neurons in a mouse model of temporal lobe epilepsy. J Comp Neurol. 2017. 525 (11): 2592–2610.

- Buckmaster P.S., Dudek F.E. Network properties of the dentate gyrus in epileptic rats with hilar neuron loss and granule cell axon reorganization. J. Neurophysiol. 1997. 77: 2685–2696.
- Buckmaster P.S., Lew F.H. Rapamycin suppresses mossy fiber sprouting but not seizure frequency in a mouse model of temporal lobe epilepsy. J. Neurosci. 2011. 31: 2337–2347.
- Buckmaster P.S., Jongen-Rêlo A.L. Highly specific neuron loss preserves lateral inhibitory circuits in the dentate gyrus of kainate-induced epileptic rats. J. Neurosci. 1999. 19(21): 9519–9529.
- Buckmaster P.S., Strowbridge B.W., Kunkel D.D., Schmiege D.L., Schwartzkroin P.A. Mossy cell axonal projections to the dentate gyrus molecular layer in the rat hippocampal slice. Hippocampus. 1992. 2: 349–362.
- Buckmaster P.S., Schwartzkroin P.A. Hippocampal mossy cell function: a speculative view. Hippocampus. 1994. 4: 393–402.
- Burgess N., Maguire E., O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. Neuron 2002. 35: 625–641.
- Cameron H.A., Woolley C.S., McEwen B.S., Gould E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. Neuroscience. 1993. 56: 337–344.
- Cameron M.C., Zhan R., Nadler J.V. Morphologic integration of hilar ectopic granule cells into dentate gyrus circuitry in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. The Journal of Comparative Neurology. 2011. 519: 2175–2192.
- Cavarsan C.F., Malheiros J., Hamani C., Najm I., Covolan L. Is Mossy Fiber Sprouting a Potential Therapeutic Target for Epilepsy? Front. Neurol. 2018. 9: 1023.
- Cavazos J.E., Golarai G., Sutula T.P. Mossy fiber synaptic reorganization induced by kindling: time course of development, progression, and permanence. J Neurosci. 1991. 11(9): 2795–2803.
- Cho K.-O., Lybrand Z.R., Ito N., Kelly R., Tafacory F., Zhang L., Good L., Ure K., Kernie S.G., Birnbaum S.G., Scharfman H.E., Eisch A.J., Hsieh J. Aberrant hippocampal neurogenesis contributes to epilepsy and associated cognitive decline. Nat. Commun. 2015. 6: 6606.
- Colling S., Khana M., Collinge J., Jefferys J. Mossy fibre reorganization in the hippocampus of prion protein null mice. Brain Res. 1997. 755: 28–35.
- Cossart R., Dinocourt C., Hirsch J.C., Merchan-Perez A., De F.J., Ben-Ari Y., Esclapez M., Bernard C. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. Nat Neurosci. 2001. 4: 52–62.
- Coulter D.A., Carlson G.C. Functional regulation of the dentate gyrus by GABA-mediated inhibition. Prog Brain Res. 2007. 163: 235–243.

- Covolan L., Ribeiro L.T., Longo B.M., Mello L.E. Cell damage and neurogenesis in the dentate granule cell layer of adult rats after pilocarpine- or kainate-induced status epilepticus. Hippocampus. 2000. 10(2): 169–180.
- Cronin J., Obenaus A., Houser C.R., Dudek F.E. Electrophysiology of dentate granule cells after kainate-induced synaptic reorganization of the mossy fibers. Brain Res. 1992. 573(2): 305–310.
- Das A., Wallace G.C., Holmes C., McDowell M.L., Smith J.A., Marshall J.D., Bonilha L., Edwards J.C., Glazier S.S., Ray S.K., Banik N.L. Hippocampal tissue of patients with refractory temporal lobe epilepsy is associated with astrocyte activation, inflammation, and altered expression of channels and receptors. Neuroscience. 2012. 220: 237–246.
- Dashtipour K., Tran P.H., Okazaki M.M., Nadler J.V., Ribak C.E. Ultrastructural features and synaptic connections of hilar ectopic granule cells in the rat dentate gyrus are different from those of granule cells in the granule cell layer. Brain Res. 2001. 890: 261–271.
- de Lanerolle N.C., Brines M.L., Kim J.H., Williamson A., Philips M.F., Spencer D.D. Neurochemical remodeling of the hippocampus in human temporal lobe epilepsy. Ed. Engel J.Jr., Wasterlain C., Cavalheiro E.A., Heinemann U., Avanzini G. Epilepsy Res. (Suppl. 9). Amsterdam: Elsevier Science, 1992. 205–220 pp.
- Dengler C.G., Coulter D.A. Normal and epilepsy-associated pathologic function of the dentate gyrus. Prog Brain Res. 2016. 226: 155–78.
- *Dudek F.* Seizure-induced neurogenesis and epilepsy: involvement of ectopic granule cells? Epilepsy Curr. 2004. 4: 103–104.
- El Bahh B., Lespinet V., Lurton D., Coussemacq M., Le Gal La Salle G., Rougier A. Correlations between granule cell dispersion, mossy fiber sprouting, and hippocampal cell loss in temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 1999. 40: 1393–1401.
- Elmer E., Kokaia Z., Kokaia M., Lindvall O., McIntyre D. Mossy fibre sprouting: evidence against a facilitatory role in epileptogenesis. Neuroreport. 1997. 8: 1193–1196.
- Engel Jr.J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia. 2001. 42: 796–803.
- Gabriel S., Njunting M., Pomper J.K., Merschhemke M., Sanabria E.R.G., Eilers A., Kivi A., Zeller M., Meencke H.-J., Cavalheiro E.A., Heinemann U., Lehmann T.-N. Stimulus and potassium-induced epileptiform activity in the human dentate gyrus from patients with and without hippocampal sclerosis, J. Neurosci. 2004. 24: 10416–10430.
- Gilbert P.E., Kesner R.P., Lee I. Dissociating hippocampal subregions: double dissociation between

- dentate gyrus and CA1. Hippocampus. 2001. 11: 626–636.
- Gorter J., van Vliet E., Aronica E., Lopes da Silva F. Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatinimmunoreactive neurons. Eur. J. Neurosci. Biobehav. Rev. 2001. 13: 657–669.
- Haglid K.G., Wang S., Qiner Y., Hamberger A. Excitotoxicity. Experimental correlates to human epilepsy. Mol. Neurobiol. 1994. 9: 259–263.
- Harvey B.D., Sloviter R.S. Hippocampal granule cell activity and c-Fos expression during spontaneous seizures in awake, chronically epileptic, pilocarpine-treated rats: implications for hippocampal epileptogenesis. J Comp Neurol. 2005. 488: 442–463
- Heinemann U., Beck H., Dreier J.P., Ficker E., Stabel J., Zhang C.L. The dentate gyrus as a regulatedgate for the propagation of epileptiform activity. Epilepsy Res. 1992. Suppl 7: 273–280.
- Hendricks L., Chen Y., Bensen A., Westbrook G., Schnell E. Short-term depression of sprouted mossy fiber synapses from adult-born granule cells. J Neurosci. 2017. 37: 5722–5735.
- Heng K., Haney M., Buckmaster P. High-dose rapamycin blocks mossy fiber sprouting but not seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 2013. 54: 1535–1541.
- Hester M.S., Danzer S.C. Accumulation of abnormal adult-generated hippocampal granule cells predicts seizure frequency and severity. *J Neurosci*. 2013. 33: 8926–8936.
- *Houser C.R.* Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. Brain Research. 1990. 535: 195–204.
- *Houser C.R.* Morphological changes in the dentate gyrus in human temporal lobe epilepsy. Epilepsy Res. 1992. Suppl 7: 223–234.
- Holtmaat A., Gorter J., De Wit J., Tolner E., Spijker S., Giger R., Lopes da Silva F.H., Verhaagen J. Transient downregulation of Sema3A mRNA in a rat model for temporal lobe epilepsy. A novel molecular event potentially contributing to mossy fiber sprouting. Exp Neurol. 2003. 182: 142–150.
- Hosford B.E., Liska J.P., Danzer S.C. Ablation of newly generated hippocampal granule cells has disease-modifying effects in epilepsy. J. Neurosci. 2016. 36 (43): 11013–11023.
- Hsu D. The dentate gyrus as a filter or gate: a look back and a look ahead. Prog Brain Res. 2007. 163: 601–613.
- *Ikegaya Y.* Abnormal targeting of developing hippocampal mossy fibers after epileptiform activities via L-type Ca²⁺ channel activation in vitro. J. Neurosci. 1999. 19: 802–812.
- Inostroza M., Brotons-Mas J.R., Laurent F., Cid E., de la Prida L.M. Specific impairment of "what-

- where-when" episodic-like memory in experimental models of temporal lobe epilepsy. J. Neurosci. 2013. 33: 17749–17762.
- Isokawa M., Levesque M.F., Babb T.L., Engel J.Jr. Single mossy fiber axonal systems of human dentate granule cells studied in hippocampal slices from patients with temporal lobe epilepsy. J. Neurosci. 1993. 13(4): 1511–1522.
- Jacobs J., LeVan P., Chander R., Hall J., Dubeau F., Gotman J. Interictal highfrequency oscillations (80–500Hz) are an indicator of seizure onset areas independent of spikes in the human epileptic brain. Epilepsia. 2008. 49: 1893–1907.
- Jacobs J., Banks S., Zelmann R., Zijlmans M., Jones-Gotman M., Gotman J. Spontaneous ripples in the hippocampus correlate with epileptogenicity and not memory function in patients with refractory epilepsy. Epilepsy Behav. 2016. 62: 258–266.
- Jakubs K., Nanobashvili A., Bonde S., Ekdahl C.T., Kokaia Z., Kokaia M., Lindvall O. Environment matters: synaptic properties of neurons born in the epileptic adult brain develop to reduce excitability. Neuron. 2006. 52: 1047–1059.
- *Jessberger S., Parent J.M.* Epilepsy and adult neurogenesis. Cold Spring Harb Perspect. Biol. 2015. 7: a020677.
- Jessberger S., Römer B., Babu H., Kempermann G. Seizures induce proliferation and dispersion of doublecortin-positive hippocampal progenitor cells. Exp Neurol 2005. 196: 342–351.
- Johnson A.M., Sugo E., Barreto D., Hiew C., Lawson J.A., Connolly A.M., Somerville E., Hasic E., Bye A.M., Cunningham A.M. The severity of gliosis in hippocampal sclerosis correlates with pre-operative seizure burden and outcome after temporal lobectomy. Molecular Neurobiology. 2016. 53: 5446–5456.
- Jung K.H., Chu K., Kim M., Jeong S.-W., Song Y.-M., Lee S.-T., Kim J.-Y., Lee S.K., Roh J.-K. Continuous cytosine-b-Darabinofuranoside infusion reduces ectopic granule cells in adult rat hippocampus with attenuation of spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus. Eur J Neurosci. 2004. 19: 3219–3226.
- Jung K.H., Chu K., Lee S.T., Kim J., Sinn D.I., Kim J.M., Park D.K., Lee J.J., Kim S.U., Kim M., Lee S.K., Roh J.K. Cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, inhibits the altered hippocampal neurogenesis with attenuation of spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus. Neurobiol. Dis. 2006. 23: 237–246.
- Frauscher B., von Ellenrieder N., Ferrari-Marinho T., Avoli M., Dubeau F., Gotman J. Facilitation of epileptic activity during sleep is mediated by high amplitude slow waves. Brain J. Neurol. 2015. 138: 1629–1641.
- Freund T.F., Buzsaki G. Interneurons of the hippocampus. Hippocampus. 1996. 4: 347–470.

- Kahn J.B., Port R.G., Yue C., Takano H., Coulter D.A. Circuit-based interventions in the dentate gyrus rescue epilepsy-associated cognitive dysfunction. Brain. 2019. 142 (9): 2705–2721.
- *Kelly T., Beck H.* Functional properties of granule cells with hilar basal dendrites in the epileptic dentate gyrus. Epilepsia. 2017. 58: 160–171.
- Kheirbek M.A., Drew L.J., Burghardt N.S., Costantini D.O., Tannenholz L., Ahmari S.E., Fenton A.A., Hen R. Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. Neuron. 2013. 77: 955–968.
- Kienzler F., Norwood B.A., Sloviter R.S. Hippocampal injury, atrophy, synaptic reorganization, and epileptogenesis after perforant pathway stimulation-induced status epilepticus in the mouse. J Comp Neurol. 2009. 515(2): 181–196.
- Koyama R., Yamada M.K., Fujisawa S., Katoh-Semba R., Matsuki N., Ikegaya Y. Brain-derived neurotrophic factor induces hyperexcitable reentrant circuits in the dentate gyrus. J Neurosci. 2004. 24: 7215–7224.
- *Kron M.M., Zhang H., Parent J.M.* The developmental stage of dentate granule cells dictates their contribution to seizure-induced plasticity. J. Neurosci. 2010. 30: 2051–2059.
- Krook-Magnuson E., Armstrong C., Bui A., Lew S., Oijala M., Soltesz I. In vivo evaluation of the dentate gate theory in epilepsy. J Physiol. 2015. 593(10): 2379–2388.
- Liu R., Lemieux L., Bell G., Sisodiya S., Bartlett P., Shorvon S., Sander J.W.A.S., Duncan J.S. Cerebral damage in epilepsy: a population-based longitudinal quantitative MRI study. Epilepsia. 2005. 46: 1482–1494.
- Longo B., Covolan L., Chadi G., Mello L. Sprouting of mossy fibers and the vacating of postsynaptic targets in the inner molecular layer of the dentate gyrus. Exp Neurol. 2003. 181: 57–67.
- Loscher W., Schmidt D. New horizons in the development of antiepileptic drugs: the search for new targets. Epilepsy Res. 2004. 60: 77–159.
- Lothman E., Bertram E. Epileptogenic effects of status epilepticus. Epilepsia. 1993. 34: 59–70.
- Lowenstein D.H. Structural reorganization of hippocampal networks caused by seizure activity. International Review of Neurobiology. 2001. 45: 209–236.
- Malheiros J., Paiva F., Longo B., Hamani C., Covolan L. Manganese-enhanced MRI: biological applications in neuroscience. Front Neurol. 2015. 6: 161.
- Mathern G.W., Babb T.L., Armstrong D.L. Hippocampal sclerosis. Epilepsy: a comprehensive textbook. Ed. Engel J.Jr., Pedley T.A. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997. 133–155 pp.
- Mathern G., Cifuentes F., Leite J., Pretorius J., Babb T. Hippocampal EEG excitability and chronic spontaneous seizures are associated with aberrant synaptic reorganization in the rat intrahippocampal

- kainate model. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1993. 87: 326–339.
- Mathern G.W., Pretorius J.K., Leite J.P., Kornblum H.I., Mendoz D., Lozada A., Bertram E.H. Hippocampal AMPA and NMDA mRNA Levels and Subunit Immunoreactivity in Human Temporal Lobe Epilepsy Patients and a Rodent Model of Chronic Mesial Limbic Epilepsy. Epilepsy Res. 1998. 32: 154–171.
- *McNamara J.* Cellular and molecular basis of epilepsy. J Neurosci. 1994. 14: 3413–3425.
- *Mello L., Covolan L.* Neuronal injury and progressive cell damage. Encyclopedia of Basic Epilepsy Research. Ed. Schwartzkroin P.A. London: Academic Press, 2009. 125–128 pp.
- Mello L., Cavalheiro E., Tan A., Pretorius J., Babb T., Finch D. Granule cell dispersion in relation to mossy fiber sprouting, hippocampal cell loss, silent period and seizure frequency in the pilocarpine model of epilepsy. Epilepsy Res. 1992. 9: 51–59.
- Mitsueda-Ono T., Ikeda A., Sawamoto N., Aso T., Hanakawa T., Kinoshita M., Matsumoto R., Mikuni N., Amano S., Fukuyama H., Takahashi R. Internal structural changes in the hippocampus observed on 3-tesla MRI in patients with mesial temporal lobe epilepsy. Intern Med. 2013. 52: 877–885.
- Morimoto K., Fahnestock M., Racine R.J. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog. Neurobiol. 2004. 73: 1–60.
- Myers C.E., Bermudez-Hernandez K., Scharfman H.E. The influence of ectopic migration of granule cells into the hilus on dentate gyrus-CA3 function. PLoS ONE. 2013. 8: e68208.
- Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W. Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with kainic acid. Brain Res. 1980. 182: 1–9.
- *Nadler J.V.* The recurrent mossy fiber pathway of the epileptic brain. Neurochem Res. 2003. 28: 1649–1658.
- Nairismägi J., Pitkänen A., Narkilahti S., Huttunen J., Kauppinen R., Gröhn O. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging of mossy fiber plasticity in vivo. Neuroimage. 2006. 30: 130–5.
- Nakashiba T., Cushman J.D., Pelkey K.A., Renaudineau S., Buhl D.L., McHugh T.J., Rodriguez Barrera V., Chittajallu R., Iwamoto K.S., McBain C.J., Fanselow M.S., Tonegawa S. Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion. Cell. 2012.149: 188–201.
- Nissinen J., Lukasiuk K., Pitkänen A. Is mossy fiber sprouting present at the time of the first spontaneous seizures in rat experimental temporal lobe epilepsy? Hippocampus. 2001. 11: 299–310.
- Obenaus A., Esclapez M., Houser C.R. Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-in-

- duced seizures. J. Neurosci. 1993. 13(10): 4470–4485.
- Olney J.W. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. Science. 1969. 164: 719–721.
- Parent J.M., Elliott R.C., Pleasure S.J., Barbaro N.M., Lowenstein D.H. Aberrant seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy. Annals of Neurology. 2006. 59: 81–91.
- Parent J.M., Tada E., Fike J.R., Lowenstein DH. Inhibition of dentate granule cell neurogenesis with brain irradiation does not prevent seizure-induced mossy fiber synaptic reorganization in the rat. J. Neurosci. 1999. 19: 4508–4519.
- Parent J., Yu T., Leibowitz R., Geschwind D., Sloviter R., Lowenstein D. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. J Neurosci. 1997. 17: 3727–3738.
- Pekcec A., Lupke M., Baumann R., Seifert H., Potschka H. Modulation of neurogenesis by targeted hippocampal irradiation fails to affect kindling progression. Hippocampus. 2011. 21: 866–876.
- Pierce J., Melton J., Punsoni M., McCloskey D., Scharfman H. Mossy fibers are the primary source of afferent input to ectopic granule cells that are born after pilocarpine-induced seizures. Exp Neurol. 2005. 196: 316–331.
- Pierce J., Punsoni M., McCloskey D., Scharfman H. Mossy cell axon synaptic contacts on ectopic granule cells that are born following pilocarpine-induced seizures. Neurosci Lett. 2007. 422: 136—140.
- Polli R., Malheiros J., Dos Santos R., Hamani C., Longo B., Tannús A., Mello L.E., Covolan L. Changes in hippocampal volume are correlated with cell loss but not with seizure frequency in two chronic models of temporal lobe epilepsy. Front Neurol. 2014. 5: 111.
- Pun R.Y., Rolle I.J., Lasarge C.L., Hosford B.E., Rosen J.M., Uhl J.D., Schmeltzer S.N., Faulkner C., Bronson S.L., Murphy B.L., Richards D.A., Holland K.D., Danzer S.C. Excessive activation of mTOR in postnatally generated granule cells is sufficient to cause epilepsy. Neuron. 2012. 75: 1022–1034.
- Raedt R., Boon P., Persson A., Alborn A.-M., Boterberg T., Van Dycke A., Linder B., Smedt T.D., Wadman W.J., Ben-Menachem E., Eriksson P.S. Radiation of the rat brain suppresses seizure-induced neurogenesis and transiently enhances excitability during kindling acquisition. Epilepsia. 2007. 48: 1952–1963.
- Ratzliff A.H., Howard A.L., Santhakumar V., Osapay I., Soltesz I. Rapid Deletion of Mossy Cells Does Not Result in a Hyperexcitable Dentate Gyrus: Implications for Epileptogenesis. J. Neurosci. 2004. 24(9): 2259–2269.

- Ratzliff A.H., Santhakumar V., Howard A., Soltesz I. Mossy cells in epilepsy: Rigor mortis or vigor mortis? Trends. Neurosci. 2002. 25: 140–144.
- Ren E., Curia G. Synaptic Reshaping and Neuronal Outcomes in the Temporal Lobe Epilepsy. Int J. Mol. Sci. 2021. 22(8): 3860.
- Represa A., Jorquera I., Le Gal La Salle G., Ben-Ari Y. Epilepsy induced collateral sprouting of hippocampal mossy fibers: does it induce the development of ectopic synapses with granule cell dendrites? Hippocampus. 1993. 3(3): 257–268.
- Reyes-Garcia S.Z., Scorza C.A, Araújo N.S., Ortiz-Villatoro N.N., Jardim A., Centeno R., Targas Y.E.M., Faber J., Cavalheiro E.A. Different patterns of epileptiform-like activity are generated in the sclerotic hippocampus from patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy. Sci Rep. 2018. 8: 7116.
- Ribak C.E., Shapiro L.A., Yan X.-X., Dashtipour K., Nadler J.V., Obenaus A., Spigelman I., Buckmaster P.S. Seizure-induced formation of basal dendrites on granule cells of the rodent dentate gyrus. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. Eds.: Noebels J.L., Avoli M., Rogawski M.A., Olsen R.W., Delgado-Escueta A.V. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2012.
- Roth B.L. DREADDs for neuroscientists. Neuron. 2016. 89(4): 683–694.
- Viscomi M.T., Oddi S., Latini L. et al. The endocannabinoid system: A new entry in remote cell death mechanisms. Exp. Neurol. 2010. 224: 56–65.
- Sanchez R., Ribak C., Shapiro L. Synaptic connections of hilar basal dendrites of dentate granule cells in a neonatal hypoxia model of epilepsy. Epilepsia. 2012. 53: 98–108.
- Santhakumar V., Bender R., Frotscher M., Ross S.T., Hollrigel G.S., Toth Z., Soltesz I. Granule cell hyperexcitability in the early post-traumatic rat dentate gyrus: the 'irritable mossy cell' hypothesis. J. Physiol. 2000. 524(1): 117–134.
- Scharfman H.E. The role of nonprincipal cells in dentate gyrus excitability and its relevance to animal models of epilepsy and temporal lobe epilepsy. Adv. Neurol. 1999. 79: 805–820.
- Scharfman H.E. Epilepsy as an example of neural plasticity. Neuroscientist. 2002. 8: 154–173.
- Scharfman H.E. Synaptic Plasticity and Transsynaptic Signalling. Stanton P.K., Bramham C.R., Scharfman H.E., editors. Springer. 2005. pp. 201–220.
- Scharfman H., Goodman J., McCloskey D. Ectopic granule cells of the rat dentate gyrus. Dev Neurosci. 2007. 29: 14–27.
- Scharfman H.E., Goodman J.H., Sollas A.L. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced neurogenesis. J. Neurosci. 2000. 20: 6144–6158.

- Scharfman H.E., Myers C.E. Hilar mossy cells of the dentate gyrus: a historical perspective. Front Neural Circuits. 2012. 6: 106.
- Scharfman H.E., Pierce J.P. New insights into the role of hilar ectopic granule cells in the dentate gyrus based on quantitative anatomic analysis and three-dimensional reconstruction. Epilepsia. 2012. 53(Suppl 1): 98–108.
- Schmeiser B., Li J., Brandt A., Zentner J., Doostkam S., Freiman T. Different mossy fiber sprouting patterns in ILAE hippocampal sclerosis types. Epilepsy Res. 2017. 136: 115–122.
- Shibata K., Nakahara S., Shimizu E., Yamashita T., Matsuki N., Koyama R. Repulsive guidance molecule a regulates hippocampal mossy fiber branching in vitro. Neuroreport. 2013. 24: 609–615.
- Scott B., Wojtowicz J., Burnham W. Neurogenesis in the dentate gyrus of the rat following electroconvulsive shock seizures. Exp Neurol. 2000. 165: 231–236.
- Shapiro L.A., Figueroa-Aragon S., Ribak C.E. Newly generated granule cells show rapid neuroplastic changes in the adult rat dentate gyrus during the first five days following pilocarpine-induced seizures. Eur J Neurosci. 2007. 26(3): 583–592.
- Sloviter R. Decreased hippocampal inhibition and selective loss of interneurons in experimental epilepsy. Science. 1987. 235: 73–76.
- Sloviter R.S. Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo. Hippocampus, 1991a. 1: 31–40.
- Sloviter R.S. Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the "dormant basket cell" hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. Hippocampus. 1991b. 1: 41–66.
- Sloviter R.S. The functional organization of the hippocampal dentate gyrus and its relevance to the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. Ann Neurol. 1994. 35: 640–654.
- Sloviter R.S. Status epilepticus-induced neuronal injury and network reorganization. Epilepsia. 1999. 40. Suppl 1: S34-9, discussion S40-1.
- Sloviter R., Bumanglag A., Schwarcz R., Frotscher M. Abnormal dentate gyrus network circuitry in temporal lobe epilepsy. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. Eds.: Noebels J.L., Avoli M., Rogawski M.A., Olsen R.W., Delgado-Escueta A.V. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2012.
- Song M.Y., Tian F.F., Wang Y.Z., Huang X., Guo J.L., Ding D.X. Potential roles of the RGMa-FAK-Ras pathway in hippocampal mossy fiber sprouting in the pentylenetetrazole kindling model. Mol Med Rep. 2015. 11: 1738–1744.

- Song I., Orosz I., Chervoneva I., Waldman Z.J., Fried I., Wu C., Sharan A., Salamon N., Gorniak R., Dewar S., Bragin A., Engel J., Sperling M.R., Staba R., Weiss S.A. Bimodal coupling of ripples and slower oscillations during sleep in patients with focal epilepsy. Epilepsia. 2017. 58: 1972–1984
- Staba R.J., Wilson C.L., Bragin A., Fried I., Engel Jr.J. Quantitative analysis of high-frequency oscillations (80–500 Hz) recorded in human epileptic hippocampus and entorhinal cortex. J Neurophysiol. 2002. 88: 1743–1752.
- Spigelman I., Yan X., Obenaus A., Lee E., Wasterlain C., Ribak C. Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. Neuroscience. 1998. 86: 109–120.
- Sun C., Mtchedlishvili Z., Bertram E.H., Erisir A., Kapur J. Selective loss of dentate hilar interneurons contributes to reduced synaptic inhibition of granule cells in an electrical stimulation-based animal model of temporal lobe epilepsy. J. Comp Neurol. 2007. 500: 876–893.
- Sutula T.P., Dudek F.E. Unmasking recurrent excitation generated by mossy fiber sprouting in the epileptic dentate gyrus: an emergent property of a complex system. Prog. Brain Res. 2007. 163: 541–563.
- Sutula T., Cascino G., Cavazos J., Parada I., Ramirez L. Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. Annals of Neurology. 1989. 26: 321–330.
- Tamagnone L., Comoglio P. Signalling by semaphorin receptors: cell guidance and beyond. Trends Cell Biol. 2000. 10: 377–383.
- *Tauck D, Nadler J.* Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. J Neurosci. (1985) 5: 1016–22.
- Thind K.K., Ribak C.E, Buckmaster P.S. Synaptic input to dentate granule cell basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. J. Comp. Neurol. 2008. 509: 190–202.
- Tong X., Tong X., Peng Z., Zhang N., Cetina Y., Huang C.S., Wallner M., Otis, T. S., Houser C.R. Ectopic expression of α6 and δ GABAA receptor subunits in hilar somatostatin neurons increases tonic inhibition and alters network activity in the dentate gyrus. J. Neurosci. 2015. 35: 16142–16158.
- *Tulving E.* Episodic memory: from mind to brain. Annu. Rev. Psychol. 2002. 53: 1–25.
- Van Paesschen W., Revesz T., Duncan J.S., King M.D., Connelly A. Quantitative neuropathology and quantitative magnetic resonance imaging of the hippocampus in temporal lobe epilepsy. Annals of Neurology. 1997. 42: 756–766.
- von Ellenrieder N., Frauscher B., Dubeau F., Gotman J. Interaction with slow waves during sleep improves discrimination of physiologic and pathologic

- high-frequency oscillations (80–500Hz). Epilepsia. 2016. 57: 869–878.
- Walter C., Murphy B.L., Pun R.Y., Spieles-Engemann A.L., Danzer S.C. Pilocarpine-induced seizures cause selective time-dependent changes to adult-generated hippocampal dentate granule cells. J. Neurosci. 2007. 27: 7541–7552.
- Weiss S.A., Song I., Leng M., Pastore T., Slezak D., Waldman Z., Orosz I., Gorniak R., Donmez M., Sharan A., Wu C., Fried I., Sperling M.R., Bragin A., Engel, Jr. J., Nir Y., Staba R. Ripples Have Distinct Spectral Properties and Phase-Amplitude Coupling With Slow Waves, but Indistinct Unit Firing, in Human Epileptogenic Hippocampus. Front Neurol. 2020. 11: 174.
- Wittner L., Maglóczky Z., Borhegyi Z., Halász P., Tóth S., Eross L., Szabó Z., Freund T.F. Preservation of perisomatic inhibitory input of granule cells in the epileptic human dentate gyrus. Neuroscience. 2001. 108: 587–600.
- Wuarin J.P., Dudek F.E. Excitatory synaptic input to granule cells increases with time after kainate treatment. J. Neurophysiol. 2001. 85(3): 1067–1077.
- Ueda Y., Doi T., Tsuru N., Tokumaru J., Mitsuyama Y. Expression of glutamate transporters and ionotropic glutamate receptors in GLAST knockout

- mice. Brain Res. Mol. Brain Res. 2002. 104(2): 120–126.
- Zhan R.Z., Timofeeva O., Nadler J. V. High ratio of synaptic excitation to synaptic inhibition in hilar ectopic granule cells of pilocarpine-treated rats. J. Neurophysiol. 2010. 104: 3293–3304.
- Zhang Y., Xiong T., Tan B., Song Y., Li S., Yang L., Li Y.-C. Pilocarpineinduced epilepsy is associated with actin cytoskeleton reorganization in the mossy fiber-CA3 synapses. Epilepsy Res. 2014. 108: 379—389.
- Zeng L.H., Rensing N.R., Wong M. The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. J. Neurosci. 2009. 29: 6964–6972.
- Zimmer J. Changes in the Timm sulfide silver staining patter of the rat hippocampus and fascia dentata following early postnatal deaferentiation. Brain Res. 1973, 64: 313–326.
- Zimmer J. Long-term synaptic reorganization in rat fascia dentate deafferented at adolescent and adult stages: observations with the Timm method. Brain Res. 1974. 76: 336–342.
- Yamawaki R., Thind K., Buckmaster P.S. Blockade of excitatory synaptogenesis with proximal dendrites of dentate granule cells following rapamycin treatment in a mouse model of temporal lobe epilepsy. J. Comp Neurol. 2015. 523: 281–297.

THE ROLE OF THE DENTATE GYRUS IN THE IMPLEMENTATION OF THE HIPPOCAMPAL FUNCTIONS: EPILEPTIC BRAIN

V. F. Kitchigina^{a, #}, L. V. Shubina^a, I. Yu. Popova^a

^aInstitute of Theoretical and Experimental Biophysics Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia [#]e-mail: vkitchigina@gmail.com

Temporal lobe epilepsy (TLE) is characterized by loss of cells in the hippocampus, often leading to sclerosis, subsequent reorganization of the hippocampal network, and deficits in declarative memory. Despite the huge amount of experimental, preclinical and clinical studies, there is still a limited understanding of the main mechanisms underlying the development of TLE. There is an assumption that namely the dentate gyrus (DG) plays a main role in the mechanisms of the development of TLE. It is believed that during TLE development, the protective function of the DG, based on the low excitability of granular neurons is disturbed. In patients with temporal lobe epilepsy, a loss of mossy cells was found in the hilus of the DG. The vulnerability of mossy cells is considered a critical factor in the development of TLE: these neurons normally behave as circuit breakers, and their death disrupts the natural neural network, leading to the appearance of pathological activity. The proposed work examines the morphological and functional properties of DG in the epileptic brain, as well as the role of neurogenesis mossy fibers sprouting in the development of TLE. Impairment of cognitive functions of the hippocampus due to the loss of the dentate gyrus of its protective role is also under consideration. Special attention is paid to unresolved issues in these aspects.

Keywords: dentate gyrus, temporal lobe epilepsy, seizure activity, status epilepticus, hyperactivation, mossy cells, protective function, sprouting of mossy fibers, neurogenesis, ripple oscillations

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ) ______ ЛЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УЛК 57.024.159.91

СКОРОСТЬ ОБРАБОТКИ ГИППОКАМПОМ КОНТЕКСТУАЛЬНОЙ ИНФОРМАЦИИ СВЯЗАНА С ЕЕ КОНГРУЭНТНОСТЬЮ РАНЕЕ СФОРМИРОВАННЫМ СХЕМАМ

© 2022 г. А. Н. Воробьева^{1, 2, *}, Т. Феделе², Э. Ф. Павоне³, Й. Зарнтайн⁴, Л. Имбах⁵, М. Феурра^{1, 2}

¹Центр нейроэкономики и когнитивных исследований, Институт когнитивных нейронаук, Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики", Москва, Россия ²Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики", Москва, Россия ³Braintrends Ltd., Рим, Италия

⁴Университетский госпиталь Цюриха, Цюрих, Швейцария
⁵Цюрихский университет, Цюрих, Швейцария
*e-mail: alicianunez.v@gmail.com
Поступила в редакцию 16.07.2021 г.
После доработки 17.12.2021 г.
Принята к публикации 20.12.2021 г.

Одним из важнейших механизмов, обеспечивающих гибкую регуляцию поведения, является способность сличать и интегрировать имеющуюся у субъекта информацию о мире с информацией, постоянно поступающей извне. В настоящей работе мы с помощью стерео-электроэнцефалографии регистрировали гиппокампальный локальный полевой потенциал у испытуемых, выполнявших задачу на оценку конгруэнтности пар стимулов "предмет—контекст". Мы показали, что гиппокамп вовлечен в обработку информации о конгруэнтности предмета контексту. Обработка информации, конгруэнтной сформированному ранее семантическому знанию, сопровождается более ранней активацией гиппокампа по сравнению с обработкой информации, требующей установления новых ассоциативных связей.

Ключевые слова: стереоэлектроэнцефалография, вызванный ответ, локальный полевой потенциал, контекст, ассоциативное научение, конгруэнтность, предсказуемая неоднозначность, гиппокамп

DOI: 10.31857/S0044467722030108

ВВЕДЕНИЕ

Семантическое знание, представленное различными структурами, такими как схемы. закономерности, образы, сценарии типичных ситуаций и др. (Ghosh, Gilboa, 2014; Gilboa, Marlatte, 2017), формируется путем обобщения множества эпизодов. С другой стороны, эпизодическая память как конструктивный процесс опирается на семантические структуры, играющие роль опор для кодирования информации, консолидации и целенаправленного припоминания (Anderson, 2018; Bartlett, Burt, 1933; Fernández, Morris, 2018; Пиаже, 2003). Согласно теории, предложенной van Kesteren, конгруэнтность входящей информации сформированному ранее семантическому знанию способствует ее обработке; это выражается в более эффективном запоминании, консолидации и воспроизведении информации (Frank et al., 2018; van Kesteren et al., 2012). В свою очередь, реактивация может изменять нейронные корреляты эпизодических воспоминаний, при этом сами воспоминания становятся более схематичными и стереотипными (van der Linden et al., 2017; Nadel et al., 2007). Таким образом, системы семантической и эпизодической памяти находятся в постоянном реципрокном динамическом взаимодействии.

Современные теории организации памяти, в противовес теории множественных систем, основываются на представлениях об ассоциативном научении в том смысле, что декларативная память вообще связана с установлением взаимосвязей между репрезентациями (Morris, 2006). В последнее время идут споры о механизмах формирования ас-

социаций. Известно, что гиппокамп связан с памятью вообще и формированием ассоциаций в частности (Eichenbaum, 2017; Tonegawa et al., 2018; Ивашкина и др., 2020). С другой стороны, есть многочисленные свидетельства того, что формирование простых конъюнкций не требует участия гиппокампа, как у человека, так и у животных. Действительно, еще Корсаковым, а впоследствии и Milner было замечено, что пациенты с поражениями гиппокампа способны формировать простые ассоциации (Milner et al., 1968; Корсаков, 1998). Morris, основываясь на многочисленных исследованиях на животных моделях. высказывает предположение, что участие гиппокампа необходимо при взаимодействии с ситуациями "предсказуемой неоднозначности", то есть случаев, когда один и тот же стимул стабильно имеет различные значения в зависимости от контекста, причем его участие не ограничивается процессами научения, но включает в себя также модуляцию процессов внимания, регуляции поведения и стратегического поиска информации в памяти (Morris, 2006).

Однако результаты, полученные на животных моделях, не позволяют делать выводы об устройстве памяти человека в связи с ее специфическими особенностями. Различия в организации памяти человека и животных связаны с особенностями их эволюционного развития (Murray et al., 2018) и обнаруживаются как на физиологическом (Mohan et al., 2015; Molnár et al., 2008; Strange et al., 2014), так и на психологическом уровнях: для эпизодической памяти человека, в отличие от квазиэпизодической памяти животных, характерны языковая организация (Леонтьев, 2003) и автопоэзис (Tulving, 1972). Основные источники данных о функциях гиппокампа у человека — нейропсихологические исследования гиппокампальных поражений и нейровизуализационные исследования — имеют ряд ограничений. Метод СЭЭГ имеет миллиметровое пространственное и миллисекундное временное разрешение в отличие от таких распространенных методов нейровизуализации, как электро/магнитоэнцефалография (ЭЭГ/МЭГ) и функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ), имеющих ограниченное пространственное либо временное разрешение соответственно. В отличие от фМРТ, фиксирующей гемодинамические изменения в мозге, вызванные нейронной активностью, метод СЭЭГ регистрирует непосредственные изменения самой этой активности (Buzsáki et al., 2012). В свою очередь, по сравнению со скальповой ЭЭГ и МЭГ, СЭЭГ обладает более высоким соотношением сигнала и шума и позволяет с высокой точностью локализовать источники регистрируемой активности. Таким образом, СЭЭГ частично снимает ограничения неинвазивных методов, позволяя получать высокоточные данные о пространственно-временной линамике нейронной активности. В последнее время существенный вклад в понимание этих функций вносят исследования, выполненные с помощью метода стереотаксической электроэнцефалографии (CΘΘΓ) (Parvizi, Kastner, 2018; Youngerman et al., 2019). Данный метод предполагает участие пациентов с имплантированными стереотаксическими электродами в рамках терапии или предоперационного обследования по поводу различных неврологических заболеваний. Этот метод позволяет регистрировать активность глубинных структур мозга (таких как гиппокамп, миндалевидное тело, прилежащее ядро и др.) с высоким временным и пространственным разрешением, недоступным при помощи других методов.

Настоящее исследование нацелено на уточнение особенностей такой важной функции гиппокампа человека, как установление взаимоотношений между репрезентациями объектов (процесс, связанный с обработкой воспринимаемых здесь и сейчас стимулов) на основе их контекстуальной близости (то есть основанной на ранее сформированных знаниях). Мы предположили, что гиппокампальный вызванный ответ (ВО) при обработке существующих, знакомых человеку ассоциаций, будет отличаться от случаев, когда ассоциацию требуется установить впервые.

МЕТОДИКА

Участники исследования

В исследовании приняли участие 6 немецкоязычных пациентов (5 женщин, средний возраст — 31 год, все правши), проходящих суточный инвазивный СЭЭГ-мониторинг. Исследование проводилось до хирургического вмешательства по поводу фармакорезистентной эпилепсии, в результате которой в ряде случаев производится резекция гиппокампа. СЭЭГ-мониторинг и сбор данных осуществлялись в Университетском госпитале Цюриха, Швейцария. В ходе предоперационного СЭЭГ-мониторинга пациенты получали леветирацетам, ламотриджин, бриварацетам и лакосамид в дозировках, определенных леча-

щим врачом. Все пациенты проходили детальное до- и послеоперационное нейропсихологическое обследование, включавшее в том числе оценку общих когнитивных способностей (IQ), внимания и когнитивного контроля (тестов Go/NoGo и Струпа), а также памяти (тесты вербального (VLMT) и зрительного (RDVLT) научения) и речевой продукции. Для участия в исследовании были отобраны только те пациенты, чей уровень по всем измеренным нейропсихологическим показателям был средним или выше среднего.

Регистрация СЭЭГ осуществлялась при помощи записывающей системы ATLAS (Neuralynx, www.neuralynx.com) с частотой дискретизации 4 кГц и встроенным полосовым фильтром 0.5–1000 Гц с использованием СЭЭГ-электродов AD-Tech (AD-Tech, www.adtechmedical.com) диаметром 1.3 мм. На каждом электроде были расположены 8 записывающих контактов длиной 1.6 мм. Расположение электродов определялось путем сопоставления предоперационного МРТ-изображения с постоперационным КТ-изображением и вручную размечалось хирургом в нативном пространстве MPT-изображения пациента (iPlan Stereotaxy 3.0, Brainlab, Germany). Для настоящего исследования были отобраны только электроды, находящиеся в гиппокампе (всего 25 контактов, расположенных на 13 электродах, см. рис. 1 (а) и 1 (б)). Пример расположения стереотаксического электрода показан на рис. 1 (в). Все пациенты имели нормальное или скорректированное зрение и подписали информированное согласие на участие в исследовании, протокол которого был одобрен локальным этическим комитетом (номер протокола РВ 2016-02055).

Дизайн и процедура исследования

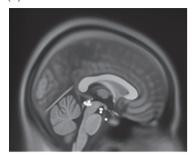
В исследовании использовалась видоизмененная экспериментальная модель, спланированная и использованная в исследовании van Kesteren и соавт. (2013), которые также

любезно предоставили набор стимулов для эксперимента. Набор состоял из 185 пар картинок ("предмет-контекст"). Каждая пара картинок была уникальной, то есть предъявлялась испытуемому только один раз. Пары были составлены таким образом, что 10% из них были "конгруэнтными" (например, "книга—библиотека"), 80% — "средней конгруэнтности" (например, "беруши—гостиная") и 10% — "неконгруэнтными" (например, "мяч—лаборатория").

Участники получали инструкцию оценить набор пар "предмет-контекст" по степени их "конгруэнтности": "насколько хорошо этот предмет подходит к контексту; насколько вероятно увидеть такой предмет в таком контексте в реальной жизни"? В ходе каждой пробы испытуемому предъявлялись фиксационный крест на 350 мс, затем пустой экран в течение 100 мс. После этого одновременно предъявлялась пара картинок ("предметконтекст") на 2500 мс. Затем после предъявления пустого экрана в течение еще 100 мс предъявлялась зрительная аналоговая шкала, по которой испытуемые при помощи компьютерной мыши должны были отметить конгруэнтность каждой пары от "совсем не подходит" до "очень хорошо подходит". Затем снова предъявлялся пустой экран в течение 1500 мс, после чего начиналась следуюшая проба. Зрительная аналоговая шкала представляла собой 100-балльную шкалу, зрительно воспринимавшуюся как непрерывная. Таким образом, испытуемый оценивал конгруэнтность каждой пары по 100балльной шкале. Далее все пары стимулов были распределены по трем группам, согласно ответам испытуемых: "Неконгруэнтные" оценкой от 0 до 33 баллов), "Средние" (от 34 до 66 баллов) и "Конгруэнтные" (67–100 баллов). Предъявление стимулов и регистрация ответов испытуемых осуществлялась с помощью программы E-Prime 2.0.10.147 (Psychology Software Tools, Pittsburgh, PA). Дизайн поведенческой задачи показан на рис. 1 (г).

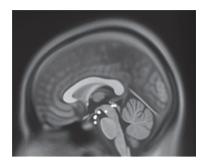
Рис. 1. (а) Контакты, вошедшие в анализ (n = 25) в левом и правом полушариях, нанесенные на шаблон MNI, в проекции на сагиттальный срез мозга. (б) Количество электродов и контактов, вошедших в анализ. (в) Пример расположения стереотаксического электрода на корональном срезе мозга. На рисунке показано постоперационное КТ-изображение мозга пациента, совмещенное с предоперационным МРТ-изображением. Контакты, расположенные в гиппокампе, обведены кружком. (г) Дизайн поведенческой задачи. **Fig. 1.** (а) Contacts selected for the analysis (n = 25) in the left and right hemispheres, mapped onto the MNI template, projected on the sagittal view. (б) Number of electrodes and contacts per patient selected for the analysis. (в) An example of a stereoEEG electrode position on the coronal brain view. The figure shows post-operative CT image co-registered to the pre-operative MRI image. Contacts localized in the hippocampus are marked with circle. (г) Behavioral task design.

(a)



(б)

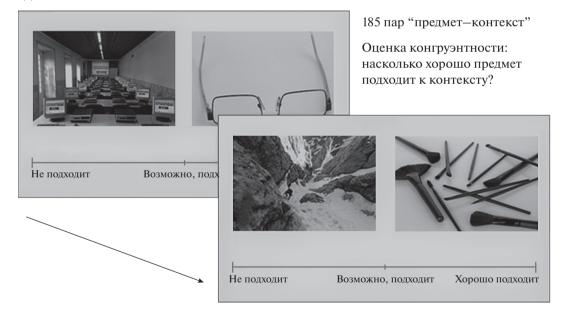
ID	№ электродов	№ контактов
1	2	2
2	5	8
3	2	5
4	1	2
5	2	3
6	3	5



(B)



(r)



Задача разработана van Kestern, Beul и др., 2013

+		Пустой	Предмет + контекст	Шкала ответа	Пустой	
		экран	KOHTEKCT	ответа	экран	
	350	100	2500	до ответа	1500	
	MC	мс	MC	до ответа	MC	

Обработка данных

Статистическая обработка поведенческих и СЭЭГ-данных выполнялась в среде программирования MatLab (версия R2017b) с использованием оригинальных скриптов и специализированных тулбоксов, находящихся в открытом доступе. Для проверки гипотезы о том, что 3 группы стимулов ("Конгруэнтные", "Средние" и "Неконгруэнтные") не различаются значимо по их количеству, использовался однофакторный дисперсионный анализ с фактором "Конгруэнтность". Предварительная обработка СЭЭГ выполнялась с помощью тулбокса Brainstorm, версия 21-Jun-2021 (Tadel et al., 2011) (http://neuroimage.usc.edu/brainstorm). Частота дискретизации исходного сигнала была понижена до 200 Гц с помощью алгоритма каскадного ресэмплинга (resample-cascade). При записи общий референтный электрод располагался в белом веществе головного мозга. При последующем анализе в качестве референтного использовался общий усредненный потенциал от всех отведений. Далее СЭЭГ-данные проверялись визуально на наличие эпилептических разрядов и других артефактов, вызванных электростатическими разрядами, наводкой от медицинского или другого оборудования, а также движениями пациента (например, при смене позы или положения головы), при которых нарушался контакт электродов с входной коробкой электроэнцефалографа. Пробы и каналы, содержащие артефакты, были исключены из дальнейшего анализа, в окончательный анализ вошли 25 каналов и 73% проб. Затем запись была разбита на привязанные к стимулу эпохи от -2000 до 3000 мс с момента предъявления стимула. Пробы, записанные с каждого отведения каждого пациента, были объединены и включены в дальнейший анализ как принадлежащие одному "псевдопациенту".

Дальнейший анализ СЭЭГ-данных выполняли в тулбоксе FieldTrip (Oostenveld et al., 2011; http://fieldtriptoolbox.org). Значения амплитуд локального полевого потенциала в пробах, соответствующих каждому экспериментальному условию, скорректировали на среднюю величину предстимульной активности (от —1500 до —100 мс) и усреднили в диапазоне от 0 до 2000 мс от предъявления стимула. Для расчета ВО использовали абсолютные значения амплитуд, так как при объединении данных от нескольких испытуемых невозможно установить положение источника сигнала по отношению к каждому из

контактов. Выбор временного окна в 2000 мс был сделан, чтобы зарегистрировать как ранние, так и поздние гиппокампальные компоненты BO, описанные в предыдущих исследованиях (Staresina et al., 2012). Для попарных сравнений между экспериментальными условиями использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Для выявления значимых различий между экспериментальными условиями применялся метод Монте-Карло с 500 пермутациями. Уровень значимости для всех тестов составлял p < 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведенческие результаты

Однофакторный дисперсионный анализ с фактором "Конгруэнтность" не выявил значимых различий в количестве стимулов, отнесенных испытуемыми к каждой из трех категорий: F(2,15) = 0.87, p > 0.05. Однофакторный дисперсионный анализ с фактором "Конгруэнтность" не выявил значимых различий в количестве стимулов, вошедших в анализ после препроцессинга, в каждой из трех категорий: F(2,15) = 1.43, p > 0.05. Количество проб в каждой категории, полученное после совмещения данных всех испытуемых, а также количество проб, вошедших в анализ после препроцессинга, показаны на рис. 2 (а).

Вызванные ответы

Непараметрический пермутационный тест показал наличие значимых различий между абсолютными величинами амплитуд вызванного ответа при восприятии "Конгруэнтных" стимулов по сравнению со "Средними" и "Неконгруэнтными' между 750 и 900 мс после предъявления стимулов, причем амплитуда сигнала в двух последних экспериментальных условиях ("Неконгруэнтные" "Средние") была значимо выше, чем в первом ("Конгруэнтные"). Формы сигнала и стандартные ошибки среднего для каждого экспериментального условия, а также временные интервалы, в которых обнаружены значимые различия между условиями, показаны на рис. 2 (б). При этом легко видеть, что пик вызванного ответа (около 500 мс) при обработке "конгруэнтных" пар "предмет-контекст" достигает максимального достигает максимального значения на 150 мс раньше, чем при обработке "средних" и "неконгруэнтных" пар. Таким образом, поздние компоненты ВО

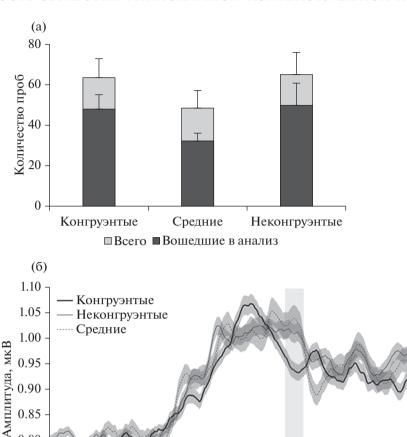


Рис. 2. (а) Среднее количество стимулов в трех группах по степени конгруэнтности, согласно ответам испытуемых. Планки погрешностей обозначают стандартную ошибку среднего (SEM). (б) Усредненные абсолютные значения амплитуд локального полевого потенциала для каждой группы стимулов. Сигнал сглажен с временным окном 100 мс. Затененные области вокруг кривых показывают стандартную ошибку среднего (SEM). Горизонтальные полосы под графиком показывают временные промежутки, в которых абсолютное значение амплитуды для "конгруэнтных" стимулов было значимо (p < 0.05) ниже амплитуды для "неконгруэнтных" и "средних" стимулов. На графике уровень предстимульной активности не равен нулю, так как используются усредненные абсолютные значения амплитуды.

0.5

Время, с

1.0

0

Fig. 2. (a) Mean number of stimuli in each of three congruency bins, according to the patients' responses. Error bars depict standard error of mean (SEM). (6) Mean rectified local field potential (LFP) in each congruency bin. The signal is smoothed with 100 ms time window. Shaded areas depict standard error of mean (SEM). Colored bars under the plot show time windows where the LFP amplitude for the congruent items was significantly lower than the one for incongruent and medium items. Note that pre-stimulus activity on the plot is above zero, since the signal was rectified.

имеют сходную форму, но различаются своей латентностью.

0.80

0.750.70

-1.0

-0.5

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе изучалась вызванная активность гиппокампа при обработке стимулов (пар "предмет-контекст") разной степени конгруэнтности. Исследование проводилось с помощью метода СЭЭГ, позволяю-

щего получать уникальные данные о гиппокампальной активности человека с высоким пространственным и временным разрешением. Насколько нам известно, в настоящем исследовании были впервые получены прямые электрофизиологические данные, свидетельствующие о вовлечении человеческого гиппокампа в обработку информации о конгруэнтности объекта контексту.

Неконгруэнтые > Конгруэнтые Средние > Конгруэнтые

1.5

2.0

Ключевая роль гиппокампа в формировании ассоциативной памяти показана в многочисленных исследованиях как на животных моделях, так и на людях (Eichenbaum, 2017; Торопова и др., 2018). Считается, что повышение амплитуды вызванного ответа связано с локальной синхронизацией нейронной активности и отражает вовлеченность источника ланной активности в изучаемый сенсорный или когнитивный процесс (Köster et al., 2018; Luo, Guan, 2018; Xia, Hu, 2019). Поздние компоненты вызванного ответа для "конгруэнтных" пар "предмет-контекст" имеют значимо более низкую амплитуду, чем для "средних" и "неконгруэнтных" пар, в диапазоне от 750 до 900 мс.

Многочисленные исследования показывают, что когнитивная обработка информации начинается по меньшей мере уже после 300 мс (Cohen et al., 2007; Sutton et al., 1965; Yaple et al., 2018), хотя источники и механизмы возникновения этого компонента могут различаться (Li et al., 2019; Polich, 2007). Таким образом, время манифестации этих компонентов соответствует срокам сознательной обработки информации.

В одном из первых исследований ЭЭГкоррелятов обработки конгруэнтности информации было показано, что поздние компоненты ВО связаны с восприятием физически или семантически отклоняющейся информации, что, предположительно, отражает процесс ее повторной обработки (Kutas, Hillyard, 1980). Более современные исследования также указывают, что поздние негативные компоненты ВО связаны с обработкой и интеграцией сложной информации (Morett et al., 2020). Так, в исследовании Bermúdez-Margaretto и соавт. было показано, что амплитуда компонента N400 снижается в ходе повторных предъявлений псевдослов, ассоциированных с определенным значением (Bermúdez-Margaretto et al., 2018). Выраженность поздних позитивных компонентов также связана с повторным предъявлением уже знакомых стимулов в отличие от новых стимулов (Van Strien et al., 2005). Таким образом, можно сделать вывод о том, что "конгруэнтные" пары обрабатываются гиппокампом в ускоренном режиме, тогда как стимулы, предъявленные с непривычным контекстом и требующие установления новой ассоциативной связи, требуют и более длительного времени для обработки. Предположительно, эта обработка отражается в появлении устойчивой активности в диапазоне от 300 до 600 мс для "средних" и "неконгруэнтных" пар стимулов.

В исследовании van Kesteren и соавт. (2013) было показано, что обработка "конгруэнтных" пар стимулов сопровождается повышением BOLD-активности в медиальной префронтальной коре, тогда как активность гиппокампа связана с обработкой "неконгруэнтных" стимулов. Предполагается, что в то время как гиппокамп "вслепую" связывает признаки между собой, медиальная префронтальная кора, а также левая нижняя лобная и угловая извилины посредством нисходящего воздействия могут ускорять процесс формирования ассоциативных связей в гиппокампе, если они укладываются в уже существующие структуры семантического знания, такие как схемы (Davis et al., 2020; van der Linden et al., 2017; Vogel et al., 2018). Наконец, последующее устойчивое позлнее (в лиапазоне от 1000 мс до конца эпохи) отклонение сигнала, предположительно, связано с кодированием информации в эпизодическую память.

Эпизодическая система человека и квазиэпизодическая система животных включают память о вещах, которые имели место в конкретном, то есть достаточно сложном контексте (времени и пространстве) (Buzsáki, Llinás, 2017; Stark et al., 2018). Функция гиппокампа тесно связана с контекстуальной памятью, в частности с памятью на пространственный и временной контекст (Buzsáki, Tingley, 2018; Lisman et al., 2017). Примечательно, что пространственная навигация и формирование пространственной эпизодической памяти обеспечивается активностью различных участков гиппокампа (Miller et al., 2018; Strange et al., 2014). В связи с этим можно предположить, что гиппокамп вовлечен в формирование поля значений и оперирование системой сложных ассоциаций, связанных с той или иной репрезентацией. При этом сами репрезентации могут храниться в областях коры, прилежащих к гиппокампу (парагиппокампальной (Staresina et al., 2012), энторинальной (Staresina et al., 2019), периринальной (Staresina et al., 2013)). Таким образом обеспечивается распознавание информации, даже если она появляется в ситуации, отличной от той, где была встречена впервые. Предполагается, что роль гиппокампа в данном процессе – быстрое разделение сходных паттернов для повышения эффективности их последующей обработки корой головного мозга (O'Reilly, Rudy, 2001).

К ограничениям настоящего исследования относятся невысокий размер выборки, ее клинический статус и отсутствие анализа активности других областей мозга. Низкий размер выборки связан с ограниченным доступом к пациентам с имплантированными стереотаксическими электродами, a низкой пропускной способностью хирургических центров (Youngerman et al., 2019). При этом сигнал, который регистрируют интракраниальные электроды, обладает гораздо более высоким соотношением сигнала к шуму, чем скальповая ЭЭГ, что делает возможным проведение исследований на меньших выборках. Исследования, проведенные на выборках аналогичного размера, позволяют получать достоверные данные, верифицируемые при помощи других методов нейровизуализации, что подтверждается публикациями в ведущих международных научных изданиях (Axmacher et al., 2010; Axmacher et al., 2009; Cohen et al., 2007; Staresina et al., 2012; Staresina et al., 2013). Клинический статус испытуемых, в свою очередь, накладывает ряд ограничений на возможности интерпретации и экстраполяции данных. Однако, как указано выше, полученные нами результаты соотносятся с результатами других исследований, выполненных с применением методов нейровизуализации на человеке и инвазивных методов на животных моделях. Кроме того, интерпретацию вызванных ответов затрудняет отсутствие информации о полярности сигнала, поэтому при интерпретации этих данных приходится полагаться на латентность и различие в амплитуде компонентов ВО.

Наконец, еще одним из ограничений метода СЭЭГ является неполнота пространственного охвата мозга (Parvizi, Kastner, 2018). Это связано с установкой электродов в соответствии со схемой имплантации, определенной врачами в клинических целях. Одним из потенциальных направлений дальнейшей работы является проведение подобного исследования на выборке пациентов с более обширными схемами имплантации, что позволило бы не только оценить вовлеченность других областей мозга (в первую очередь прилежащих к гиппокампу участков медиальной височной коры, а также префронтальной и теменной коры), но и оценить временную динамику этой вовлеченности и функциональную связность между областями интереса. В тех же целях возможно проведение исследования с совместным использованием СЭЭГ и скальповой ЭЭГ. Кроме того,

такое исследование позволило бы сравнить результаты скальповой ЭЭГ, полученные на пациентах, с аналогичными данными здоровых испытуемых.

выводы

- 1. Прямая регистрация электрофизиологической активности гиппокампа человека указывает на вовлеченность гиппокампа в когнитивную обработку сложной контекстуальной информации, как конгруэнтной, так и неконгруэнтной ранее сформированному семантическому знанию.
- 2. Обработка информации, конгруэнтной сформированному ранее семантическому знанию, сопровождается более ранней активацией гиппокампа по сравнению с обработкой информации, требующей установления новых ассоциативных связей.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование было проведено с использованием уникальной научной установки НИУ ВШЭ "Автоматизированная система неинвазивной стимуляции мозга с возможностью синхронной регистрации биотоков мозга и отслеживания глазодвижения" при финансовой поддержке Российской Федерацией, грант № 075-15-2021-673.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ивашкина О.И., Торопова К.А., Рощина М.А., Анохин К.В. Формирование и извлечение ассоциативной памяти на комплексный сигнал у мышей: специфическое участие нейронов области СА1 гиппокампа. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 2020. 70 (3): 326—340.

Корсаков С.С. Медико-психологическое исследование одной формы болезни памяти. Психология памяти. Хрестоматия. Под ред. Гиппенрейтер Ю. Б., Романова В. Я. М.: ЧеРо, 1998. С. 62–75.

Леонтьев А. Н. Развитие памяти: экспериментальное исследование развития высших психологических функций. Становление психологии деятельности: Ранние работы. Под ред. Леонтьева А.А., Леонтьева Д.А., Соколовой Е.Е. М.: Смысл, 2003. С. 27—199.

Пиаже Ж. Психология интеллекта. СПб.: Питер, 2003 г. 78 с.

Торопова К.А., Трошев Д.В., Ивашкина О.И., Анохин К.В. Активация экспрессии с-fos в ретросплениальной коре, но не гиппокампе, сопровождает формирование ассоциации между обстановкой и безусловным стимулом и ее последующее извлечение у мышей. Журнал

- высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. 68 (6): 759—774.
- Anderson R.C. Role of the Reader's Schema in Comprehension, Learning, and Memory. Theoretical Models and Processes of Literacy. Ed. Alvermann D.E., Unrau N.J., Ruddell R.B. New York: Routledge, 2018. 136–145 pp.
- Axmacher N., Cohen M.X., Fell J., Haupt S., Dümpelmann M., Elger C.E., Schlaepfer T.E., Lenartz D., Sturm V., Ranganath C. Intracranial EEG Correlates of Expectancy and Memory Formation in the Human Hippocampus and Nucleus Accumbens. Neuron. 2010. 65 (4): 541–549.
- Axmacher N., Elger C.E., Fell J. Working memory-related hippocampal deactivation interferes with long-term memory formation. J. Neurosci. 2009. 29 (4): 1052–1060.
- Bartlett F.C., Burt C. Remembering: a study in experimental and social psychology. Br. J. Educ. Psychol. 1933. 3 (2): 187–192.
- Bermúdez-Margaretto B., Beltrán D., Cuetos F., Domínguez A. Brain signatures of new (pseudo-) words: Visual repetition in associative and non-associative contexts. Front. Hum. Neurosci. 2018. 12: 354.
- Buzsáki G., Anastassiou C.A., Koch C. The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. Nat. Rev. Neurosci. 2012. 13 (6): 407–420.
- Buzsáki G., Llinás R. Space and time in the brain. Science. 2017. 358 (6362): 482–485.
- Buzsáki G., Tingley D. Space and Time: The Hippocampus as a Sequence Generator. Trends Cogn. Sci. 2018. 22 (10): 853–869.
- Cohen M.X., Elger C.E., Ranganath C. Reward expectation modulates feedback-related negativity and EEG spectra. Neuroimage. 2007. 35 (2): 968–978.
- Davis C.P., Altmann G.T.M., Yee E. Situational systematicity: A role for schema in understanding the differences between abstract and concrete concepts. Cogn. Neuropsychol. 2020. 37 (1–2): 142–153.
- *Eichenbaum H.* Memory: Organization and Control. Annu. Rev. Psychol. 2017. 68 (1): 19–45.
- Fernández G., Morris R.G.M. Memory, Novelty and Prior Knowledge. Trends Neurosci. 2018. 41 (10): 654–659.
- Frank D., Montaldi D., Wittmann B., Talmi D. Beneficial and detrimental effects of schema incongruence on memory for contextual events. Learn. Mem. 2018. 25 (8): 352–360.
- Ghosh V.E., Gilboa A. What is a memory schema? A historical perspective on current neuroscience literature. Neuropsychologia. 2014. 53 (1): 104–114.
- Gilboa A., Marlatte H. Neurobiology of Schemas and Schema-Mediated Memory. Trends Cogn. Sci. 2017. 21 (8): 618–631.
- Köster M., Finger H., Graetz S., Kater M., Gruber T. Theta-gamma coupling binds visual perceptual features in an associative memory task. Sci. Rep. 2018. 8 (1): 1–9.
- Kutas M., Hillyard S.A. Reading between the lines: Event-related brain potentials during natural sen-

- tence processing. Brain Lang. 1980. 11 (2): 354–373.
- Li F., Yi C., Jiang Y., Liao Y., Si Y., Dai J., Yao D., Zhang Y., Xu P. Different Contexts in the Oddball Paradigm Induce Distinct Brain Networks in Generating the P300. Front. Hum. Neurosci. 2019. 12 (January): 1–10.
- Lisman J., Buzsáki G., Eichenbaum H., Nadel L., Ranganath C., Redish A.D. Viewpoints: How the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. Nat. Neurosci. 2017. 20 (11): 1434–1447.
- Luo W., Guan J.-S. Do Brain Oscillations Orchestrate Memory? Brain Sci. Adv. 2018. 4 (1): 16–33.
- Miller J., Watrous A. J., Tsitsiklis M., Lee S.A., Sheth S.A., Schevon C.A., Smith E.H., Sperling M.R., Sharan A., Asadi-Pooya A.A., Worrell G.A., Meisenhelter S., Inman C.S., Davis K.A., Lega B., Wanda P.A., Das S.R., Stein J.M., Gorniak R., Jacobs, J. Lateralized hippocampal oscillations underlie distinct aspects of human spatial memory and navigation. Nat. Commun. 2018. 9 (1): 2423.
- Milner B., Corkin S., Teuber H.-L. Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of HM. Neuropsychologia. 1968. 6 (3): 215–234.
- Mohan H., Verhoog M.B., Doreswamy K.K., Eyal G., Aardse R., Lodder B.N., Goriounova N.A., Asamoah B., Brakspear A.B.C.B., Groot C., van der Sluis S., Testa-Silva G., Obermayer J., Boudewijns Z.S.R.M., Narayanan R.T., Baayen J.C., Segev I., Mansvelder H.D., de Kock C.P. Dendritic and Axonal Architecture of Individual Pyramidal Neurons across Layers of Adult Human Neocortex. Cereb. Cortex. 2015. 25 (12): 4839–4853.
- Molnár G., Oláh S., Komlósi G., Füle M., Szabadics J., Varga C., Barzó P., Tamás G. Complex events initiated by individual spikes in the human cerebral cortex. PLoS Biol. 2008. 6 (9): 1842–1849.
- Morett L.M., Landi N., Irwin J., McPartland J.C. N400 amplitude, latency, and variability reflect temporal integration of beat gesture and pitch accent during language processing. Brain Res. 2020. 1747 (August): 147059.
- Morris R. G.M. Theories of hippocampal function. The Hippocampus Book. Ed. Andersen P., Morris R., Amaral D., Bliss T., O'Keefe J. Oxford, UK: Oxford University Press, 2006. 581–713 pp.
- Murray E.A., Wise S.P., Graham K.S. Representational specializations of the hippocampus in phylogenetic perspective. Neurosci. Lett. 2018. 680: 4–12.
- Nadel L., Campbell J., Ryan L. Autobiographical Memory Retrieval and Hippocampal Activation as a Function of Repetition and the Passage of Time. Neural Plast. 2007. 2007: 1–14.
- O'Reilly R.C., Rudy J.W. Conjunctive representations in learning and memory: Principles of cortical and hippocampal function. Psychol. Rev. 2001. 108 (2): 311–345.
- Oostenveld R., Fries P., Maris E., Schoffelen J.-M. FieldTrip: Open Source Software for Advanced Analysis of MEG, EEG, and Invasive Electro-

- physiological Data. Comput. Intell. Neurosci. 2011. 2011: 1–9.
- Parvizi J., Kastner S. Promises and limitations of human intracranial electroencephalography. Nat. Neurosci. 2018. 21 (4): 474–483.
- Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. Clin. Neurophysiol. 2007. 118 (10): 2128–2148.
- Staresina B.P., Fell J., Lam A.T.A. Do, Axmacher N., Henson R.N. Memory signals are temporally dissociated in and across human hippocampus and perirhinal cortex. Nat. Neurosci. 2012. 15 (8): 1167–1173.
- Staresina B.P., Fell J., Dunn J.C., Axmacher N., Henson R.N. Using state-trace analysis to dissociate the functions of the human hippocampus and perirhinal cortex in recognition memory. Proc. Natl. Acad. Sci. 2013. 110 (8): 3119–3124.
- Staresina B.P., Reber T.P., Niediek J., Boström J., Elger C.E., Mormann F. Recollection in the human hippocampal-entorhinal cell circuitry. Nat. Commun. 2019. 10 (1): 1503.
- Stark S.M., Reagh Z.M., Yassa M.A., Stark C.E.L. What's in a context? Cautions, limitations, and potential paths forward. Neurosci. Lett. 2018. 680: 77–87
- Strange B.A., Witter M.P., Lein E.S., Moser E.I. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. Nat. Rev. Neurosci. 2014. 15 (10): 655–669.
- Sutton S., Braren M., Zubin J., John E.R. Evoked-Potential Correlates of Stimulus Uncertainty. Science (80-.). 1965. 150 (3700): 1187–1188.
- Tadel F., Baillet S., Mosher J.C., Pantazis D., Leahy R.M. Brainstorm: A user-friendly application for MEG/EEG analysis. Comput. Intell. Neurosci. 2011. 2011: 1–13.
- *Tonegawa S., Morrissey M.D., Kitamura T.* The role of engram cells in the systems consolidation of memory. Nat. Rev. Neurosci. 2018. 19 (8): 485–498.

- Tulving E. Episodic and semantic memory. Organization of memory. Ed. Tulving E., Donaldson W. NY: Academic Press, 1972. 381–403 pp.
- van der Linden M., Berkers R.M.W.J., Morris R.G.M., Fernández G. Angular Gyrus Involvement at Encoding and Retrieval Is Associated with Durable But Less Specific Memories. J. Neurosci. 2017. 37 (39): 9474–9485.
- van Kesteren M.T.R., Ruiter D.J., Fernández G., Henson R.N. How schema and novelty augment memory formation. Trends Neurosci. 2012. 35 (4): 211–219.
- van Kesteren M.T.R., Beul S.F., Takashima A., Henson R.N., Ruiter D.J., Fernández G. Differential roles for medial prefrontal and medial temporal cortices in schema-dependent encoding: From congruent to incongruent. Neuropsychologia. 2013. 51 (12): 2352–2359.
- Van Strien J.W., Hagenbeek R.E., Stam C.J., Rombouts S.A.R.B., Barkhof F. Changes in brain electrical activity during extended continuous word recognition. Neuroimage. 2005. 26 (3): 952–959.
- Vogel S., Kluen L.M., Fernández G., Schwabe L. Stress leads to aberrant hippocampal involvement when processing schema-related information. Learn. Mem. 2018. 25 (1): 21–30.
- Xia X., Hu L. EEG: Neural Basis and Measurement. EEG Signal Processing and Feature Extraction. Singapore: Springer Singapore, 2019. 7—21 pp.
- Yaple Z., Shestakova A., Klucharev V. Feedback-related negativity reflects omission of monetary gains: Evidence from ERP gambling study. Neurosci. Lett. 2018. 686 (July): 145–149.
- Youngerman B.E., Khan F.A., McKhann G.M. Stereoelectroencephalography in epilepsy, cognitive neurophysiology, and psychiatric disease: safety, efficacy, and place in therapy. Neuropsychiatr. Dis. Treat. 2019. 15: 1701–1716.

HIPPOCAMPUS-LOCATED PROCESSING SPEED OF CONTEXTUAL INFORMATION IS ASSOCIATED WITH ITS CONGRUENCE TO THE PREVIOUSLY DEVELOPED SCHEMAS

A. N. Vorobiova^{a, b, #}, T. Fedele^b, E. F. Pavone^c, J. Sarnthein^d, L. Imbach^e, M. Feurra^{a, b}

^aCentre for Cognition and Decision Making, Institute for Cognitive Neuroscience, HSE University, Moscow, Russia

^bHSE University, Moscow, Russia

^cBraintrends Ltd., Rome, Italy ^dUniversity Hospital Zurich, Zurich, Switzerland ^eUniversity of Zurich, Zurich, Switzerland [#]e-mail: alicianunez.v@gmail.com

An ability to match and integrate novel information with prior knowledge is one of the key mechanisms allowing for the adaptive behavior regulation. Here, we used stereoelectroencephalography to record local field potential signal from patients evaluating congruency of "object—scene" pairs. We show that the hippocampus is involved to the processing of contextual information. Moreover, we demonstrate that the information congruent to prior knowledge is processed more rapidly by the hippocampus, than the incongruent one.

Keywords: stereoEEG, evoked response potential, local field potential, context, associative learning, congruency, predictable ambiguity, hippocampus

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ) _____ ЛЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УЛК 616.853

АНАЛИЗ ЛОКАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ МЕЖПРИСТУПНЫХ РАЗРЯДОВ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛИ БЕГУЩИХ ВОЛН

© 2022 г. А. А. Кузнецова¹, А. Е. Осадчий^{2, *}

¹Лаборатория социальной нейробиологии, Институт когнитивных нейронаук, Высшая школа экономики, Москва, Россия

²Центр биоэлектрических интерфейсов, Институт когнитивных нейронаук, Высшая школа экономики, Москва, Россия

*e-mail: ossadtchi@gmail.com
Поступила в редакцию 29.08.2021 г.
После доработки 29.08.2021 г.
Принята к публикации 20.12.2021 г.

Эпилепсия — одно из наиболее распространенных неврологических заболеваний в мире, причем около 30% случаев не поддаются фармакологическому воздействию и могут требовать хирургического вмешательства. В процессе локализации эпилептогенной зоны — области, с которой связывают инициацию приступов у пациентов с фокальной эпилепсией, различные области головного мозга исследуют на наличие межприступных разрядов. В данной работе мы предлагаем новую методологию неинвазивного исследования тонкой пространственно-временной структуры межприступных разрядов, наблюдаемых в магнитоэнцефалограмме (МЭГ). Для регуляризации обратной задачи МЭГ мы использовали модель бегущей волны. Алгоритм представляет нейронную активность, генерирующую межприступный разряд, как суперпозицию локальных волн, распространяющихся по радиальным путям и порождаемых одним точечным источником. С помощью метода LASSO с положительными коэффициентами мы определяем такое сочетание сгенерированных с разными параметрами волн, которое дает наилучшее совпадение с МЭГ-записью для каждого разряда. Для анализа свойств алгоритма мы использовали реалистичные симуляции МЭГ-данных. Затем мы применили наш метод для анализа МЭГ-данных трех пациентов с фармакорезистентной мультифокальной эпилепсией. Для части разрядов мы обнаружили волнообразные паттерны с четкой динамикой распространения, в то время как для другой части наблюдаемая активность не может быть объяснена моделью суперпозиции волн. Более того, разряды с четкой динамикой распространения демонстрировали выраженные пространственные кластеры и соотносились с эпилептогенными зонами, описанными в истории болезни для двух пациентов из трех.

Ключевые слова: обратная задача МЭГ, бегущие кортикальные волны, автоматическая детекция межприступных разрядов, локализация эпилептогенной зоны

DOI: 10.31857/S0044467722030078

Несмотря на то что феномен кортикальных бегущих волн был известен с 1930-х годов (Adrian, Matthews, 1934), (Adrian, Yamagiwa, 1935), в большинстве когнитивных исследований авторы придерживаются парадигмы Дондерса о пространственно-временной разделенности мозговой активности (Donders, 1969) и часто пользуются приемом усреднения эпох для выделения интересующей нейронной активности. Такое представление, однако, не подходит для описания корти-

кальной активности, распространяющейся в пространстве и обладающей высокой изменчивостью между эпохами. Вместе с тем все больше исследований показывают, что нейронная активность распространяется по коре головного мозга в виде бегущей волны: такой характер поведения нейрональной активации наблюдается для целого ряда биологических видов и областей мозга, включая зрительную кору черепахи (Prechtl et al., 1997); зрительную, слуховую и соматосенсорную

кору кролика (Freeman, Barrie, 2000); сенсомоторную кору мышей в бодрствовании (Ferezou et al., 2007); а также первичную и вторичную зрительную кору у бодрствующих обезьян (Muller et al., 2014).

Бегущие кортикальные волны были обнаружены и в неокортексе человека (см. обзор (Muller et al., 2018)), например, известно, что распространяющаяся альфа-активность (Hindriks et al., 2014; Zhang et al., 2018) оказывает влияние на активацию в гамма-диапазоне (Bahramisharif et al., 2013). Кроме того, бегущие тета-волны встречаются у людей и в гиппокампе (Lubenov, Siapas, 2009). Компонента бегущей волны также присутствует в связанной с фиксацией лямбда-активности во время свободного созерцания (Giannini et al., 2018). Наконец, во время сна, как на больших масштабах (Massimini, 2004), так и локально (Hangya et al., 2011), наблюдается распространение медленных волн, и связанные со сном К-комплексы также имеют сложные волновые паттерны распространения (Mak-McCully et al., 2015).

Несмотря на то что существует множество свидетельств участия бегущих кортикальных волн в различных мозговых процессах, их механизмы и функции по-прежнему во многом не ясны (Ermentrout, Kleinfeld, 2001), (Wu et al., 2007), (Muller et al., 2018). Однако появляется все больше свидетельств, подтверждающих два тезиса: (1) бегущие волны играют функциональную роль в обработке информации мозгом в норме и (2) бегущие волны вносят вклад в распространение активности при патологии. Осцилляции, синхронизируя нейрональную активность на разных масштабах, играют важную роль в функциональной интеграции областей мозга. Согласно теории коммуникации через когерентность (Fries, 2005, 2015), на макроуровне функциональная интеграция нейрональных сетей осуществляется за счет установления когерентных осцилляций в вовлеченных в процесс областях коры. Дальнейшие исследования пространственно-временных характеристик распространения осцилляций, т.е. их исследование с точки зрения бегущих волн, позволят точнее понимать механизмы функционального взаимодействия в нейронных сетях головного мозга.

Функции бегущих волн в норме разнообразны. Например, они участвуют в механизмах рабочей памяти. Было показано, что испытуемые лучше справлялись с заданием на

рабочую память, когда их кортикальные паттерны распространения активности были согласованы (Zhang et al., 2018). Кроме того, планирование движения и его характеристики в целом с точки зрения корковых бегущих волн коррелируют со временем реакции в моторной задаче, указывая на тот факт, что бегущие волны регулируют моторный контроль (Patten et al., 2012). Что касается патологии, бегущие волны были описаны в бикукулинной модели эпилепсии (Huang et al., 2004).

Локализация эпилептогенной зоны (ЭЗ) — области, с которой связывают инициацию приступов, — является одной из важнейших задач предоперационной диагностики. Для поиска ЭЗ различные области головного мозга исследуют на наличие межприступных разрядов. Согласно исследованию (Крылов и др., 2016), фармакорезистентность развивается приблизительно у 30% пациентов, имеющих фокальную эпилепсию, причем хирургическое удаление эпилептогенной зоны в 68% случаев позволяет добиться полного контроля над приступами.

В недавней работе (Komoltsev et al., 2020) авторы анализируют эпилептиформную активность, вызванную черепно-мозговой травмой, у человека и крысы. Авторы отмечают, что неинвазивные ЭЭГ-записи оказались нечувствительны к патологической активности, тогда как инвазивные записи показали ее наличие у 86% пациентов. В то же время пространственное разрешение МЭГ значительно выше, чем ЭЭГ, особенно при активации областей мозга, имеющих высокую кривизну (Nasiotis et al., 2017). В работе (Koptelova et al., 2018) было показано, что межприступные МЭГ-записи могут содержать значимую информацию, достаточную для правильной локализации ЭЗ и последующего хирургического вмешательства. В данной работе мы предлагаем методологию неинвазивного исследования тонкой пространственно-временной структуры межприступных разрядов, наблюдаемых в МЭГ-данных пациентов с фармакорезистентной формой эпилепсии.

МЕТОДИКА

Модель данных

В нашей модели мы рассматриваем межприступный разряд как эпизод распространения бегущей волны. Мы предполагаем, что волна исходит от порождающего источника и

распространяется в N_d^* разных направлениях вдоль поверхности коры. Имея в виду, что пройденное волной расстояние зависит от скорости её распространения, мы полагаем длины путей распространения всех волн равными между собой по количеству N_s узлов коры, в которых побывала волна. Таким образом, е направление распространения можно представить как последовательность активных корковых источников $p_d = \begin{bmatrix} r_d^1, \dots, r_d^{N_s} \end{bmatrix}$, где $r_i = \begin{bmatrix} x_i, y_i, z_i \end{bmatrix}$ содержит координаты источника в трехмерном пространстве, $d \in \begin{bmatrix} 1, \dots, N_d^* \end{bmatrix}$, а первый источник одинаков для всех направлений (порождающий источник).

Временные ряды активации источников из набора p_d образуют матрицу S^d размера $N_s \times T_s$, где $T_s = T \cdot fs$ — количество временных отсчетов для рассматриваемого события, T — продолжительность события в секундах, f_s — частота дискретизации в герцах. Чтобы представить распространение нейронной активности, порождающей разряд, в виде волны в пространстве и времени, временные ряды активации последующих источников сдвинуты во времени относительно предыдущих.

Располагая прямым оператором G с фиксированной ориентацией источников и размерностью $N_{ch} \times N_{src}$, где N_{ch} — количество сенсоров и N_{src} — общее количество источников, многоканальный сигнал ЭЭГ или МЭГ X можно представить как линейную комбинацию спроецированных в пространство сенсоров кортикальных бегущих волн W_d , $d \in [1...N_d^*]$:

$$X = \sum_{d=1}^{N_d^*} \alpha_d G_d S^d + E = \sum_{d=1}^{N_d^*} \alpha_d W^d + E.$$
 (1)

Матрица G_d размера $N_{ch} \times N_s$ формируется из столбцов матрицы прямого оператора G, соответствующих топографиям источников из пути p_d . Матрица E моделирует не связанную с разрядом мозговую активность и аддитивный шум сенсоров. Коэффициенты α_d , $d \in \left[1...N_d^*\right]$, соответствуют вкладу каждого направления распространения в наблюдаемую МЭГ-активность.

Базисные волны

Для представленной выше модели данных мы предполагаем, что распространение МЭГ-активности можно представить в виде линейной комбинации W_d , $d \in [1...N_d]$ бегущих волн в пространстве сенсоров. Основная идея методики, предложенной в данной статье, состоит в том, чтобы генерировать шаблоны бегущих волн, которые мы называем базисными волнами, а затем находить их комбинацию с наименьшим количеством слагаемых, наилучшим образом объясняющую данные МЭГ. Ниже мы описываем алгоритм вычисления базисных волн.

Для простоты мы определяем количество активных кортикальных источников вдоль каждого пути распространения как равное количеству наблюдений, сделанных за время события: $N_s = T \cdot fs$. В наших симуляциях мы рассматриваем случай, когда моделируемые временные ряды активации для каждого из N_s источников имеют синусоидальную форму волны и сдвинуты во времени относительно их последовательности от начальной точки. Для каждого направления распространения $d \in [1, \dots, N_d]$ матрица временных рядов источников S^d формируется из строк:

$$S_i^d = 1 + \cos\left(\frac{2\pi(t - k_i)}{N_s}\right),$$
 для $k_i \in [1,...,N_s], t = [1,...,N_s].$ (2)

Пример временных рядов для $N_s = 21$ кортикальных источников вдоль одного из направлений распространения изображен на рис. 1. Каждая панель соответствует одному источнику $src_{ind} \in [1,...,N_s]$. Момент времени, соответствующий максимальной амплитуде активации, отмечен красной точкой. Выбор такой временной функции активации позволяет нам моделировать распространение активности одновременно и в пространстве, и во времени.

Положения источников $p_d = \begin{bmatrix} r_d^1, ..., r_d^{N_s} \end{bmatrix}$ в каждом конкретном случае зависят от индивидуальной анатомии, положения исходного источника $v_s = [x_s, y_s, z_s]$ и скорости распространения. Кортикальные пути для базисных волн генерируются с использованием поверхностей, рассчитанных программой Freesurfer (Fischl, 2012) и обработанных в программе Brainstorm (Tadel et al., 2011). Для каждой базисной волны нам нужно найти путь на

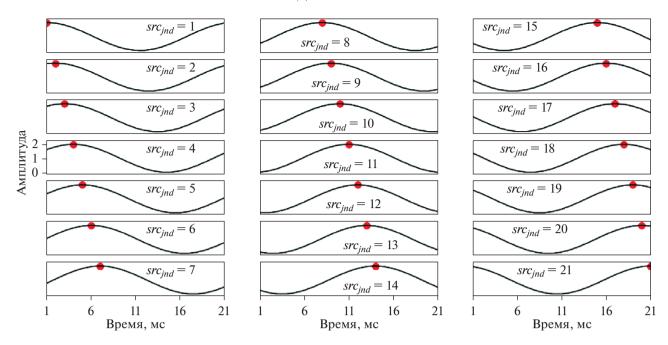


Рис. 1. Временные профили активации для $N_s=21$ источника. Красная точка демонстрирует распространение максимальной активации во времени и пространстве для каждого временного ряда.

Fig. 1. Activation timeseries for $N_s=21$ cortical sources. Spatiotemporal propagation of peak maximum activation corresponds to red dot.

графе с N_{src} вершинами, соединенными в соответствии с матрицей смежности A, определенной 3-D моделью коры. Для заданного начального положения на коре с N_d ближайшими соседями мы определяем N_d базисных волн, распространяющихся в направлениях этих ближайших соседей. Для удобства анализа в практических приложениях мы не добавляем новые вершины или ребра к графу, соответствующему модели коры. Ограничением этого подхода является тот факт, что количество направлений распространения зависит от плотности вершин в исследуемой области, а также, в случае адаптивных сеток, от локальной кривизны. Последнее имеет смысл, так как пространственное разрешение МЭГ коррелирует с локальной кривизной (Nasiotis et al., 2017).

Пути распространения для стартовой точки v_s генерируются в соответствии со следующим алгоритмом:

1. N_d вершин ближайших соседей $\begin{bmatrix} nn_{v_s}^1, \dots, nn_{v_s}^d \end{bmatrix}$ для стартовой точки находятся из соответствующей строки матрицы смежности A_{v_s} ;

2. Для аппроксимации нормали к участку поверхности коры, который образуется вершинами ближайших соседей $\begin{bmatrix} nn_{v_s}^1, \dots, nn_{v_s}^d \end{bmatrix}$, мы усредняем нормали в каждой из N_d точек: $n_{\rm av} = \frac{1}{N_d} \sum_{d=1}^{N_d} n_d$. Нормируя к единице, получаем вектор $\widetilde{n_{\rm av}} = \frac{n_{\rm av}}{\|n_{\rm av}\|}$;

3. Вычисляем матрицу проекции на этот кортикальный путь как $P = I - \widetilde{n_{\rm av}} \widetilde{n_{\rm av}}^T$, где I единичная матрица размером 3×3 , а $(\cdot)^T$ — матричное транспонирование;

- 4. Добавляем $nn_{v_s}^d$ к пути p_d ;
- 5. Вычисляем вектор направления распространения $h_{sd} = (v_s v_d) \cdot P$. Нормируем этот вектор: $\widetilde{h_{sd}} = \frac{h_{sd}}{\|h_{sd}\|_2}$;
- 6. Для каждого ближайшего соседа до тех пор, пока длина пути короче, чем *max_step*, повторяем:
- а. Запоминаем вершину ближайшего соседа во вспомогательную переменную *v* и используем матрицу смежности, чтобы найти

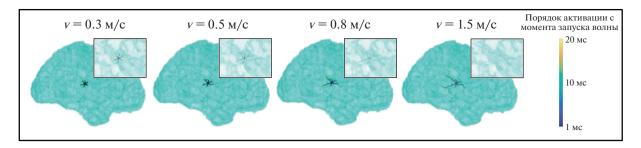


Рис. 2. Пример кортикальных источников для сгенерированных базисных волн в случае для различных скоростей распространения.

Fig. 2. Example of cortical source sets generated for basis waves with proragation directions for different velocities.

ближайших соседей этой вершины $[nn_1,...,nn_m]$;

b. Среди всех найденных вершин выбираем ту, которая максимизирует выражение

$$nn^* = \arg\max\left(\frac{(nn_i - v) \cdot P}{\|(nn_i - v) \cdot P\|_2} \cdot \widetilde{h_{sd}}\right);$$

с. Добавляем вершину nn^* к пути p_d и повторяем шаг (6).

Полученные кортикальные пути t_d затем используются для определения конкретных местоположений источников (узлов) p_d для различных скоростей распространения.

На рис. 2 показан пример сгенерированных наборов источников p_d для разных скоростей распространения, от 0.3 до 1.5 м/с. По полученным путям распространения подмножества матрицы прямого оператора G_d , $d=1,\ldots,N_d$ затем используются для вычисления базисных волн согласно уравнению (1).

Помимо радиальных направленных волн мы также рассматривали сферическую волну, распространяющуюся одновременно во всех направлениях и состоящую из суммы радиальных волн $W_{sph} = \sum_{d=1}^{N_d} W_d$, однако наши тесты на симуляционных и реальных данных показали, что сферические волны не выбираются алгоритмом в качестве участников оптимальной комбинации. При изменении скорости распространения мы также вводим временную метку начала волны. Точное время инициирования волны неизвестно, но оптимальное значение можно найти с помощью метода скользящего окна. Мы автоматически сканируем временной интервал, содержащий межприступный разряд, подбираем к этому интервалу базисные волны и повторяем весь анализ для временного ряда, сдвинутого на один временной отсчет.

Оптимальная комбинация бегущих волн

После того как базисные волны сгенерированы, следующий этап анализа состоит в поиске их комбинации, которая наилучшим образом описывает наблюдаемые МЭГ-данные. Исходя из физиологических предположений, желаемая комбинация должна содержать только несколько базисных волн, соответствующих нескольким доминирующим направлениям распространения. Поэтому мы ищем наиболее разреженное решение, которое описывает данные и соответствует небольшому количеству четко определенных доминантных направлений распространения. Чтобы найти вклад каждой вычисленной заранее базисной волны в МЭГ-данные, мы использовали метод LASSO (Tibshirani, 1996), с дополнительным ограничением на то, что коэффициенты LASSO должны быть положительными. Задача оптимизации формализуется уравнением (3). Основным преимуществом этого метода является тот факт, что благодаря негладкому регуляризационному слагаемому со штрафом по норме L_1 отбор признаков выполняется таким образом, чтобы коэффициенты неинформативных направлений распространения были равны нулю. Так как мы рассматриваем многоканальную задачу, мы векторизовали матрицу данных X и базисных волн на сенсорах W_d^s :

$$\min_{\alpha_0...\alpha_{N_d}} \left\| \operatorname{vec}(X) - \sum_{d=0}^{N^d} \alpha_d \operatorname{vec}(W_d) \right\|^2 + \lambda \sum_{d=0}^{N_d} |\alpha_d| \quad (3)$$
subject to $\alpha_d \ge 0$, $d = 0...N_d$.

Затем данная процедура применяется ко всем наборам сгенерированных базисных волн с двумя параметрами: скоростью распространения и временем начала распространения волны. Лучшее решение выбира-

ется в соответствии с метрикой \mathbb{R}^2 (т.е. процентом объясненной дисперсии). Важным вопросом при генерации базисных волн является обнаружение самого первого источника, инициирующего распространение волны. Мы определяем область интереса (ROI) в первом приближении с помощью алгоритма дипольной подгонки RAP-MUSIC (Mosher, Leahy, 1999). Чтобы повысить точность решения, мы сканируем ROI, используя попадающие туда узлы коры в качестве отправных точек, и сравниваем решения при помощи метрики \mathbb{R}^2 .

Схема алгоритма

Итоговый алгоритм для решения обратной задачи МЭГ с регуляризацией в виде предположения бегущей волны состоит из следующих этапов:

- 1. Определяем область интереса на коре, применяя алгоритм RAP-MUSIC (Mosher, Leahy, 1999) к МЭГ-данным и берем ее окрестность (например, радиусом 1 см). Затем для каждой вершины, принадлежащей к найденной области интереса, повторяем:
- а. Используем выбранный кортикальный источник v_s в качестве стартовой точки для генерации волн и вычисляем базисные волны для различных скоростей распространения;
- b. Применяем метод LASSO (Tibshirani, 1996) с положительными коэффициентами, чтобы подогнать базисные волны к самому началу МЭГ-записи соответствующего события и определить значение метрики R^2 вместе с числом ненулевых коэффициентов решения;
- с. Сдвигаем МЭГ-сигнал назад во времени на p временных отсчетов и повторяем анализ. Находим оптимальный момент начала распространения волны и оптимальные скорости распространения в соответствии с величиной \mathbb{R}^2 .
- 2. Сравниваем R^2 в точке оптимума для всех вершин в ROI и выбираем лучшую точку как найденный источник распространения волны.

Симуляции Монте-Карло

Чтобы оценить качество работы алгоритма, мы выполнили ряд симуляций Монте-Карло. Синтетические данные МЭГ магнитометров были получены с помощью модели кортикальной поверхности высокого разрешения с 300000 вершин, реконструированных из анатомических данных МРТ с использованием программного обеспечения Free-Surfer (Fischl, 2012). Матрица *G* прямой модели для дипольных источников с фиксированной ориентацией была рассчитана с использованием программного обеспечения Brainstorm (Tadel et al., 2011) с использованием модели перекрывающихся сфер.

Скорость распространения, учитываемая при анализе как модельных, так и реальных данных, выбиралась из следующего набора: S = [0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5,0.6, 0.7, 0.8] м/с. Мы проанализировали 300 эпох с равномерно распределенной скоростью распространения (25 эпох на каждое значение). Длительность волны была установлена равной T = 20 мс, а частота дискретизации имела значение 1000 Гц. При моделировании мы рассматривали два типа эпох. Первый тип — моделирование бегущей волны (300 эпох), а второй — симуляции статической колебательной активности (осциллирующий очаг активности, который не двигается в пространстве), также 300 эпох. Бегущие волны были сгенерированы с помощью алгоритма, описанного выше. Временной ряд активации осциллирующего очага вычислялся

как
$$g(x,t) = \frac{1}{2} \left(1 + \cos\left(\frac{\pi}{2}t\right)\right) \frac{Be^{-c^2 + x^2}}{2\sigma^2}.$$

Мы определили величину отношения сигнал-шум (SNR) для смоделированных данных в пространстве сенсоров как отношение нормы Фробениуса для 5 каналов с наивысшей мощностью в течение интервала наблюдения межприступного разряда к норме для данных с тех же каналов за период той же продолжительности, взятый до или после разряда. Мы проверяли данные, чтобы во втором периоде не было разрядов. Для каждого типа эпох случайно выбранная вершина играла роль генерирующего источника. Направление и скорость распространения были выбраны случайным образом из доступного набора параметров.

Мы моделировали мозговую активность, не относящуюся к разряду, при помощи Q=1000 кортикальных источников, положения и временные ряды которых генерировались от эпохи к эпохе случайно. Временными рядами не относящихся к разряду источников служили узкополосные сигналы, полученные с помощью фильтрации с нулевой

фазой реализаций гауссовского псевдослучайного процесса. Фильтрация проводилась полосовым БИХ-фильтром пятого порядка; полосы фильтра соответствовали тета- (4-7 Гц), альфа- (8—12 Гц), бета- (15—30 Гц) и гамма- (30— 50 Гц, 50-70 Гц) активности. Мы скорректировали относительный вклад этих ритмических компонентов в соответствии с хорошо известной 1/*f*-характеристикой шума МЭГ. Компоненты шума соответствовали характерному отношению сигнал-шум для записей МЭГ. Шумовые источники проецировались в пространство сенсоров с помощью соответствующих столбцов матрицы прямой модели. Мы смоделировали 300 эпох МЭГ-данных. Для каждой эпохи новый набор шумовых источников выбирался заново и создавались новые шумовые временные ряды со спектром профиля 1/f.

Кортикальная сетка высокого разрешения использовалась только для моделирования данных. Для реконструкции источников мы использовали более разреженную кортикальную сетку с 200000 вершин. Кроме того, мы искусственно добавляли ошибку для обнаружения первого источника. Для этого мы сначала случайным образом выбрали точку генерации на коре из модели с высоким разрешением, а затем использовали эту точку в качестве порождающей для волны. Затем мы случайным образом определяли начальную точку для старта алгоритма, используя разреженную модель для 3-миллиметровой области вокруг истинного места генерации. Базисные волны были инициированы в этом новом месте.

Чтобы сравнить генерируемое и оцененное направления распространения, мы вычислили первое главное направление p^* и приняли его в качестве истинного. Затем мы определили все направления, использованные в рассчитанном решении, и присвоили им веса w_p^i , которые были пропорциональны их вкладу в решение LASSO. Затем мы рассчитали первую взвешенную главную компоненту направления распространения для найденного решения $\tilde{p} = w_p^i p_i$. Ошибка оценки направления рассчитывалась как $e = 1 - \frac{p^* \hat{p}}{\|p^*\|_2 \|\hat{p}\|_2}$. Чтобы свести к минимуму ошибки обнаружения волн из-за неточности локализации первой точки, мы сканировали область радиусом 5 мм вокруг этих точек и

выбирали лучшую генерирующую точку как точку с самым высоким значением R^2 .

Регистрация МЭГ-данных

Мы применили предложенный алгоритм к МЭГ-записям от трех пациентов с мультифокальной эпилепсией. Данные были собраны в Московском МЭГ-центре с использованием системы Elekta-Neuromag Vectorview 306 (Elekta Oy, Финляндия), которая производит записи с 204 планарных градиометров и 102 магнитометров. Данные были собраны во время сна с частотой дискретизации 1000 Гц и предварительно обработаны с помощью программного обеспечения Elekta MaxFilter.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Симуляции Монте-Карло

Симуляции методом Монте-Карло были посчитаны для трех уровней сигнал-шум (SNR): значений 1, 2 и 3. Полученные результаты представлены на верхней левой панели рис. 3: на графике изображены ROC-кривые, показывающие, насколько успешно предложенный алгоритм позволяет детектировать бегущие волны. Для построения этих кривых были использованы 300 испытаний Монте-Карло, в которых волновое распространение задавалось случайно равномерно выбранной из рассматриваемых вариантов скоростью распространения, и 300 испытаний, в которых симулировалась только статическая активность без распространения в пространстве. Соответствующие значения площади под кривой (ROC AUC) составляют 0.78, 0.95 и 0.97, что означает, что при разумно высоком отношении сигнал-шум предложенный метод успешно разделяет распространяющуюся и статическую активность.

На трех других панелях рис. 3 показано соответствие симулируемых значений скорости распространения (по оси x) и значений, полученных в результате работы алгоритма (по оси y), для различных SNR. Каждая точка на графике соответствует одному испытанию Монте-Карло. Для более наглядной визуализации к значениям были добавлены небольшие случайные сдвиги. Для каждой из реальных скоростей было определено значение скорости, которое чаще всего находится с помощью алгоритма, и такие кластеры точек показаны красным цветом. Для SNR = 1 алгоритм имеет тенденцию значительно пере-

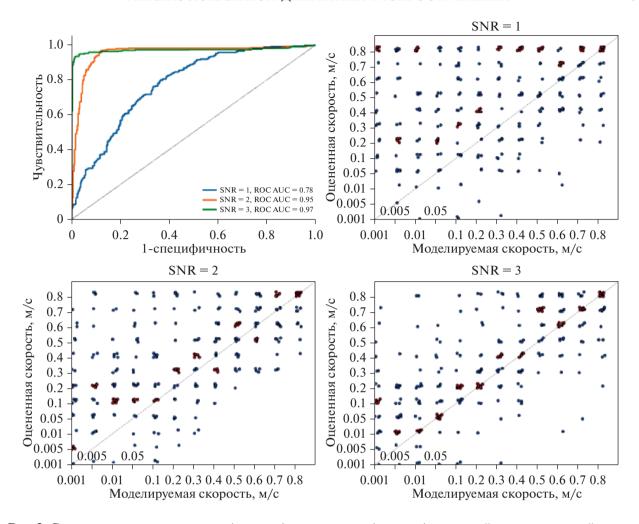


Рис. 3. Сравнение смоделированных (по оси x) и оцененных (по оси y) скоростей для трех уровней отношения сигнал—шум: 1, 2 и 3. Каждая точка соответствует одному испытанию методом Монте-Карло. К значениям добавляется небольшой случайный сдвиг для удобства визуализации. Для каждого значения реальной скорости определяется наиболее частое значение расчетной скорости, и соответствующие точки отображаются красным цветом.

Fig. 3. Comparison of modelled (*x*-axis) and estimated propagation velocities for three SNR levels: 1, 2, 3. Each dot corresponds to one Monte Carlo trial. Small random jitter was added for visualization purposes. Red dots demonstrate the most popular estimated velocity for each ground truth value.

Важно отметить, что ошибки в оценке скорости неизбежны даже для высоких значений SNR из-за ошибки, которую мы закладываем при локализации точки старта, и из-за использования более редкой модели кортекса. Учитывая то, что время распространения мы считаем фиксированным, в случае, если найденная алгоритмом начальная точка запуска волны смещена относительно фактической в сторону конечной точки пути распространения, естественным образом скорость окажется заниженной. И наоборот, если начальная точка смещена в противоположную сторону от конца пути, то скорость окажется завы-

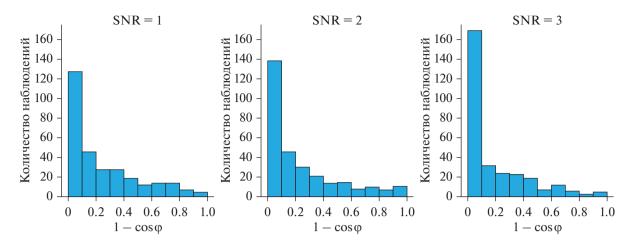


Рис. 4. Распределение ошибки детекции направления распространения $1-\cos \varphi$, где $\varphi-$ угол между главным направлением истинного распространения и главным направлением оцененного распространения. Результаты показаны для 300 испытаний методом Монте-Карло и для трех уровней отношения сигнал—шум: 1, 2, 3.

Fig. 4. Distribution of propagation direction detection error $1 - \cos \varphi$, where φ – angle between the first principal propagation direction of ground truth wave and first principal propagation direction of estimated wave. The obtained results are calculated for 300 Monte Carlo trials and three SNR levels: 1, 2, 3.

шенной. Чем выше SNR в данных, тем меньше эти ошибки.

Затем мы оценили ошибки в найденном направлении распространения. На рис. 4 показано распределение этих ошибок для всех vровней отношения трех сигнал-шум. Ошибка рассчитывалась как $1 - \cos \phi$. где ϕ угол между фактическим и оцененным главными направлениями распространения. Значения такой метрики располагаются в диапазоне от нуля до единицы. Можно увидеть, что для всех уровней SNR большая часть ошибок меньше, чем 0.1, и все ошибки имеют тенденцию уменьшаться с увеличением отношения сигнал-шум.

Данные пациентов

В качестве реальных данных мы использовали данные трех пациентов с эпилепсией: 10-минутные записи МЭГ во время сна. Для автоматической детекции межприступных разрядов мы использовали метод ASPIRE (Ossadtchi et al., 2004), в основе которого лежит метод независимых компонент (ICA). Мы выбрали те независимые компоненты, в которых наиболее четко наблюдается структура разрядов. Для ICA-разложения использовался метод Infomax. Детекция разрядов в выбранных компонентах производилась по установленному порогу для амплитуды компоненты. Затем для каждого из найденных

событий мы подобрали соответствующие электрические диполи с помощью алгоритма RAP-MUSIC (Mosher, Leahy, 1999). Локализация источников, генерирующих найденные события на коре, позволяет оценить, насколько физиологически правдоподобными являются автоматически обнаруженные события. Мы использовали 0.97 как порог для метрики корреляции подпространств, и все события, для которых RAP-MUSIC обнаружил меньшую корреляцию, удалялись из последующего анализа.

Затем мы применили простой детерминированный алгоритм кластеризации на основе близости между полученными точками, чтобы объединить все источники в плотные кластеры радиусом не больше 1 см, каждый из которых содержит как минимум десять диполей. Параметры ASPIRE были найдены эмпирически и зафиксированы для всех пациентов. Несмотря на то, что описанная процедура автоматической детекции запускалась отдельно для градиометров и магнитометров, обнаруженные в итоге кластеры оказались примерно одинаковыми. Все показанные далее результаты посчитаны для предварительно предобработанных с помощью MaxFilter сигналов магнитометров.

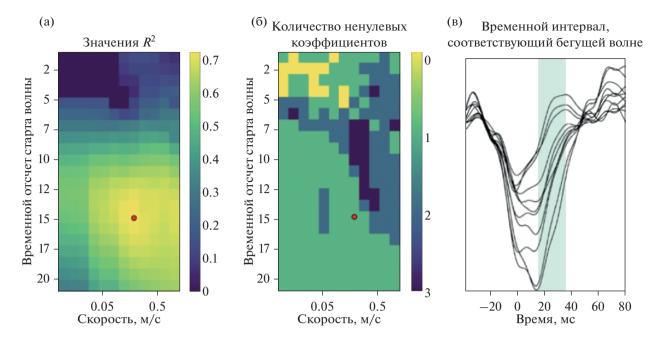


Рис. 5. Репрезентативный пример анализа одного межприступного разряда. (а) Значения R^2 , полученные для разного времени начала разряда и разных значений скорости распространения. Оптимальное решение отмечено красной точкой. (б) Соответствующие количества ненулевых коэффициентов. (в) Временные ряды МЭГ-сигналов для рассматриваемого разряда. Временной интервал, лучше всего объясненный волновой моделью, выделен цветом.

Fig. 5. A representative analysis of one interictal spike. (a) R^2 values obtained for different spike starting time points and different propagation velocities. The optimal solution is marked with red dot. (6) Corresponding numbers of non-zero coefficients. (B) MEG timeseries for interictal spike under consideration. The time interval with the best model goodness of fit is highlighted.

Анализ отдельных разрядов

Предложенный алгоритм был применен к каждому найденному межприступному разряду отдельно. На рис. 5 показан подробный анализ для одного разряда. Точка начала разряда во времени определяется методом скользящего окна: длительность базисных волн составляет 20 мс, а длительность выбранной МЭГ-записи составляет 40 мс. На панели A показаны значения R^2 , полученные для различных скоростей распространения (ось x) и начальных моментов времени (ось y). На панели В показаны количества ненулевых коэффициентов в решении для каждой из соответствующих точек. Лучшее решение определяется по максимальному значению R^2 . Можно заметить, что у значений R^2 есть четкий максимум (отмеченный красной точкой). Для данного разряда максимальное значение R^2 составляет 0.72, и это решение соответствует физиологически объяснимой скорости распространения приблизительно в 0.3 м/с. Для объяснения этого разряда достаточно только одного направления распространения. Панель С показывает развитие сигнала разряда во времени, и интервал, который лучше всего объясняется с помощью бегущих волн, выделен цветом. Важно отметить, что волновая модель лучше всего объясняет растущую часть разряда.

Агрегированные результаты для трех пациентов

Описательные статистики для полученных кластеров межприступных разрядов для всех пациентов представлены в табл. 1. Переменная $N_{\rm spikes}$ показывает количество найденных разрядов в каждом конкретном кластере, $T_{\rm start}$ — это время первого события из кластера, в секундах от начала записи, а $T_{\rm var}$ — стандартное отклонение временных отсчетов для разрядов в кластере, в секундах.

Мы применили предложенный метод к каждому обнаруженному межприступному разряду и агрегировали полученные значения R^2 на основании их принадлежности к кластеру. Поскольку цель данного анализа —

Таблица 1. Описательные статистики для всех найденных кластеров для трех пациентов
Table 1. Descriptive statistics for all detected epileptic regions for three patients

	Пациент 1			Пациент 2		Пациент 3			
N⁰	$N_{ m spikes}$	$T_{ m start}$	$T_{ m var}$	$N_{ m spikes}$	$T_{ m start}$	$T_{ m var}$	$N_{ m spikes}$	$T_{ m start}$	$T_{ m var}$
1	64	10.570	99.005	233	44.728	140.120	114	2.348	99.461
2	18	9.349	122.090	10	56.844	163.160	34	77.175	136.020
3	27	16.372	85.610	52	120.883	144.150	14	141.136	134.140
4	12	10.387	128.120	21	56.789	146.560			
5	38	12.556	99.757	19	176.413	134.220			
6	13	27.265	85.078	12	151.483	151.270			
7	29	2.442	110.200	13	59.603	95.913			
8				9	63.843	174.020			
9				9	1.001	123.360			
10				10	82.998	118.340			

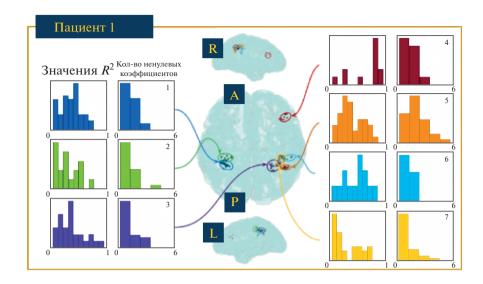
Таблица 2. Процент разрядов, хорошо объясненных моделью бегущих волн в каждом кластере для трех пациентов. Межприступный разряд считается хорошо объясненным, если значение R^2 больше или равно 0.6 **Table 2.** Percentage ratio of successfully fitted with the traveling wave model spikes for each detected cluster in three patients. An interictal spike is considered as successfully fitted if the R^2 value is not lower than 0.6

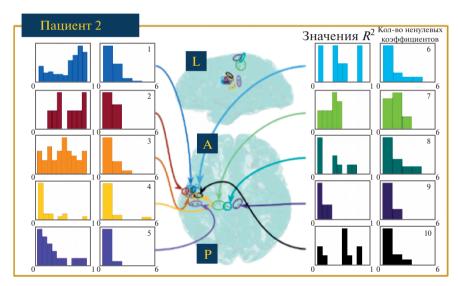
№	Пациент 1, %	Пациент 2, %	Пациент 3, %
1	3	70	0
2	5	57	69
3	14	34	7
4	67	4	
5	10	11	
6	15	25	
7	10	0	
8		11	
9		0	
10		30	

найти качественное, но при этом простое описание межприступного разряда, другой важный фактор — это количество направлений распространения в оптимальном решении. На верхней панели рис. 6 показано расположение семи предположительных зон эпилептогенеза (с помощью разных цветов) и распределения двух выбранных показателей для Пациента 1. Левая панель для каждого кластера показывает распределение значений R^2 для разрядов, образующих этот кластер; это распределение показывает, насколько хорошо разряды соответствуют модели бегущих волн. На правой панели для каждого кластера показано распределение

количества ненулевых коэффициентов в оптимальном решении, что позволяет оценить простоту модели. Средняя и нижняя панели рис. 6 демонстрируют результаты для Пациента 2 и Пациента 3 соответственно.

Анализ данных пациентов выявил вариабельность соответствия волновой модели в зависимости от конкретных разрядов. Волновая модель с выбором только нескольких доминирующих направлений подходит только для части из проанализированных разрядов. В табл. 2 показаны доли разрядов с качеством объяснения не меньше, чем 0.6 для всех пашиентов.





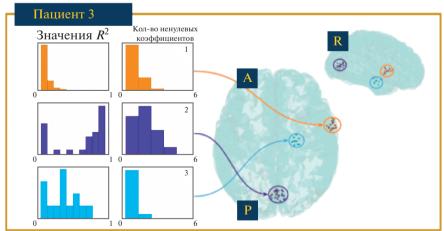


Рис. 6. Локализация эпилептических очагов, автоматически обнаруженных методом ASPIRE для трех пациентов. Для каждого кластера показано распределение метрики R^2 (качество подгонки модели) и количество направлений, используемых в оптимальном решении (простота модели).

Fig. 6. Localization of epileptic foci detected with ASPIRE technique for three patients. Histograms for each region demonstrate the distribution of R^2 metrics (goodness of fit) and distribution of nonzero propagation direction numbers (model simplicity).

Видно, что для Пациента 1 только разряды из кластера 4 хорошо соответствуют бегущей волне, так как 67% из всех содержащихся в нём разрядов хорошо объясняются с помощью волновой модели. Для двух других пациентов процент разрядов, объясняемых волновой моделью, значительно различается между кластерами. Для Пациента 2 кластер 1 содержит наибольшую долю волнообразных разрядов (70%), за ним следует кластер 2 (57%), пространственные характеристики которого близки к кластеру 1. У Пациента 3 большая часть разрядов с хорошим соответствием модели концентрируется в окципитальном кластере 2, в то время как остальные кластеры плохо соответствуют модели.

Во всех трех проанализированных наборах данных найденные кластеры различаются по процентному соотношению разрядов, хорошо объясненных моделью бегущих волн. Интересно, что области с наибольшим процентом хорошо объясненных разрядов для Пациента 1 и Папиента 2 совпалают с эпилептогенными очагами, которые были независимо определены нейрохирургами. В случае Пациента 1 эпилептогенность найденного очага также была подтверждена в результате двухлетнего наблюдения за пациентом после операции. Информация о расположении эпилептогенной области у Пациента 3 недоступна, так как операция не проводилась. Эти результаты согласуются с ранее полученными наблюдениями о том, что в эпилептогенной области межприступные разряды имеют устойчивое направление распространения (Tomlinson et al., 2016).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании мы предлагаем новый алгоритм поиска решения обратной задачи МЭГ, использующий физиологически обусловленное предположение о распространении активности в форме бегущей волны. Здесь мы исследуем свойства предложенного алгоритма в контексте применения к МЭГ-записям пациентов с мультифокальной эпилепсией, однако он также может быть полезен в любых экспериментах, предполагающих пространственно-временное распространение активности.

Локализация эпилептогенной зоны (ЭЗ) у пациентов с мультифокальной эпилепсией — основная цель предоперационной диагно-

стики, в рамках которой мозговая активность записывается как во время межприступных периодов, так и в течение приступа. Обычно для решения этой проблемы используется макро-анализ: расположение ЭЗ определяется исходя из паттернов эпилептической активности всего мозга целиком (см. работу (Ossadtchi et al., 2005), формализующую этот подход). Несмотря на то, что такой подход к анализу полезен, динамика распространения как межприступной, так и приступной активности проявляется сразу на нескольких уровнях пространственного разрешения (Stead et al., 2010; Chamberlain et al., 2011). На макроуровне распространение межприступного разряда исследовали Томлинсон и коллеги, используя внутричерепные записи на основе субдуральных электродов (Tomlinson et al., 2016). Они предположили, что устойчивое согласованное направление распространения можно использовать в качестве биомаркера эпилептогенной области. В нескольких исследованиях также изучалось локальное распространение эпилептической активности. Мартине и коллеги (Martinet et al., 2017) изучали динамику приступов в миллиметровом масштабе. пространственном Используя массивы микроэлектродов размером 4 квадратных миллиметра, они показали, что небольшие группы нейронов, охватывающие кортикальные столбцы, генерируют быстро распространяющиеся волны, которые могут на макроуровне способствовать развитию приступа. Чижов и коллеги (Chizhov et al., 2018) разработали модель бегущей волны для приступной и межприступной активности, углубив тем самым понимание локальных механизмов распространения эпилептических разрядов.

В представленной статье мы предлагаем метод локализации бегущих волн и определения их параметров по записи неинвазивной магнитоэнцефалографии (МЭГ). Мы применяем предложенный подход для анализа динамики локального распространения межприступных разрядов у пациентов с фармакологически резистентной фокальной эпилепсией. МЭГ имеет временное разрешение порядка миллисекунды и пространственное разрешение порядка нескольких миллиметров (Nasiotis et al., 2017), что отвечает необходимым требованиям для анализа локальной динамики распространения эпилептической активности. Кроме того, в случае использования МЭГ-записи в паре с подходящими методами решения обратной задачи можно получить представление об анатомических путях бегущих волн.

Из-за того, что обратная задача МЭГ является плохо обусловленной, такая задача имеет фундаментальные ограничения и для поиска единственного решения необходииспользовать методы регуляризации (Hamalainen et al., 1993). Для того чтобы регуляризовать обратную задачу, мы моделируем межприступные разряды как суперпозицию бегущих волн, распространяющихся в радиальных направлениях во все стороны от источника. Эта модель достаточно хорошо работает как на симуляционных МЭГ-данных. так и на данных пациентов с эпилепсией, у которых волновые паттерны распространения активности очевидны для значительной части межприступных разрядов, возникающих в определенной области коры.

Разработанный алгоритм анализа в своей основе опирается на использование нового физиологически обусловленного приора для решения недоопределенной обратной задачи МЭГ. Полученное решение основано на получившей сейчас серьезное распространение в литературе гипотезе о бегущих кортикальных волнах. В доступном сейчас программном обеспечении FieldTrip (Oostenveld et al., 2011), MNE Python (Gramfort et al., 2013), Brainstorm (Tadel et al., 2011) реализован широкий спектр методик для решения обратной задачи. В литературе также предлагаются подходы, отказывающиеся от моделирования нейрональной активности с помощью набора токовых диполей, например, в (Petrov. 2012) в качестве решения рассматриваются сферические гармоники. Однако ни один из подходов не использует информацию о пространственно-временной связности изучаемой активности.

В данной работе мы рассматривали как в модельных, так и в реальных данных только случай фокальной эпилепсии, предполагая, что межприступный разряд генерируется хорошо локализованной областью коры и далее локально распространяется, задействуя механизм бегущей волны. Мы не рассматривали случай генерализованных межприступных разрядов, зачастую задействующих более глубокие структуры мозга, так как именно в сценарии фокальной эпилепсии применение разработанного алгоритма имеет практиче-

ский смысл, позволяя получить дополнительную информацию для локализации ЭЗ.

Хотя предложенный метод успешно нахолит бегущие волны и реконструирует их анатомические пути, он по-прежнему подвержен ошибкам, связанным с (1) неопределенностями в оценке начальной точки волны и (2) неточностями параметризации кортикальной поверхности. Ошибки, происходящие по первой причине, могут быть сокращены в результате выбора высокоамплитудных разрядов для анализа. Вторую проблему можно решить, выполнив более точное сканирование мозга (7Т МРТ). Кроме того, представленный метод может быть использован не только для исследования кортикальной волновой динамики межприступных разрядов. но и для анализа вызванных и индуцированных ответов в парадигме с многократным предъявлением стимулов. В этом случае сушественно облегчается задача поиска момента начала распространения локальной волны.

Несмотря на наличие источников ошибок, часть межприступных разрядов были успешно описаны с помощью волновой модели. Более того, эти разряды были сгенерированы одной кортикальной областью, и для пациентов, у которых были доступны данные об эпилептогенном очаге, эта область совпадает с очагом. На основании этих результатов, которые хорошо согласуются с инвазивными данными (Stead et al., 2010; Chamberlain et al., 2011), мы предполагаем, что анализ межприступных разрядов, записанных в МЭГ, может помочь в локализации эпилептогенного очага. Однако не все разряды могут быть одинаково хорошо объяснены волновой моделью с небольшим количеством преобладающих направлений распространения. Эти случаи требуют более детального дальнейшего изуче-

ВЫВОДЫ

В данной работе мы предлагаем методологию неинвазивного исследования тонкой пространственно-временной структуры межприступных разрядов, наблюдаемых в МЭГ, основанную на концепции бегущих кортикальных волн. Мы использовали метод LASSO с положительными коэффициентами для того, чтобы оценить оптимальную скорость и направления распространения волн. Мы протестировали работу алгоритма как на мо-

дельных данных, так и на реальных МЭГ-сигналах и продемонстрировали, что динамика распространения разрядов, записанных в МЭГ, может быть измерена в пространственно-временном масштабе миллиметр/миллисекунда.

Мы также заметили, что у всех трех пациентов, данные которых были проанализированы, волновое поведение характерно не для всех межприступных разрядов, причем "волновые" разряды объединяются в хорошо пространственно очерченные кластеры. В будущем анализ локальных моделей распространения межприступной активности может стать неотъемлемой частью предоперационной диагностики и поможет решать задачу дифференциации типов эпилепсии, локализации эпилептогенных зон и планирования максимально щадящей хирургической тактики резекции эпилептогенной ткани.

Предложенный алгоритм может быть легко расширен для анализа сегментов данных, относящихся к началу приступа, которые в ближайшем будущем станут более доступными, благодаря разработке новых мобильных МЭГ-установок с магнитометрами с оптической накачкой, которые пациент может носить на голове.

Важно подчеркнуть также, что разработанный алгоритм может быть применен не только для исследования эпилепсии, но также и в других нейрофизиологических исследованиях, изучающих активность головного мозга, которая имеет пространственно-временную структуру распространения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-313-90064. Funding: The reported study was funded by RFBR, project number 19-313-90064.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Крылов В.В., Гехт А.Б., Трифонов И.С., Лебедева А.В., Каймовский И.Л., Синкин М.В., Григорьева Е.В., Гришкина М.Н., Шишкина Л.В., Кочеткова О.О. Исходы хирургического лечения пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2016. 119(9–2): 13–18.
- *Adrian E.D., Matthews B.H.C.* The interpretation of potential waves in the cortex. The Journal of Physiology. 1934. 81(4): 440–471.

- Adrian E.D., Yamagiwa K. The origin of the Berger rhythm. Brain. 1935. 58(3): 323–351.
- Bahramisharif A., van Gerven M.A.J., Aarnoutse E.J., Mercier M.R., Schwartz T.H., Foxe J.J., Ramsey N.F., Jensen O. Propagating neocortical gamma bursts are coordinated by traveling alpha waves. Journal of Neuroscience. 2013. 33(48): 18849–18854.
- Chamberlain A., Viventi J., Blanco J., Kim D.H., Rogers J., Litt B. Millimeterscale epileptiform spike patterns and their relationship to seizures. Conference proceedings: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2011. Conference, 2011: 761–764.
- Chizhov A.V., Zefirov A.V., Amakhin D.V., Smirnova E.Yu., Zaitsev A.V. Minimal model of interictal and ictal discharges "Epileptor-2". PLOS Computational Biology. 2018. 14(5): e1006186.
- *Donders F.C.* On the speed of mental processes. Acta Psychologica. 1969. 30: 412–431.
- *Ermentrout G.B.*, *Kleinfeld D.* Traveling electrical waves in cortex. Neuron. 2001. 29(1): 33–44.
- Ferezou I., Haiss F., Gentet L.J., Aronoff R., Weber B., Petersen C.C.H. Spatiotemporal dynamics of cortical sensorimotor integration in behaving mice. Neuron. 2007. 56(5): 907–923.
- Fischl B. FreeSurfer. NeuroImage. 2012. 62(2): 774—781
- Freeman W.J., Barrie J.M. Analysis of spatial patterns of phase in neocortical gamma EEGs in rabbit. Journal of Neurophysiology. 2000. 84(3): 1266–1278.
- *Fries P.* A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. Trends in Cognitive Sciences. 2005. 9(10): 474–480.
- *Fries P.* Rhythms for Cognition: Communication through Coherence. Neuron. 2015. 88(1): 220–235.
- Giannini M., Alexander D.M., Nikolaev A.R., van Leeuwen C. Large-scale traveling waves in EEG activity following eye movement. Brain Topography. 2018. 31(4): 608–622.
- Gramfort A., Luessi M., Larson E., Engemann D.A., Strohmeier D., Brodbeck C., Goj R., Jas M., Brooks T., Parkkonen L., Hämäläinen M.S. MEG and EEG data analysis with MNE-Python. Frontiers in Neuroscience. 2013. 7(267): 1–13.
- Hamalainen M., Hari R., Ilmoniemi R.J., Knuutila J., Lounasmaa O.V. Magnetoencephalography theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. Reviews on modern physics. 1993. 65(2).
- Hangya B., Tihanyi B.T., Entz L., Fabo D., Eross L., Wittner L., Jakus R., Varga V., Freund T.F., Ulbert I. Complex propagation patterns characterize hu-

- man cortical activity during slow-wave sleep. Journal of Neuroscience. 2011. 31(24): 8770–8779.
- *Hindriks R., van Putten M., Deco G.* Intra-cortical propagation of EEG alpha oscillations. NeuroImage. 2014. 103: 444–453.
- Huang X., Troy W. C., Yang Q., Ma H., Laing C.R., Schiff S.J., Wu J.-Y. Spiral waves in disinhibited mammalian neocortex. The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience. 2004. 24(44): 9897—9902.
- Komoltsev I.G., Sinkin M.V., Volkova A.A., Smirnova E.A., Novikova M.R., Kordonskaya O.O., Talypov A.E., Guekht A.B., Krylov V.V., Gulyaeva N.V. A Translational Study on Acute Traumatic Brain Injury: High Incidence of Epileptiform Activity on Human and Rat Electrocorticograms and Histological Correlates in Rats. Brain Sci. 2020. 10(9), 570.
- Koptelova A., Bikmullina R., Medvedovsky M., Novikova S., Golovteev A., Grinenko O., Korsakova M., Kozlova A., Arkhipova N., Vorobyev A., Melikyan A., Paetau R., Stroganova T., Metsahonkala L. Ictal and interictal MEG in pediatric patients with tuberous sclerosis and drug resistant epilepsy. Epilepsy Res. 2018. 140: 162–165.
- *Lubenov E.V., Siapas A.G.* Hippocampal theta oscillations are travelling waves. Nature. 2009. 373 459(7246): 534–539.
- Mak-McCully R.A., Rosen B.Q., Rolland M., Régis J., Bartolomei F., Rey M., Chauvel P., Cash S.S., Halgren E. Distribution, amplitude, incidence, co-occurrence, and propagation of human k-complexes in focal transcortical recordings. Eneuro. 2015. 2(4): ENEURO.0028–15.2015.
- Martinet L.-E., Fiddyment G., Madsen J.R., Eskandar E.N., Truccolo W., Eden U.T., Cash S.S., Kramer M.A. Human seizures couple across spatial scales through travelling wave dynamics. Nature Communications. 2017. 8(1).
- Massimini M. The sleep slow oscillation as a traveling wave. Journal of Neuroscience. 2004. 24(31): 6862–6870.
- Mosher J.C., Leahy R.M. Source localization using recursively applied and projected (RAP) MUSIC. IEEE Transactions on Signal Processing. 1999. 47(2): 332–340.
- Muller L., Reynaud A., Chavane F., Destexhe A. The stimulus-evoked population response in visual cortex of awake monkey is a propagating wave. Nature Communications. 2014. 5(1).
- Muller L., Chavane F., Reynolds J., Sejnowski T.J. Cortical travelling waves: mechanisms and computational principles. Nature Reviews Neuroscience. 2018. 19(5): 255–268.
- Nasiotis K., Clavagnier S., Baillet S., Pack C.C. Highresolution retinotopic maps estimated with mag-

- netoencephalography. NeuroImage. 2017. 145: 107–117.
- Oostenveld R., Fries P., Maris E., Schoffelen J.M. FieldTrip: Open Source Software for Advanced Analysis of MEG, EEG, and Invasive Electrophysiological Data. Computational Intelligence and Neuroscience. 2011. Vol. 2011, Article ID 156869.
- Ossadtchi A., Baillet S., Mosher J.C., Thyerlei D., Sutherling W., Leahy R.M. Automated interictal spike detection and source localization in magnetoencephalography using independent components analysis and spatiotemporal clustering. Clinical Neurophysiology. 2004. 115(3): 508–522.
- Ossadtchi A., Mosher J.C., Sutherling W.W., Greenblatt R.E., Leahy R.M. Hidden markov modelling of spike propagation from interictal MEG data. Physics in Medicine and Biology. 2005. 50(14): 3447–3469.
- Patten T.M., Rennie C.J., Robinson P.A., Gong P. Human cortical traveling waves: Dynamical properties and correlations with responses. PLoS ONE. 2012. 7(6): e38392.
- Petrov Y. Harmony: EEG/MEG Linear Inverse Source Reconstruction in the Anatomical Basis of Spherical Harmonics. PLoS ONE. 2012. 7(10): e44439
- Prechtl J.C., Cohen L.B., Pesaran B., Mitra P.P., Kleinfeld D. Visual stimuli induce waves of electrical activity in turtle cortex. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1997. 94(14): 7621–7626.
- Stead M., Bower M., Brinkmann B.H., Lee K., Marsh W.R., Meyer F.B., Litt B., Gompel J.V., Worrell G.A. Microseizures and the spatiotemporal scales of human partial epilepsy. Brain: a journal of neurology. 2010. 133(9): 2789–2797.
- Tadel F., Baillet S., Mosher J., Pantazis D., Leahy R.M. Brainstorm: A user-friendly application for MEG/EEG analysis. Computational Intelligence and Neuroscience. 2011.
- *Tibshirani R.* Regression shrinkage and selection via the lasso. Journal of the Royal Statistical Society. 1996. 58(1): 267–288.
- Tomlinson S.B., Bermudez C., Conley C., Brown M.W., Porter B.E., Marsh E.D. Spatiotemporal mapping of interictal spike propagation: A novel methodology applied to pediatric intracranial EEG recordings. Frontiers in Neurology. 2016. 7.
- Wu J.-Y., Huang X., Zhang C. Propagating waves of activity in the neocortex: What they are, what they do. The Neuroscientist. 2007. 14(5): 487–502.
- Zhang H., Watrous A.J., Patel A., Jacobs J. Theta and alpha oscillations are traveling waves in the human neocortex. Neuron. 2018. 98(6): 1269–1281.e4.

LOCAL PROPAGATION DYNAMICS OF MEG INTERICTAL SPIKES

A. A. Kuznetsova^a, A. E. Ossadtchi^{b, #}

^aInternational Laboratory of Social Neurobiology, Higher School of Economics, Moscow, Russia ^bCenter for Bioelectric Interfaces, Higher School of Economics, Moscow, Russia [#]e-mail: ossadtchi@gmail.com

Epilepsy is one of the most common neurological disorders, with about 30% of cases being drug resistant and requiring surgical intervention. To localize the epileptogenic zone, the pathological area that has to be surgically removed, brain regions are inspected for the presence of spikes during the interictal periods. Here we present a framework to noninvasively investigate the fine patterns of interictal spikes present in magnetoencephalographic (MEG) data. We use a traveling wave model to regularize the MEG inverse problem and to determine the cortical paths of spike traveling waves. Our algorithm represents spike propagation patterns as a superposition of local waves traveling along radial paths stemming from a single origin. With the help of the positively constrained LASSO technique, we scan over wave onset moment and propagation velocity parameters to determine their combination that yields the best fit to the MEG sensor data of each spike. We first used realistically simulated MEG data to validate the algorithm ability to successfully track interictal activity on a millimeter-millisecond scale. Next, we examined MEG data from three patients with drug-resistant epilepsy. Wave-like spike patterns with clear propagation dynamics were found in a fraction of spikes, whereas the other fraction could not be explained by the wave propagation model with a small number of propagation directions. Moreover, in agreement with the previous work, the spike waves with clear propagation dynamics exhibited spatial segregation and matched the clinical records on seizure onset zones (SOZs) available for two patients out of three.

Keywords: MEG inverse problem, cortical traveling waves, automatic interictal spike detection, localization of seizure onset zone

УЛК 612.821

МОЗГОВАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ ПРИ ОТСРОЧЕННОМ КОПИРОВАНИИ ЛОМАНОЙ ЛИНИИ: АНАЛИЗ ПОТЕНЦИАЛОВ, СВЯЗАННЫХ С ИМПЕРАТИВНЫМ СИГНАЛОМ

© 2022 г. А. В. Курганский^{1, 2, *}, Д. И. Ломакин¹, А. А. Корнеев^{1, 3}, Р. И. Мачинская¹

¹Институт возрастной физиологии, Российская академия образования, Москва, Россия ²Российская академия народного хозяйства и государственной службы, Москва, Россия ³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия *e-mail: akurg@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.09.2021 г. После доработки 10.12.2021 г. Принята к публикации 20.12.2021 г.

Группа взрослых испытуемых решала задачу на рабочую память (РП), предполагающую отсроченное копирование (рисование) ломаной линии, заданной либо статически в виде рисунка, либо динамически — путем показа курсора, движущегося вдоль невидимого контура этой линии. Исследовалось совместное влияние режима предъявления траектории (статического и динамического) и длительности удержания репрезентации в РП (величины задержки императивного стимула) на потенциалы (ССП), связанные с подачей звукового сигнала. Анализировались 5 длиннолатентных корковых компонентов ССП: N100, P200, P250, P300 и N400. Показано, что амплитуда N100 статистически значимо больше при статическом предъявлении ломаной, чем при динамическом, но не зависит от длительности задержки. Амплитуда остальных компонентов, напротив, зависела от величины задержки, но не зависела от режима предъявления, при этом она была выше при более длительной задержке. Обсуждается возможность, что (1) более высокие значения амплитуды N100 при статическом предъявлении ломаной линии, чем при динамическом, обусловлены дополнительным вовлечением нисходящего контроля на относительно ранних стадиях извлечения информации из РП и/или тем, что (2) в сохранении репрезентации ломаной линии в РП участвуют разные зрительные сенсорно-специфические зоны в зависимости от режима предъявления, а в их активации в ответ на императивный звуковой сигнал принимают участие различные группы нейронов слуховой коры. Предполагается, что зависимость амплитуды компонентов Р200, Р250, Р300 и N400 от времени удержания репрезентации ломаной в РП связана с преобразованием этой репрезентации от сенсорно-специфического к абстрактному формату, а также с подготовкой к последующему двигательному воспроизведению.

Ключевые слова: рабочая память, связанные с событием потенциалы, преобразование внутренней репрезентации, двигательное воспроизведение

DOI: 10.31857/S0044467722030066

ВВЕДЕНИЕ

Концепция рабочей памяти (РП) является одной из центральных в нейрокогнитивной науке, и мозговые процессы, лежащие в ее основе, составляют предмет устойчивого интереса исследователей.

Способ хранения информации в РП — формат сохраняемых в ней кодов — зависит от сенсорной модальности входной информа-

ции: в популярной модели РП, предложенной почти полвека назад Бэддели и Хитчем (Baddeley, Hitch, 1974; Baddeley, 2012), для зрительно-пространственной и фонологической информации предусмотрены два раздельных специализированных хранилища (visuospatial sketchpad и phonological loop). Роль РП не ограничивается сохранением и преобразованием сенсорной информации.

РП способна сохранять также моторную информацию (Jaroslawska et al., 2018) и более абстрактную информацию о серийном порядке — порядке элементов разной природы в их последовательности (Baddeley, 2012; Hurlstone et al., 2014). Даже в пределах одной сенсорной модальности характер сохраняемой в РП информации и мозговые процессы, отвечающие за ее кодирование и последующее использование, зависят от способа предъявления этой информации, от задачи и от того, как эта информация будет использована в дальнейшем (Alain et al., 2009; Yang et al., 2015; Absatova, Kurgansky, 2016).

Экспериментальные и теоретические работы последних лет указывают на то, что РП является подвижной динамической системой, в которой параллельно существующие и конкурирующие репрезентации эволюционируют во времени (Корнеев и др., 2016а; Chota, Van der Stigchel, 2020).

В наших предыдущих работах мы исследовали динамику сохраняемой в РП репрезентации последовательности движений, заданной статическим или динамическим зрительным образцом (Корнеев, Курганский, 2013, 2014а, 2014б; Корнеев и др., 2016а). Мы анализировали характеристики двигательного воспроизведения траектории (рисования ломаной линии), заданной в зрительной модальности либо статически в виде рисунка, либо динамически – движением по этой траектории (невидимой испытуемому) небольшого пятна (рис. 1). Для изучения процесса преобразования информации в РП – "динамики РП" – нами была использована парадигма задержанного воспроизведения траектории в ответ на предъявление императивного сигнала (ИС). Идея состояла в том, что с помощью ИС можно прозондировать характер сохраняемой в РП репрезентации и процессы ее преобразования в двигательный ответ, систематически варьируя момент предъявления ИС относительно момента окончания целевого стимула — величину задержки Td. Поскольку при разных значениях Td императивный сигнал задается одним и тем же стимулом и требует одного и того же двигательного ответа, любые систематические различия в характеристиках двигательного ответа, которые могут быть обнаружены при разных длительностях задержки Td, должны быть отнесены на счет изменений в формате сохраняемой в РП информации и/или процессов преобразования этой информации в двигательные команды. Выполненные в рамках этой парадигмы исследования показали, что латентный период двигательного ответа (воспроизведения ломаной линии в виде рисунка), характерная длительность движения и длительность остановки в вершинах ломаной, вообще говоря, различны при статическом и динамическом предъявлении ломаной. Оказалось, что такое различие в величине латентного времени максимально непосредственно после предъявления ломаной, убывает по мере увеличения задержки императивного сигнала и исчезает при Td более 3 сек.

Отмеченные выше психометрические данные указывают на потенциальное различие в мозговых процессах, протекающих в РП на этапах занесения, удержания и извлечения информации при различных режимах предъявления траектории и различных величинах задержки. Для выявления характера этих процессов психометрических методов недостаточно; необходимо непосредственное исследование активности мозга. Первый шаг в этом направлении был предпринят в работе (Корнеев и др., 2016б). В этой работе анализировалось влияние времени задержки на корковые связанные с событием потенциалы (ССП), возникающие в ответ на императивный звуковой сигнал, в ситуации удержания в РП зрительной информации, предъявляемой в статическом режиме. Было показано, что потенциалы, связанные с императивным стимулом, существенно зависят от времени удержания в РП внутренней репрезентации ломаной линии. Анализ корковых источников ССП показал, что наблюдаемым на скальпе изменениям потенциала соответствуют выраженные и статистически значимые изменения реакции корковых источников как минимум в трех кластерах вокселов: с увеличением задержки наблюдается возрастание степени вовлечения правой орбитальной коры и билатерально-симметричное возрастание активности связанных с моторной системой дорсальных прецентральных и постцентральных корковых областей.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы сделать следующий шаг и исследовать совместное влияние режима предъявления траектории (статического и динамического) и длительности удержания репрезентации в РП (величины задержки императивного стимула) на вызванную биоэлектрическую активность мозга.

МЕТОДИКА

В эксперименте приняли участие 33 взрослых праворуких по самоотчету испытуемых (20 женщин и 13 мужчин) в возрасте от 21 года до 55 лет (32.2 ± 7.9 лет). Все испытуемые дали информированное согласие на участие в эксперименте. Протокол эксперимента был одобрен этической комиссией ФБГНУ "Институт возрастной физиологии Российской академии образования".

Каждому испытуемому предлагалось запомнить и потом нарисовать последовательность вертикально и горизонтально ориентированных отрезков прямой, составляющих незамкнутую ломаную линию (рис. 1). Длина ломаной варьировала от 4 до 6 элементов. Испытуемого просили начинать воспроизведение запомненной ломаной в ответ на императивный сигнал. Императивный сигнал представлял собой короткую тональную посылку частотой 440 Гц и длительностью 100 мс. Использовались два значения (500 и 3000 мс) задержки начала императивного сигнала относительно момента окончания последнего стимула последовательности.

Ломаная линия — шаблон траектории будущего движения — предъявлялась испытуемому в двух режимах — статическом (ST) и динамическом (DN). В статическом режиме ломаная линия предъявлялась на фиксированное время ($T=2000\,$ мс) вся целиком (рис. 1 (а)). В динамическом режиме по невидимому для испытуемого контуру ломаной линии двигалась точка (рис. 1 (б)) по закону, имитирующему движение кончика карандаша, которым рисует такую линию человек (Корнеев, Курганский, 2013). Время движения по каждому отрезку ломаной составляло 500 мс, что соответствует комфортно быстрому рисованию отрезка прямой человеком.

Эксперимент состоял из двух блоков проб (48 проб в каждом), различающихся режимом предъявления ломаной линии (статический или динамический). В каждом блоке в половине проб императивный сигнал был задержан на 500 мс, а в оставшейся половине — на 3000 мс. При этом в пределах одного блока пробы с длительной и короткой задержкой были перемешаны в квазислучайном порядке. Временное расписание событий в пределах пробы показано на рис. 1 (в).

Эксперимент проводился в полностью автоматическом режиме на компьютере Lenovo Yoga с сенсорным экраном, работающем под

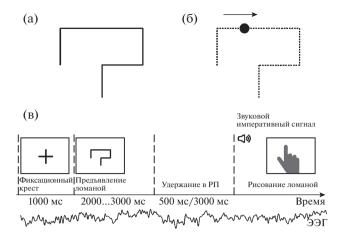


Рис. 1. Режимы предъявления стимулов и последовательность событий в одной экспериментальной пробе. (а) Типичная ломаная линия, предъявленная обычным образом в виде рисунка (статический режим предъявления, ST). (б) Эта же линия, заданная движением круглого пятна вдоль ее пяти сегментов (динамический режим предъявления, DN). (в) Последовательность событий в пробе: предъявление фиксационного крестика (1000 мс), предъявление ломаной линии (2000, 2500 или 3000 мс для ломаной, состоящей из 4, 5 или 6 сегментов), удержание следа ломаной (500 или 3000 мс), предъявление звукового императивного сигнала и двигательное воспроизведение запомненной ломаной (рисование кончиком указательного пальца) на сенсорном эране компьютера. В течение всей пробы регистрируется многоканальная ЭЭГ, схематически показанная в виде одного одноканального сигнала ниже оси времени.

Fig. 1. Stimuli presentation modes and the sequence of events in an experimental trial. (a) A typical broken line presented in a usual way as a line drawing; (6) the same broken line presented via showing a small spot moving along invisible segments of this line; (B) the sequence of events in a single trial comprise of (i) showing a fixation cross for 1000 ms, (ii) presenting broken line (2000, 2500 or 3000 ms for a broken line, containing 4, 5 or 6 segments, respectively), (iii) retention of the representation of the broken line in working memory (500 or 3000 ms), (iv) presentation of the auditory go signal, and (v) reproducing the retained broken line by drawing it with the index finger on the touchscreen surface. The multichannel EEG is recorded along entire trial. It is shown schematically as a single EEG trace below the time axis.

управлением операционной системы Kubuntu. Ход эксперимента контролировала управляющая программа (скрипт), реализованная в вычислительной среде Octave с использованием библиотеки функций psychtoolbox 3 (www.psychtoolbox.org). Управляющий скрипт определял временное расписание предъявле-

ния стимулов, регистрировал прикосновения к сенсорному экрану и перемещения вдоль него пальца испытуемого; кроме того, он также управлял компьютерным электроэнцефалографом — включал и выключал запись ЭЭГ.

Во время проведения эксперимента испытуемый сидел в кресле в затемненной камере и смотрел на экран, расположенный на таком расстоянии от испытуемого, чтобы было удобно касаться пальцем экрана и рисовать на нем ломаные линии (40–45 см). При этом до начала двигательного ответа испытуемый удерживал указательный палец в определенной позиции (home position) — касался небольшого прямоугольника на сенсорном экране.

ЭЭГ высокой плотности записывалась при помощи компьютерного электроэнцефалографа (Electrical Geodesics, Inc.) в полосе частот 0.1—70 Гц (частота оцифровки 250 Гц) от 129 электродов, расположенных в узлах сетчатого шлема HydroCel GSN (HCGSN), один из которых (вертексный электрод) использовался в качестве референтного. Запись ЭЭГ не была непрерывной, и созданные программой NetStation файлы данных содержали отдельные записи ЭЭГ для каждой пробы.

Для дальнейшего анализа в вычислительной среде Осtave индивидуальные записи ЭЭГ извлекались из файлов и преобразовывались к формату (*.mat). При оценке ССП из отдельных записей ЭЭГ извлекались отрезки, привязанные по времени к началу императивного сигнала (короткого звука). Отрезки, содержащие артефакты, удалялись целиком в автоматическом режиме на основе порогового критерия: отрезок считался артефактным, если после удаления постоянной составляющей, сетевой наводки 50 Гц и последующей фильтрации в полосе частот 0.5—50 Гц амплитуда сигнала превышала 50 мкВ.

Для того чтобы вычислить индивидуальные ССП, для каждого испытуемого из ЭЭГ каждой пробы отдельно для каждого режима предъявления (ST, DN) и двух значений задержки (500, 3000 мс) были выбраны безартефактные отрезки длительностью 660 мс, из которых 160 мс составлял предстимульный период. В качестве референтного сигнала для отобранных отрезков использовалась полусумма сигналов от сенсоров, расположенных над левым и правым мастоидами.

Индивидуальные ССП вычислялись не для исходных отведений шлема HCGSN, а

для 20 псевдоотведений, соответствующих 8 парам латерально-симметричных отведений (Fp1/2, F3/4, F7/8, C3/4, P3/4, T3/4, P5/6, О1/О2) и четырем сагиттальным отведениям (Fz. Cz. Pz. Oz) схемы 10-20. Сигналы 20 псевдоотведений формировались следующим образом. На шлеме HCGSN были выбраны 20 электродов, соответствующих указанным 20 отведениям схемы 10-20, и для каждого такого электрода выбирались 4 или 5 его ближайших соседей (выбор 4 или 5 соседних каналов определялся соображениями симметрии и компактности – выбранные электроды должны были располагаться на равном расстоянии от центрального). К безартефактным отрезкам ЭЭГ. принадлежащим каждой такой группе каналов (центральному каналу и его 4 или 5 соседям), применялся метод главных компонент, и первая главная компонента (компонента с наибольшей дисперсией) рассматривалась в качестве сигнала, характеризующего скоррелированную активность всей группы каналов. Полученный сигнал масштабировался таким образом, чтобы его средняя квадратичная амплитуда совпадала с таковой для всей группы исходных каналов. Таким образом, в результате описанной процедуры исходная 128-канальная ЭЭГ была заменена на 20 псевдоотведений схемы 10-20, сигналы которых характеризовали ЭЭГ 20 групп реальных отвелений на шлеме HCGSN.

Полученные данные анализировались с помощью дисперсионного анализа, выполненного по схеме с повторными измерениями (rmANOVA). Отдельно анализировались значения ССП для 8 пар симметрично расположенных латеральных псевдоотведений (Fp1/2, F3/4, F7/8, C3/4, P3/4, T3/4, P5/6, O1/O2) и четырех сагиттальных псевдоотведений (Fz, Cz, Pz, Oz).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате анализа ССП, полученных для всех сочетаний уровней факторов РЕЖИМ и ЗАДЕРЖКА, были выделены 5 компонентов (N100, P200, P250, P300, N400), показанные на рис. 2 для наиболее наглядного случая — статического предъявления ломаной при длительной задержке императивного сигнала (3000 мс). Соответствующие распределения потенциала по скальпу для каждого из этих компонентов показаны на рис. 3.

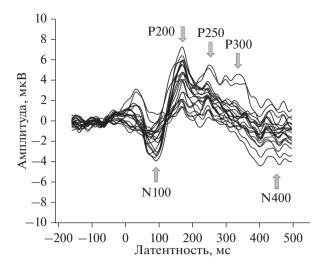


Рис. 2. Усредненный по испытуемым ССП в ответ на императивный звуковой сигнал при статическом предъявлении ломаной и длительном (3000 мс) периоде удержания ее репрезентации в РП. Потенциалы для 20 псевдоотведений наложены друг на друга, и анализируемые в работе компоненты отмечены стрелками N100, P200, P250, P300 и N400. Вдоль оси абсцисс отложена латентность (в мс); вдоль оси ординат — амплитуда в мкВ.

Fig. 2. Shown is the mean over all participants ERP related to imperative auditory signal. This ERP is computed for the static presentation mode and the long (3000 ms) retention period. Potentials for all 20 pseudo electrodes are overlapped; the ERP components of interest are labeled N100, P200, P250, P300, N400 and marked with arrows. The horizontal axis corresponds to latency (ms); the vertical axis corresponds to amplitude (uV).

В отношении компонента Р300 возникли опасения, что значительный вклад в него могут вносить электроокулографические (ЭОГ) артефакты (мы благодарны анонимному рецензенту, указавшему на это обстоятельство). Использованный нами жесткий амплитудный критерий (<50 мкВ) включения отрезков ЭЭГ в дальнейшую обработку позволил исключить влияние высокоамплитудных электроокулографических, но не низкоамплитудных ЭОГ-артефактов. Сопоставление ССП со связанными с событием ЭОГ (синхронной суммой отрезков ЭОГ-каналов, входящих в исходную 128-канальную запись ЭЭГ) при длительной задержке императивного сигнала (3000 мс) показало, что в случае статического предъявления ломаной, действительно, пик ССП с латентностью около 300 мс (см. рис. 2) может быть полностью или частично объяснен вкладом электроокулограммы. Однако

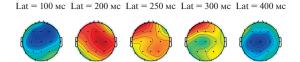


Рис. 3. Распределение по скальпу потенциала компонентов N100, P200, P250, P300 и N400, показанных на рис. 2. Красный цвет соответствует позитивности, а синий — негативности.

Fig. 3. Scalp distribution of event-related potential for N100, P200, P250, P300, and N400 components shown in Fig. 2. Red color corresponds to positivity and blue color corresponds to negativity.

это не справедливо в ситуации с динамическим предъявлением ломаной, где отчетливо выраженный Р300 на ССП не имеет аналога в ЭОГ-каналах. Таким образом, нет сомнений в наличии Р300 мозговой природы.

Для дальнейшей статистической обработки для каждого выделенного компонента была оценена его средняя амплитуда (амплитуда измерялась относительно нулевой линии) в 16-миллисекундном временном интервале от его пиковой латентности минус 8 мс до пиковой латентности плюс 8 мс.

Полученные для 8 пар симметрично расположенных латеральных псевдоотведений значения ССП были подвергнуты дисперсионному анализу (rmANOVA) с внутрииндивидуальными факторами: РЕЖИМ (статический; динамический), ЗАДЕРЖКА (короткая, 500 мс; длинная, 3000 мс), КОМПОНЕНТ (N100, P200, P250, P300, N400), ПОЛУШАРИЕ (левое, правое), ОТВЕДЕНИЕ (Fp, F, Fi, C, P, Ta, Tp, O). Описательная статистика для амплитуд выделенных компонентов ССП в билатерально-симметричных и сагиттальных отведениях в различных экспериментальных условиях представлена в таблице 1.

Из двух интересующих нас основных эффектов значимым оказалось влияние фактора ЗАДЕРЖКА (F(1, 20) = 11.466; p = 0.003; $\eta_p^2 = 0.364$), но не фактора РЕЖИМ (p = 0.472). Однако оказались значимыми взаимодействия с этим фактором: двойное взаимодействие РЕЖИМ × КОМПОНЕНТ (F(4, 17) = 4.337; p = 0.013; $\eta_p^2 = 0.505$) и тройное взаимодействие РЕЖИМ × ЗАДЕРЖКА × КОМПОНЕНТ (F(4, 17) = 3.043; p = 0.046; $\eta_p^2 = 0.417$). Фактор ЗАДЕРЖКА также оказался участником двух значимых двойных взаимодействий: ЗАДЕРЖКА × ОТВЕДЕ-

Таблица 1. Описательная статистика компонентов ССП для двух режимов предъявления ломаной линии и двух значений задержки **Table 1.** Descriptive statistics of amplitudes of the ERP components for two presentation modes and two delays

		Режим предъявления траектории				
ССП	Отведения	статич	неский	динамический		
CCII	Отведения.	500 мс	3000 мс	500 мс	3000 мс	
		Mean, Std.Error	Mean, Std.Error	Mean, Std.Error	Mean, Std.Error	
V100	Fp	-3.802, 1.483	-1.115, 1.353	-0.64, 0.980	-0.405, 1.244	
	F	-5.523, 1.512	-3.651, 1.502	-1.853, 0.924	-2.079, 1.050	
	Fi	-2.649, 0.954	-0.463, 0.834	-0.975, 0.687	-1.148, 0.757	
	C	-5.265, 1.302	-3.267, 1.059	-1.775, 0.820	-1.306, 0.767	
	P	-3.270, 0.899	-1.387, 0.571	-1.228, 0.617	-0.578, 0.501	
	Ta	-2.240, 0.649	-1.247, 0.681	-1.801, 0.467	-0.722, 0.461	
	Tp O	-1.842, 0.614	-0.614, 0.301	-0.967, 0.397	-0.479, 0.297	
		-1.758, 0.692	-0.515, 0.413	-0.885, 0.489	-0.824, 0.378	
	Fz	-5.644, 1.590	-3.461, 1.633	-0.953, 1.029	-1.975, 1.038	
	Cz	-6.126, 1.533	-3.802, 1.158	-1.818, 1.009	-1.692, 0.935	
	Pz	-3.601, 1.100	-1.756, 0.595	-1.236, 0.815	-0.931, 0.592	
200	Oz	-1.721, 0.700	-0.767, 0.493	-0.913, 0.515	-0.759, 0.429	
2200	Fp	0.090, 1.290	2.994, 1.371	0.525, 1.504	3.265, 1.500	
	F Fi	2.054, 0.993 -0.105, 0.799	3.923, 1.442 2.169, 1.037	1.174. 1.383 -0.483, 1.070	3.772, 1.269	
	C	2.476, 0.745	4.368, 0.983	1.623, 0.976	1.012, 0.830 4.106, 0.783	
	P	1.290, 0.590	3.309, 0.587	0.882, 0.638	3.144, 0.523	
	Ta	0.706, 0.439	2.437, 0.601	-0.460, 0.600	1.514, 0.466	
		*	i '	· ·	*	
	Tp	-0.087, 0.454	1.506, 0.379	-0.026, 0.564	1.173, 0.416	
	О	0.012, 0.540	1.279, 0.506	0.027, 0.687	1.315, 0.523	
	Fz	2.136, 1.058	4.642, 1.773	2.350, 1.383	4.192, 1.379	
	Cz	3.545, 0.960	5.369, 1.228	2.689, 1.245	5.530, 1.125	
	Pz	1.463, 0.759	3.579, 0.761	1.665, 0.905	3.437, 0.721	
	Oz	-0.302, 0.634	1.222, 0.527	0.293, 0.761	1.513, 0.609	
P250	Fp	-2.921, 1.463	3.841, 1.586	-1.432, 1.193	1.209, 1.395	
	F	-0.957, 0.978	2.828, 1.284	-0.843, 1.119	1.326, 1.242	
	Fi	-1.552, 0.762	2.821, 1.002	-1.294, 0.856	0.360, 0.734	
	C	-0.036, 0.555	2.084, 0.712	-0.037, 0.820	1.734, 0.819	
	P	0.347, 0.370	2.442, 0.431	0.126, 0.554	1.644, 0.569	
	Ta	-0.637, 0.421	2.119, 0.463	-0.395, 0.661	1.264, 0.497	
	Tp	-0.166, 0.444	1.377, 0.229	-0.274, 0.455	0.543, 0.499	
	О	0.201, 0.542	1.340, 0.453	-1.03, 0.589	0.151, 0.675	
	Fz	-1.361, 1.201	3.224, 1.581	-0.649, 1.262	1.151, 1.207	
	Cz	0.190, 0.590	2.227, 0.890	0.183, 0.996	2.019, 0.991	
	Pz	0.524, 0.455	2.630, 0.645	-0.224, 0.741	1.410, 0.753	
	Oz	0.139, 0.602	1.219, 0.548	-0.904, 0.670	0.222, 0.739	
P 300	Fp	-3.301, 1.408	2.250, 1.34	-1.055, 1.280	3.573, 1.046	
	F	-1.169, 0.975	1.063, 1.138	-1.025, 1.028	1.822, 0.958	
	Fi	-2.108, 0.928	2.030, 0.917	-0.958, 0.835	1.799, 0.715	
	C	-0.298, 0.575	-0.485, 0.697	-1.104, 0.657	0.382, 0.700	
	P	0.324, 0.461	0.062, 0.525	-1.102, 0.592	0.631, 0.569	
	Ta	-0.875, 0.441	0.384, 0.562	-1.091, 0.634	0.878, 0.418	
	Tp	-0.006, 0.466	-0.198, 0.469	-0.816, 0.488	0.050, 0.444	
	О	0.385, 0.567	-0.369, 0.710	-1.128, 0.719	0.014, 0.610	
	Fz	-1.383, 1.098	1.025, 1.298	-0.546, 1.116	1.734, 0.940	
	Cz	-0.245, 0.708	-1.593, 0.818	-1.379, 0.786	-0.247, 0.830	
	Pz	0.742, 0.616	-0.373, 0.687	-1.438, 0.806	0.037, 0.741	
	Oz	0.799, 0.682	-0.546, 0.845	-1.154, 0.807	0.033, 0.586	

Таблица 1. Окончание

		Режим предъявления траектории					
ССП	Отведения	статич	іеский	динамический			
CCII	Отведения.	500 мс	3000 мс	500 мс	3000 мс		
		Mean, Std.Error	Mean, Std.Error	Mean, Std.Error	Mean, Std.Error		
N400	Fp	-5.044, 1.460	-0.443, 1.500	-1.237, 1.152	1.670, 1.090		
	F	-3.878, 1.143	-1.850, 1.203	-1.435, 1.028	-0.593, 0.709		
	Fi	-2.834, 0.949	0.702, 0.758	-0.884, 0.739	0.423, 0.570		
	C	-2.835, 0.784	-3.058, 0.897	-2.431, 0.730	-1.746, 0.506		
	P	-1.443, 0.536	-1.653, 0.709	-2.094, 0.509	-0.820, 0.500		
	Ta	-1.856, 0.552	-0.745, 0.455	-1.452, 0.554	-0.437, 0.300		
	Tp	-0.653, 0.531	-0.946, 0.501	-1.457, 0.429	-0.507, 0.463		
	O	-0.499, 0.578	-0.856, 0.792	-1.908, 0.639	-0.543, 0.758		
	Fz	-4.179, 1.232	-1.711, 1.365	-0.650, 1.546	-0.650, 1.546		
	Cz	-3.265, 0.748	-4.346, 1.137	-2.617, 0.925	-2.617, 0.925		
	Pz	-1.478, 0.683	-2.342, 0.928	-2.637, 0.680	-2.637, 0.680		
	Oz	0.384, 0.854	-0.926, 0.813	-2.030, 0.748	-2.030, 0.748		

Примечание: для каждого компонента ССП даны средние по парам симметричных латеральных отведений (Fp, F, Fi, C, P, O, Ta, Tp) значения амплитуды и индивидуальные значения амплитуды в сагиттальных отведениях (Fz, Cz, Pz, Oz). *Note:* For each ERP component shown are mean over pairs of symmetrical lateral electrodes (Fp, F, Fi, C, P, O, Ta, Tp) amplitudes and individual amplitude values for sagittal electrodes (Fz, Cz, Pz, Oz).

НИЕ (F(4, 17) = 4.713; p = 0.007; $\eta_p^2 = 0.702$) и ЗАДЕРЖКА × ПОЛУШАРИЕ (F(1, 20) = = 4.93; p = 0.038; $\eta_p^2 = 0.198$).

Полученные для сагиттальных отведений амплитуды компонентов ССП также были подвергнуты дисперсионному анализу с факторами РЕЖИМ (статический; динамический), ЗАДЕРЖКА (короткая, 500 мс; длинная, 3000 мс), КОМПОНЕНТ (N100, P200, P250, P300, N400), ОТВЕДЕНИЕ (Fz, Cz, Pz, Oz). Был обнаружен значимый эффект фактора ЗАДЕРЖКА (F(1, 20) = 4.604, p = 0.044, η_p^2 = 0.187), значимое двойное взаимодействие РЕЖИМ × КОМПОНЕНТ (F(4, 17) = 3.477, p = 0.030, η_p^2 = 0.450) и два тройных взаимодействия РЕЖИМ х ЗАДЕРЖКА × КОМПОНЕНТ (F(4, 17) = 3.071, p = 0.045, η_p^2 = 0.420) и ЗАДЕРЖКА × КОМПОНЕНТ × ОТВЕДЕНИЕ (F(12, 9) = 8.406, p = 0.002, η_p^2 = 0.918).

Наличие значимых взаимодействий с участием фактора КОМПОНЕНТ позволяет перейти к анализу влияния остальных факторов на каждый из компонентов по отдельности.

Компонент N100

Дисперсионный анализ амплитуды компонента N100 для 8 пар билатерально-симметричных отведений с факторами РЕЖИМ, ЗАДЕРЖКА, ПОЛУШАРИЕ и ОТВЕДЕНИЕ выявил значимое влияние фактора РЕЖИМ ($F(1, 20) = 7.516, p = 0.012, \eta_p^2 = 0.276$) и значимое взаимодействие РЕЖИМ × ОТВЕДЕНИЕ ($F(7, 14) = 5.103, p = 0.005, \eta_p^2 = 0.718$).

Дисперсионный анализ компонента N100 для 4 сагиттальных отведений с факторами РЕЖИМ, ЗАДЕРЖКА и ОТВЕДЕНИЕ выявил значимое влияние фактора РЕЖИМ ($F(1, 20) = 12.075, p = 0.002, \eta_p^2 = 0.376$) и значимое взаимодействие РЕЖИМ х ОТВЕДЕНИЕ ($F(7, 14) = 4.538, p = 0.015, \eta_p^2 = 0.431$).

Наличие значимых взаимодействий с фактором ОТВЕДЕНИЕ позволяет провести дисперсионный анализ амплитуды компонента N100 отдельно в каждой из 8 пар симметричных отведений, используя факторы РЕЖИМ, ЗАДЕРЖКА и ПОЛУШАРИЕ, и в каждом из 4 сагиттальных отведений, используя факторы РЕЖИМ и ЗАДЕРЖКА.

Для 8 статистических тестов, относящихся к билатерально-симметричным отведениям, использовалась поправка Бонферрони, и значимыми считались эффекты с p < 0.05/8 = 0.0062. Значимым оказался единственный эффект — влияние фактора РЕЖИМ в центральных отведениях С3 и С4 (F(1, 20) = 14.334, p = 0.001, $\eta_p^2 = 0.417$). При этом в статическом режиме амплитуда N100 была больше, чем в динамическом.

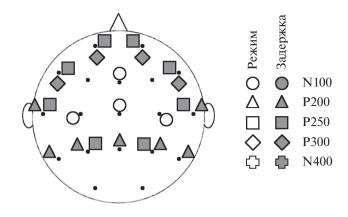


Рис. 4. Топографическая карта статистически значимых влияний факторов РЕЖИМ и ЗАДЕРЖКА на компоненты N100, P200, P250, P300 и N400. Соответствие между компонентами и значками показано справа, причем влиянию фактора РЕЖИМ соответствуют белые значки, а влиянию фактора задержка — темно-серые.

Fig. 4. The topographical map of statistically significant effects of the MODE and DELAY factors onto N100, P200, P250, P300, and N400 components. It is shown on the right which mark corresponds to which ERP components. The effect of MODE is shown with marks filled with white color; the effect of DELAY is shown with marks filled with dark gray color.

Для 4 статистических тестов, относящихся к сагиттальным отведениям, использование поправки Бонферрони приводило к критерию значимости p < 0.05/4 = 0.0125. Значимым оказалось влияние фактора РЕЖИМ в отведениях Fz (F(1, 20) = 10.388, p = 0.004, $\eta_p^2 = 0.342$) и Cz (F(1, 20) = 14.855, p = 0.001, $\eta_p^2 = 0.426$). При этом в обоих случаях амплитуда компонента была больше при статическом предъявлении. Симметричные и сагиттальные отведения, для которых были выявлены значимые различия амплитуд N100, обозначены на схеме (рис. 4).

Остальные компоненты анализировались по аналогичной схеме.

Компонент Р200

Для 8 пар билатерально-симметричных отведений было обнаружено значимое влияние фактора ЗАДЕРЖКА (F(1, 20) = 13.259, p = 0.002, $\eta_p^2 = 0.399$) и двух взаимодействий с его участием: ЗАДЕРЖКА × ОТВЕДЕНИЕ (F(7, 14) = 0.895, p = 0.043, η_p^2 = 0.591) и

ЗАДЕРЖКА × ПОЛУШАРИЕ (F(1, 20) = 5.829, p = 0.025, $\eta_p^2 = 0.226$).

Для 4 сагиттальных отведений значимым также оказалось влияние фактора ЗАДЕРЖКА ($F(1, 20) = 9.276, p = 0.006, \eta_p^2 = 0.317$).

Дисперсионный анализ амплитуды компонента P200, выполненный для каждой из 8 пар симметричных отведений, выявил значимые эффекты фактора ЗАДЕРЖКА в центральных C3 и C4 (F(1, 20) = 10.735, p = 0.004, η_p^2 = 0.349), теменных P3 и P4 (F(1, 20) = 21.795, p < 0.001, η_p^2 = 0.521), передневисочных T3 и T4 (F(1, 20) = 19.431, p < 0.001, η_p^2 = 0.593) и задневисочных T5 и T6 (F(1, 20) = 9.396, p = 0.006, η_p^2 = 0.320) отведениях. Во всех отмеченных выше случаях амплитуда P200 была больше при длительной задержке по сравнению с короткой задержкой.

В случае сагиттальных отведений обнаружен единственный значимый эффект — влияние фактора ЗАДЕРЖКА в Рz (F(1, 20) = 12.767, p = 0.002, $\eta_p^2 = 0.390$). При этом амплитуда компонента также выше при длительной задержке. Симметричные и сагиттальные отведения, для которых были выявлены значимые различия амплитуд P200, обозначены на схеме (рис. 4).

Дисперсионный анализ амплитуды P200 в отдельных отведениях не выявил значимых взаимодействий фактора ЗАДЕРЖКА с другими анализируемыми факторами.

Компонент Р250

Дисперсионный анализ амплитуды компонента P250 в парах билатерально-симметричных отведений выявил значимое влияние только одного фактора ЗАДЕРЖКА (F(1, 20) = 14.277, p = 0.001, $\eta_p^2 = 0.417$). Значимое влияние этого же фактора обнаружено в случае сагиттальных отведений (F(1, 20) = 9.528, p = 0.006, $\eta_p^2 = 0.323$).

Несмотря на отсутствие значимых взаимодействий ЗАДЕРЖКА × ОТВЕДЕНИЕ, было интересно посмотреть, в каких отведениях эффект длительности задержки выражен лучше, поэтому для амплитуды P250, так же как для других компонентов, проведен анализ в отдельных симметричных зонах по схеме ЗАДЕРЖКА × ПОЛУШАРИЕ и отдельных сагиттальных зонах по схеме РЕЖИМ × × ЗАДЕРЖКА.

Значимый эффект фактора ЗАДЕРЖКА был обнаружен в лобных полюсных Fp1 и Fp2 (F(1, 20) = 9.313, p = 0.006, η_p^2 = 0.318), нижнелобных F7 и F8 (F(1, 20) = 10.549, p = 0.004, η_p^2 = 0.345), теменных P3 и P4 (F(1, 20) = 9.447, p = 0.006, η_p^2 = 0.321) и передневисочных T3 и T4 (F(1, 20) = 14.214, p = 0.001, η_p^2 = 0.448) отведениях. Во всех этих случаях амплитуда P250 оказалась выше при более длительной задержке. Симметричные и сагиттальные отведения, для которых были выявлены значимые различия амплитуд P200, обозначены на схеме (рис. 4).

И только в одном случае был обнаружен значимый эффект фактора РЕЖИМ: в затылочных латеральных отведениях — O1, O2 — амплитуда компонента P250 была выше при предъявлении ломаной линии в статическом режиме, чем в динамическом (F(1, 20) = 10.917, p = 0.004, $\eta_p^2 = 0.353$).

Компонент Р300

Дисперсионный анализ амплитуды компонента P300 в парах билатерально-симметричных отведений выявил значимое влияние фактора ЗАДЕРЖКА (F(1, 20) = 7.580; p = 0.012, η_p^2 = 0.275) и значимое взаимодействие ЗАДЕРЖКА × ОТВЕДЕНИЕ (F(7, 14) = 5.692; p = 0.003, η_p^2 = 0.740).

В случае сагиттальных отведений значимых влияний ни фактора РЕЖИМ, ни фактора ЗАДЕРЖКА не выявлено, но значимыми оказались взаимодействия этих факторов: РЕЖИМ × ОТВЕДЕНИЕ (F(3, 18) = 3.565, p = 0.035, $\eta_p^2 = 0.373$) и ЗАДЕРЖКА × ОТВЕДЕНИЕ (F(3, 18) = 7.892, p = 0.001, $\eta_p^2 = 0.568$).

Дисперсионный анализ амплитуды компонента P300, выполненный для каждой из 8 пар симметричных отведений, выявил значимый эффект фактора ЗАДЕРЖКА в следующих двух парах отведений: в лобных полюсных отведениях Fp1 и Fp2 (F(1, 20) = 12.478, p = 0.002, $\eta_p^2 = 0.384$) и нижнелобных отведениях F7 и F8 (F(1, 20) = 11.842, p = 0.003, $\eta_p^2 = 0.372$). При этом амплитуда компонента P300 была выше при длительной задержке. Других значимых эффектов или взаимодей-

ствий не обнаружено ни в отдельных парах латеральных отведений, ни в одном из сагиттальных отведений.

Компонент N 400

Дисперсионный анализ не выявил значимых эффектов для этого компонента. Обнаружено лишь влияние фактора ЗАДЕРЖКИ на уровне тенденции (p = 0.054), другие эффекты или взаимодействия отсутствуют.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Связанные с событиями потенциалы на слуховой императивный сигнал соответствуют (см. рис. 3) тем, что описаны в большинстве нейрокогнитивных исследований для стимулов слуховой модальности, а выделенные компоненты относятся к категории длиннолатентных компонентов (long-latency responses), к которым обычно относят компоненты с латентностью более 50 мс (Luck, 2012).

Полученные в настоящей работе данные показывают, что факторы РЕЖИМ (ST, DN) и ЗАДЕРЖКА (500 мс, 3000 мс) оказывают статистически значимое влияние на амплитуду компонентов ССП, возникающего в ответ на простой и неизменный звуковой императивный сигнал. Этот результат неудивителен, поскольку относительно длиннолатентных компонентов известно, что как в слуховой, так и в зрительной модальности компоненты с латентностью 100 мс и более чувствительны не только к различным параметрам самого сенсорного сигнала, но также к эндогенным воздействиям: к различным аспектам внимания (Woldorff et al., 1993; Luck, Kappenman, 2012) и памяти (Rugg, Curran, 2007), в том числе РП (Agam, Sekuler, 2007), а также к характеру ответной реакции (Aasen, Brunner, 2016).

В нашей экспериментальной модели звуковой сигнал одновременно является и стимулом, зондирующим состояние нейронных сетей (probe stimulus) в период удержания значимой информации. Хотя в литературе данные о связи ССП на подобный стимул с мозговой организацией РП весьма ограниченны, все же показано, например, что в период удержания в РП зрительно-пространственной информации увеличение нагрузки на РП приводит к изменению величины позитивных и негативных ССП с латентностью

от 100 до 400 мс в ответ на предъявление фиксационного крестика в качестве пробного стимула в период между тестовым и эталонным изображениями (Boonstra et al., 2013). В настоящем исследовании во всех экспериментальных условиях мы использовали один и тот же императивный сигнал, идентичными были и требования к ответной реакции (копирование ломаной линии). Это позволило минимизировать влияние экзогенных сенсорных, а также моторных аспектов когнитивной задачи на связанные с экспериментальными условиями изменения ССП на императивный стимул. Поэтому выявленные нами значимые изменения ССП правомерно рассматривать как отражение различий в активности нейронных сетей коры в процессе эндогенного извлечения релевантной информации из РП. Характер этих различий указывает на зависимость нейронной организации РП от способа предъявления серийной зрительной информации (статический vs. динамический) и времени задержки ответа.

Влияние фактора РЕЖИМ

Влияние фактора РЕЖИМ ограничивается всего одним компонентом N100 и наблюдается только в симметричных отведениях C3 и C4 и сагиттальных отведениях Cz и Fz, в которых не выявлено влияния фактора ЗАДЕРЖКА (рис. 4). Этот эффект не зависит от длительности удержания информации в РП (см. таблицу 1).

Согласно литературным данным, в компоненте N100 слухового ВП присутствуют функционально и топографически различные субкомпоненты (Zhang et al., 2011; Horváth, 2015; Fogarty et al., 2020). Один из них – субкомпонент N1b — регистрируется при относительно редком появлении слухового сигнала с интервалом более 5 с (Horváth, 2015) и как раз имеет максимальную амплитуду в передне-центральных отведениях (Fogarty et al., 2020), причем корковые источники N1b были обнаружены не только в сенсорно-специфических слуховых зонах, но и в различных зонах префронтальной и премоторной коры (Fogarty et al., 2020). Условия регистрации (редкое возникновение звукового сигнала) и передне-центральная топография значимых изменений N100 в нашем исследовании позволяют предположить, что фактор РЕЖИМ влияет именно на этот субкомпонент N1b.

Большинство авторов связывают переднецентральный компонент N100 с вовлечением механизмов эндогенного нисходящего внимания на ранних стадиях анализа релевантного стимула. В нашем случае, когда речь идет о реакции мозга на простой звуковой сигнал, нет основания предполагать, что N100 связан с привлечением внимания к звуковому сенсорному сигналу для его последующей обработки. Скорее сигналы от слуховых сенсорно-специфических нейронов (корковых и/или таламических) могут выступать триггером активации нейронных сетей нисходящего контроля на относительно ранних стадиях извлечения информации.

Косвенным подтверждением наличия связи компонента N100 с активацией механизмов нисходящего контроля, запускаемых внешней инструкцией при решении когнитивных задач, является связь между амплитудой компонента N1 (с латентностью около 160 мс) ССП на целевой зрительный стимул, следующий за стимулом—подсказкой, и временем реакции при выполнении flanker test: более быстрым и успешным пробам соответствовала большая амплитуда N100 (Schomaker, 2009).

В нашем исследовании более высокая амплитуда N100 в пробах с использованием статического способа предъявления ломаной может свидетельствовать о большем вовлечении систем эндогенного нисходящего контроля при извлечении статической зрительной информации по сравнению с информацией динамической. Действительно, преобразование изображения ломаной в последовательность моторных команд, соответствующих отдельным ее сегментам, требует дополнительного преобразования статической информации в динамическую форму. О некотором преимуществе динамического способа предъявления зрительнопространственной информации перед статическим свидетельствуют также экспериментальные данные: результаты сравнения в возрастной динамике эффективности решения когнитивной задачи при этих двух режимах предъявления информации (Pickering et al., 2001) и преимущество при использовании динамического представления информации по сравнению со статическим при двигательном научении по зрительному образцу у детей 6 лет (Chikha et al., 2021). Об этом же говорят (опосредованно) клинические исследования пациентов с шизофренией, которые указывают на относительную независимость репрезентаций статической и динамической зрительной информации в РП и необходимость дополнительного вовлечения механизмов нисходящего контроля для манипулирования с внутренними репрезентациями статических изображений (Cocchi et al., 2007).

Различия в амплитуде компонента N100 слухового ВП при статическом и динамическом предъявлении ломаной линии могут быть связаны не только с рассмотренными выше особенностями нисходящих (top-down) модулирующих влияний, но и с различиями в механизмах восприятия статических и динамических стимулов, и связанным с ними различием в мозговой организации РП.

Статически заданная ломаная анализируется зрительной системой как контур. Считается, что в восприятии контуров ключевую роль играют первичная зрительная кора V1, входящие в вентральный зрительный путь части экстрастриарных областей V2, V3, а также латеральный затылочный комплекс LOC (Neumann, Sepp, 1999; Larsson, Heeger 2006; Shpaner et al., 2013; Dumoulin et al., 2014; Li et al., 2019).

При динамическом задании траектории будущего движения направление и длина очередного сегмента ломаной линии определяется из наблюдения за движущимся пятном. В восприятии движущихся объектов принимают участие первичная зрительная кора V1, часть вторичной коры V2, относящаяся к дорсальному пути, и область МТ (у человека — это hMT+) (Kriegeskorte et al., 2003; Perry, Fallah, 2014; Donato et al., 2020).

Вся информация, полученная о будущей траектории графического движения, сохраняется в РП, что обеспечивается не только префронтальной корой, как предполагает каноническая модель РП (Curtis, Sprague, 2021), а и широко распределенной системой мозговых структур (D'Esposito, Postle, 2015), куда входят другие ассоциативные отделы коры, а также обеспечивающие зрительное восприятие сенсорно-специфические корковые отделы вплоть до первичной зрительной коры (Lee et al., 2016; Gayet et al., 2018; Scimeca et al., 2018; Curtis, Sprague, 2021).

Можно предположить, что предъявление звукового императивного сигнала приводит к тому, что слуховая кора "оповещает" корковые структуры (ассоциативные префронтальные, зрительные и моторные), входящие в

мозговой ансамбль, обеспечивающий сохранение в РП репрезентации воспринятого стимула и плана графического движения. В частности, в зависимости от режима предъявления, слуховая кора посылает сигнал разным корковым областям: либо структурам вентрального пути (ломаная была предъявлена в статическом режиме), либо структурам дорсального пути (при динамическом режиме). Это "оповещение" может осуществляться через неспецифические ядра таламуса посредством кортико-таламических и таламо-кортикальных путей (Cappe et al., 2009; Wolff et al., 2019; Worden et al., 2021) и/или посредством прямых кортико-кортикальных путей (Saenz et al., 2008; Petro et al., 2017). В любом случае сигнал, посылаемый разным адресатам, формируется разными популяциями нейронов первичной слуховой коры, что (при различном числе нейронов в популяциях) может приводить к различию в амплитуде компонента N100, первичным источником которого является слуховая кора.

Влияние фактора ЗАДЕРЖКА

Следующие за N100 позитивные компоненты ССП на императивный сигнал (Р200, P250 и P300) не продемонстрировали зависимости от режима предъявления, однако они оказались чувствительными ко времени удержания зрительно-пространственной информации в РП: их амплитуды увеличивались с увеличением времени задержки между тестовыми стимулами и императивным сигналом с 500 до 3000 мс. Наблюдаемые нами изменения позитивных компонентов ССП в проекциях различных корковых зон указывают на преобразования нейрональной основы внутренней репрезентации зрительно предъявляемой траектории будущего движения в процессе ее удержания в РП.

В нашем предыдущем исследовании мозговой организации РП в задаче копирования зрительно предъявляемой траектории (Корнеев и др., 2016б) уже были обнаружены изменения электрической активности мозга по мере увеличения времени удержания информации в РП: в этом исследовании при анализе корковых источников ССП на императивный слуховой сигнал было выявлено выраженное монотонное возрастание реактивности орбитальной коры правого полушария и билатерально-симметричное возрастание реактивности дорсальных отделов сенсомоторной

коры при увеличении времени задержки от 500 до 4000 мс. Мы связали такое возрастание с высказанным в наших предыдущих работах (Корнеев, Курганский, 2013, 2014а; Корнеев и др., 2016а) предположением о процессе спонтанного преобразования нейрональной основы внутренней репрезентации зрительно предъявляемой траектории будущего движения в процессе ее удержания в РП.

Исследования нейрональных основ РП, выполненные в последние 10-15 лет, убедительно показали динамический характер процессов в нейронных сетях, относящихся к мозговой системе РП (Murray et al., 2017; Cavanagh et al., 2018; Meyers, 2018; Curtis, Sprague, 2021). Хотя классические представления об удержании информации в РП связывают его с постоянной повышенной активностью нейронов префронтальной коры, в период удержания информации в РП обнаружено также монотонное возрастание активности префронтальных нейронов (Spaak et al., 2017) и на макроскопическом уровне – возрастание амплитуды BOLD-сигнала (Picchioni et al., 2007). В работе (Picchioni et al., 2007) было обнаружено возрастание BOLDсигнала в височных, затылочно-височных и теменных зонах коры при увеличении времени удержания в РП зрительных объектов (абстрактных изображений, состоящих из комбинации различных геометрических фигур) от 4 до 12 с. В исследовании (Spaak et al., 2017) при анализе активности отдельных нейронов префронтальной коры макак в ситуации отсроченной саккады в направлении целевого стимула были обнаружены динамические перестройки активности нейронных сетей коры, связанные с увеличением времени удержания релевантной зрительной информации.

Не исключено, что непосредственное отношение к предполагаемому нами преобразованию нейрональной основы внутренней репрезентации в период ее удержания в РП могут иметь следующие процессы. Во-первых, есть основания считать, что во время удержания информации в РП происходит переход от кодирования посредством электрической активности в нейронных сетях к кодированию без опоры на нейронную активность ("activity silent" representations) – к кодированию на основе кратковременной синаптической пластичности (Stokes, 2015; Chota, Van der Stigchel, 2021). Во-вторых, получены данные о том, что в зрительной РП параллельно могут сохраняться репрезентации различной степени абстрактности, причем обнаруживается тенденция к переходу от зрительно-специфических видов репрезентации к более абстрактной семантической репрезентации (Rose, 2020; Chota, Van der Stigchel, 2021). Наконец, данные, полученные при сочетании фМРТ и транскраниальной магнитной стимуляции мозга, свидетельствуют о динамических изменениях нейронной активности по мере удержания информации в РП: эта активность в зависимости от контекста деятельности смещается от зон, функционально связанных с сенсорно-специфическим кодированием, к распределенным нейронным фронто-париетальным сетям, связанным с преобразованием информации в абстрактные коды (Rose, 2020).

Выделенные нами позитивные компоненты P200, P250 и P300 ассоциируются в специальной литературе с различными процессами обработки информации в коре головного мозга (Key et al., 2005; Finnigan et al., 2011).

Компонент P200 (другое обозначение — P2) в ряде исследований связывают с процессами семантического кодирования — соотнесением сенсорной информации, удерживаемой в РП, с контекстом прошлого опыта. Так, в работе (Lefebvre et al., 2005) обнаружен рост амплитуды компонента P200 ССП, регистрируемого в теменных отведениях на императивный слуховой сигнал в задаче обратного воспроизведения числового ряда, при увеличении нагрузки на слуховую РП и длительности удержания релевантной информации.

Приведенные выше данные позволяют связать выявленный нами значимый рост амплитуды P200 в средневисочных, теменных и нижневисочных отведениях (рис. 4) именно с преобразованием внутренней репрезентации траектории в период ее удержания в РП, причем в этом преобразовании принимают участие нейронные сети заднеассоциативных областей коры, функционально связанные с семантическими кодированием (Binder et al., 2009).

Следующие два выделенные нами компонента (P250 и P300) демонстрировали сходные по локализации и зависимости от экспериментальных условий значимые изменения: их амплитуда увеличивалась при увеличении длительности задержки в лобных полюсных и нижнелобных отведениях, а для компонента P250 — еще и в средневисочных зонах.

Позитивный компонент с латентностью 250 мс описан как для слуховых, так и для зрительных ССП в различных экспериментальных ситуациях. Для зрительной модальности отмечена реактивность этого компонента при распознавании лицевых паттернов (Yang et al., 2020), включая собственное лицо (Butler et al., 2012), и неоднозначных (ambiguous) изображений (de Jong et al., 2014). Упоминание Р250 в исследованиях слухового ССП преимущественно связано с восприятием значимых тональных стимулов в парадигме Oddball (Gilmore et al., 2009). Согласно данным (Gilmore et al., 2009) ССП на целевые стимулы сопровождается ростом амплитуды Р250, распределенные источники которого находятся в передневисочной и переднецентральной зонах коры. В одной из работ описана реактивность Р250 в составе ССП, возникающего на знакомые звуки окружающей среды (например, звуки, издаваемые домашними животными), даже когда задача не требует привлечения внимания к ним (Kirmse et al., 2009). Несмотря на различия в экспериментальных ситуациях и разную локализацию изменений Р250 для зрительных (преимущественно затылочные, теменные и височно-теменно-затылочные зоны) и слуховых (преимущественно переднецентральные зоны) ССП, во всех перечисленных выше исследованиях отмечен рост амплитуды этого компонента при идентификации стимула как знакомого (например, собственное лицо, знакомый звук) или релевантного для решения экспериментальной задачи (например, при наличии в изображении элементов, позволяющих оценить эмоциональное выражение лица). Одним из возможных объяснений реактивности Р250 на знакомую или релевантную информацию может быть его связь с активацией нейрональных механизмов памяти. в описанных выше случаях, вероятно, с извлечением следов долговременной памяти и их кратковременным удержанием в процессе распознавания сенсорной информации. Еще в 1978 г. Чэпман и соавт. (Chapman et al., 1978) выявили связь между Р250 и эффективностью кратковременной памяти в задачах на отсроченное сопоставление зрительно предъявляемых цифр и букв. В более позднем исследовании (Chapman et al., 2015) связь между амплитудой Р250 и вовлечением мозговых механизмов кратковременного удержания значимой информации была подтверждена, более того, была показана специфика реак-

тивности Р250 и более популярного у исследователей компонента Р300 в зависимости от характера когнитивной задачи. В этой работе испытуемым предъявляли на экране последовательно 4 стимула, состоящие из одной буквы или одной цифры (по 2 стимула каждого вида), каждый стимул появлялся на экране на 20 мс с интервалом между стимулами 750 мс. Задача испытуемого состояла в том, чтобы сравнить букву или цифру из второй пары (тестовый стимул) с буквой или цифрой из первой пары (эталонный стимул). Таким образом, целевые стимулы могли различаться по релевантности в зависимости от того, что надо было сравнивать (буквы или цифры), и нагрузке на кратковременную память (1-й и 2-й стимулы требовали удержания, а 3-й и 4-й — нет). При анализе ССП на целевые стимулы оказалось, что амплитуда Р250 существенно выше в ответ на первые два стимула (как при сравнении букв, так и при сравнении цифр) в том случае, если они являются релевантными, чем на стимулы второй пары, даже если они релевантные. Пространственное распределение Р250 оказалось диффузным, вместе с тем максимальный статистический эффект нагрузки на кратковременную память наблюдался в переднецентральных отведениях. Сопоставление Р250 с более поздними позитивными компонентами РЗа и P3b (см. обсуждение их реактивности ниже) позволило авторам сделать вывод об отражении в этом компоненте нейрональных процессов, связанных с запечатлением релевантной информации в кратковременной памяти. Возвращаясь к результатам нашего исследования, можно предположить, что рост амплитуды Р250 на императивный сигнал при увеличении длительности задержки отражает дополнительную активацию нейронных сетей, участвующих в сохранении и извлечении релевантной информации.

Компонент Р300 (или Р3) — один из наиболее часто упоминаемых в нейрокогнитивных исследованиях (Luck, 2012). Р300 регистрируется в самых разных экспериментальных ситуациях, но наиболее распространенной является простая экспериментальная модель oddball, в которой один из стимулов предъявляется с малой вероятностью (редкий стимул). Амплитуда Р300 увеличивается, а латентность сокращается в ответ на редкие звуковые или зрительные целевые сигналы, предъявляемые на фоне отличающихся от них по отдельным параметрам частых стиму-

лов (Polich, Kok, 1995). Несмотря на довольно распространенную в клинической литературе и практике точку зрения об отражении некой общей "когнитивной способности" в характеристиках P300 (см. например, (Zhong, 2019)), у современных исследователей нет единого мнения о специфической связи Р300 с когнитивными функциями (Machado et al., 2014; Verleger, 2020). Спектр факторов, которые влияют на характеристики этого компонента ССП, достаточно широк – от новизны (Polich, Kok, 1995) или субъективной эмоциональной значимости стимула (Haicak, Foti. 2020), увеличивающих общий уровень возбудимости коры (arousal), до процессов принятия решений (Rohrbaugh et al., 1974; Schuermann et al., 2012; Twomey et al., 2015). Учитывая цели настоящего исследования, рассмотрим данные о возможной связи Р300 с процессами преобразования информации в РП. В литературе отмечается наличие по крайней мере двух позитивных волн ССП во временном диапазоне от 250 до 400 мс, которые регистрируются в ответ как на слуховые, так и на зрительные целевые стимулы (Katayama, Polich, 1999; Polich, 2007; Wronka et al., 2012; Bachiller et al., 2015; Machado et al., 2014).

Еще в ранних исследованиях Р300 с использованием задачи oddball (цит. по (Polich, 2007)) были обнаружены различия в параметрах этого компонента для разных когнитивных задач: если обнаружение редких стимулов в ряду стандартных не требовало ответной реакции, то позитивная волна, соответствующая этому компоненту, развивалась раньше, чем в том случае, когда при обнаружении целевого стимула нужно было произвести какое-то действие. Эти наблюдения послужили началом дифференциации Р300 на не связанный с ответным действием, но возникающий в ответ на редкий сигнал (двухстимульная задача oddball) или дистрактор (трехстимульная задача oddball) более ранний субкомпонент Р3а, и на более поздний, связанный с ответным действием при обнаружении целевого стимула компонент Р3b. Согласно нейропсихологической модели, представленной в (Polich, 2007), оба субкомпонента Р300 связаны с процессами памяти, но при этом РЗа имеет отношение к сопоставлению новой значимой информации с предыдущим опытом (сформированной репрезентацией) и отражает рассогласование между ними, а Р3b — к обновлению (updating) информации в РП.

В нашем исследовании компонент Р300, несмотря на нетипичную топографию, в функциональном отношении может рассматриваться как аналог Р3b, поскольку он возникает в ответ на императивный стимул, требующий моторного ответа, а не в ответ на стимул-дистрактор, как РЗа. В литературе дискутируется вопрос о специфических когнитивных факторах, способствующих росту амплитуды этого компонента. В обзоре (Verleger, 2020) на основании сопоставления различных экспериментальных условий автор рассматривает в качестве наиболее реалистичных две гипотезы роста амплитуды Р3b: гипотезу обновления информации в РП и гипотезу реактивации заданной инструкцией и/или предыдущим опытом связи между стимулом и ответным действием (reactivation of S-R links), отдавая предпочтение второй гипотезе. Автор также замечает, что обе эти гипотезы объясняют рост амплитуды Р3b при увеличении интервала между целевыми стимулами, требующими определенных действий. Точка зрения Верлегера (Verleger, 2020) согласуется с результатами процитированного выше исследования (Chapman et al., 2015), в котором показано, что активация процессов кратковременного удержания значимой информации отражается в росте амплитуды Р250, а более поздний компонент Р300 связан скорее с использованием удерживаемой информации для последующих действий. Учитывая современные представления о функциональной роли Р300, мы можем предположить, что выявленный нами рост амплитуды этого компонента при увеличении длительности задержки от 500 до 3000 мс отражает реактивацию внутренних репрезентаций, содержащих информацию, необходимую для построения будущего действия. Отдельного обсуждения заслуживает локализация изменений Р300 – рост его амплитуды в лобных полюсных и нижнелобных отведениях. Несмотря на то, что в данном исследовании анализируются сигналы от сенсоров, а не от источников в коре, имеются основания для предположения, что наблюдаемые нами изменения амплитуды Р300 связаны с возрастающей по мере удлинения задержки активацией префронтальных корковых зон, функционально связанных с планированием последовательности действий. Это предположение согласуется с результатами нашего предыдущего исследования, в котором показан линейный рост сигналов от распределенных корковых источников, расположенных в том числе в правой орбитальной коре (Корнеев и др., 2016б).

выволы

- 1. Длиннолатентные компоненты (N100, P200, P250 и P300) коркового ССП, возникающего в ответ на звуковой императивный сигнал в задаче отсроченного копирования изображения ломаной линии (траектории), зависят от режима ее предъявления и длительности удержания в рабочей памяти.
- 2. Режим предъявления траектории оказывает значимое влияние на активность нейронных сетей коры на относительно ранних этапах извлечения информации из рабочей памяти: при статическом режиме амплитуда компонента N100 ССП на императивный сигнал выше, чем при динамическом, в симметричных центральных, а также сагиттальных лобном и центральном отведениях.
- 3. При увеличении длительности удержания информации в рабочей памяти от 500 мс до 3000 мс значимо увеличивается амплитуда позитивных компонентов: P200 растет в билатерально-симметричных височных и теменных отведениях, а также в теменном сагиттальном отведении; P250 в билатеральносимметричных передневисочных, нижнелобных и лобных полюсных отведениях; P300 в билатерально-симметричных нижнелобных и лобных полюсных отведениях.
- 4. Наблюдаемые нами изменения позитивных компонентов ССП в проекциях различных корковых зон указывают на преобразования нейрональной основы внутренней репрезентации зрительно предъявляемой траектории будущего движения в процессе ее удержания в РП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Курганский А.В. Отсроченное копирование незнакомых контурных изображений: отражает ли убывание времени реакции с ростом задержки изменение внутреннего представления будущего движения? Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2016а. 66(1): 51—61.
- Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Курганский А.В., Маиинская Р.И. Отсроченное копирование незнакомых контурных изображений: анализ потенциалов, связанных с предъявлением стимулов. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2016б. 66(4): 470—483.

- Корнеев А.А., Курганский А.В. Внутренняя репрезентация серии движений при воспроизведении статического рисунка и траектории движущегося объекта. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2013. 63(4): 437—450.
- Корнеев А.А., Курганский А.В. Влияние способа зрительного предъявления сложной траектории на временные параметры ее отсроченного двигательного воспроизведения. Психологические исследования. 2014а. 7(37): 11. http://psystudy.ru.
- Корнеев А.А., Курганский А.В. Преобразование порядка движений в серии, заданной зрительным образцом. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 14. Психология. 2014б. 2: 61—74.
- Aasen I.E., Brunner J.F. Modulation of ERP components by task instructions in a cued go/no-go task. Psychophysiology. 2016. 53(2): 171–185.
- Absatova K.A., Kurgansky A.V. Does the way we memorize information depend on the way we are going to use it? Psychol. J. High. Sch. Econ. 2016. 13(1): 177–191.
- Agam Y., Sekuler R. Interactions between working memory and visual perception: an ERP/EEG study. NeuroImage. 2007. 36(3), 933–942.
- Alain C., McDonald K.L., Kovacevic N., McIntosh A.R. Spatiotemporal analysis of auditory "what" and "where" working memory. Cereb Cortex. 2009. 19(2): 305–14.
- Bachiller A., Romero S., Molina V., Alonso J.F., Mañanas M.A., Poza J., Hornero R. Auditory P3a and P3b neural generators in schizophrenia: An adaptive sLORETA P300 localization approach. Schizophr Res. 2015. 169(1–3): 318–325.
- *Baddeley A.* Working memory: theories, models, and controversies. Annu Rev Psychol. 2012. 63: 1–29.
- Baddeley A.D., Hitch G. Working memory. In Psychology of learning and motivation (Vol. 8, pp. 47–89). Academic press. 1974.
- Binder J.R., Desai R.H., Graves W.W., Conant L.L. Where is the semantic system? A critical review and meta-analysis of 120 functional neuroimaging studies. Cereb Cortex. 2009 19(12): 2767–2796.
- Boonstra T.W., Powell T.Y., Mehrkanoon S., Breakspear M. Effects of mnemonic load on cortical activity during visual working memory: linking ongoing brain activity with evoked responses. Int J Psychophysiol. 2013. 89(3): 409–418.
- Butler D.L., Mattingley J.B., Cunnington R., Suddendorf T. Mirror, mirror on the wall, how does my brain recognize my image at all? PloS one, 2012. 7(2): e31452—e31452.
- Cappe C., Morel A., Barone P., Rouiller E.M. The thalamocortical projection systems in primate: an anatomical support for multisensory and sensorimotor interplay. Cereb Cortex. 2009. 19(9): 2025— 2037.

- Cavanagh S.E., Towers J.P., Wallis J.D., Hunt L.T., Kennerley S.W. Reconciling persistent and dynamic hypotheses of working memory coding in prefrontal cortex. Nat Commun. 2018. 9(1): 3498.
- Chapman R.M., McCrary J.W., Chapman J.A. Short-term memory: the "storage" component of human brain responses predicts recall. Science. 1978. 202(4373): 1211–1214.
- Chapman R.M., Gardner M.N., Mapstone M., Dupree H.M., Antonsdottir I.M. Memory timeline: Brain ERP C250 (not P300) is an early biomarker of short-term storage. Brain Res. 2015. 1604: 74–83.
- Chikha A.B., Khacharem A., Trabelsi K., Bragazzi N.L. The Effect of Spatial Ability in Learning From Static and Dynamic Visualizations: A Moderation Analysis in 6-Year-Old Children. Front. Psychol. 2021. 12(2085).
- Chota S., Van der Stigchel S. Dynamic and flexible transformation and reallocation of visual working memory representations. Vis Cogn. 2021. 29(7): 409–415.
- Cocchi L., Schenk F., Volken H., Bovet P., Parnas J., Vianin P. Visuo-spatial processing in a dynamic and a static working memory paradigm in schizophrenia. Psychiatry Res. 2007. 152(2–3): 129–142.
- Curtis C.E., Sprague T.C. Persistent Activity During Working Memory From Front to Back. Front Neural Circuits. 2021. 15: 696060.
- de Jong M.C., Brascamp J.W., Kemner C., van Ee R., Verstraten F.A. Implicit perceptual memory modulates early visual processing of ambiguous images. J. Neurosci. 2014. 34(30): 9970–9981.
- *D'Esposito M., Postle B.R.* The cognitive neuroscience of working memory. Annu Rev Psychol. 2015. 66: 115–142.
- Donato R., Pavan A., Campana G. Investigating the Interaction Between Form and Motion Processing: A Review of Basic Research and Clinical Evidence. Front Psychol. 2020. 11: 566848.
- Dumoulin S.O., Hess R.F., May K.A., Harvey B.M., Rokers B., Barendregt M. Contour extracting networks in early extrastriate cortex. J Vis. 2014. 14(5): 18.
- Finnigan S., O'Connell R.G., Cummins T.D., Broughton M., Robertson I.H. ERP measures indicate both attention and working memory encoding decrements in aging. Psychophysiology. 2011. 48(5): 601–611.
- Fogarty J.S., Barry R.J., Steiner G.Z. The First 250 ms of Auditory Processing: No Evidence of Early Processing Negativity in the Go/NoGo Task. Sci Rep. 2020. 10(1): 4041.
- Gayet S., Paffen C.L.E., Van der Stigchel S. Visual Working Memory Storage Recruits Sensory Processing Areas. Trends Cogn Sci. 2018. 22(3): 189–190.
- Gilmore C.S., Clementz B.A., Berg P. Hemispheric differences in auditory oddball responses during

- monaural versus binaural stimulation. Int J Psychophysiol. 2009. 73(3): 326–333.
- Hajcak G., Foti D. Significance?... Significance! Empirical, methodological, and theoretical connections between the late positive potential and P300 as neural responses to stimulus significance: An integrative review. Psychophysiology. 2020. 57(7): e13570.
- Horváth J. Action-related auditory ERP attenuation: Paradigms and hypotheses. Brain Res. 2015. 1626: 54–65.
- Hurlstone M.J., Hitch G.J., Baddeley A.D. Memory for serial order across domains: An overview of the literature and directions for future research. Psychol Bull. 2014. 140(2): 339–373.
- *Jaroslawska A.J., Gathercole S.E., Holmes J.* Following instructions in a dual-task paradigm: Evidence for a temporary motor store in working memory. Q. J. Exp. Psychol. (Hove). 2018. 71(11): 2439–2449.
- *Katayama J., Polich J.* Auditory and visual P300 topography from a 3 stimulus paradigm. Clin Neurophysiol. 1999. 110(3): 463–468.
- *Key A.P.F., Dove G.O., Maguire M.J.* Linking Brainwaves to the Brain: An ERP Primer. Dev Neuropsychol. 2005. 27(2): 183–215.
- Kirmse U., Jacobsen T., Schröger E. Familiarity affects environmental sound processing outside the focus of attention: an event-related potential study. Clin Neurophysiol. 2009. 120(5): 887–896.
- Kriegeskorte N., Sorger B., Naumer M., Schwarzbach J., van den Boogert E., Hussy W., Goebel R. Human cortical object recognition from a visual motion flowfield. J Neurosci. 2003. 23(4): 1451–1463.
- Machado S., Arias-Carrión O., Sampaio I., Bittencourt J., Velasques B., Teixeira S., Ribeiro P. Source Imaging of P300 Visual Evoked Potentials and Cognitive Functions in Healthy Subjects. Clin EEG Neurosci. 2014. 45(4): 262–268.
- *Meyers E.M.* Dynamic population coding and its relationship to working memory. J Neurophysiol. 2018. 120(5): 2260–2268.
- Murray J.D., Bernacchia A., Roy N.A., Constantinidis C., Romo R., Wang X.J. Stable population coding for working memory coexists with heterogeneous neural dynamics in prefrontal cortex. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017. 114(2): 394–399.
- Larsson J., Heeger D.J. Two retinotopic visual areas in human lateral occipital cortex. J Neurosci. 2006. 26(51): 13128–13142.
- Lee S.H., Baker C.I. Multi-Voxel Decoding and the Topography of Maintained Information During Visual Working Memory. Front Syst Neurosci. 2016. 10: 2.
- Lefebvre C.D., Marchand Y., Eskes G.A., Connolly J.F. Assessment of working memory abilities using an event-related brain potential (ERP)-compatible digit span backward task. Clin Neurophysiol. 2005. 116(7): 1665–1680.

- Li Y., Wang Y., Li S. Recurrent processing of contour integration in the human visual cortex as revealed by fMRI-guided TMS. Cereb Cortex. 2019. 29(1): 17–26.
- Luck S.J. Event-related potentials APA handbook of research methods in psychology, Vol 1: Foundations, planning, measures, and psychometrics. (pp. 523–546). 2012. Washington, DC, US: American Psychological Association.
- Luck S.J., Kappenman E.S. ERP components and selective attention The Oxford handbook of event-related potential components. (pp. 295–327). 2012. New York, NY, US: Oxford University Press
- Neumann H., Sepp W. Recurrent V1–V2 interaction in early visual boundary processing. Biol Cybern. 1999. 81(5-6): 425–444.
- *Perry C.J., Fallah M.* Feature integration and object representations along the dorsal stream visual hierarchy. Front Comput Neurosci. 2014. 8: 84.
- Petro L.S., Paton A.T., Muckli L. Contextual modulation of primary visual cortex by auditory signals. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2017. 372(1714): 20160104.
- Picchioni M., Matthiasson P., Broome M., Giampietro V., Brammer M., Mathes B., Fletcher P., Williams S., McGuire P. Medial temporal lobe activity at recognition increases with the duration of mnemonic delay during an object working memory task. Hum Brain Mapp. 2007. 28(11): 1235–1250.
- Pickering S.J., Gathercole S.E., Hall M., Lloyd S.A. Development of Memory for Pattern and Path: Further Evidence for the Fractionation of Visuo-Spatial Memory. Q J Exp Psychol (Hove) [A]. 2001. 54(2): 397–420.
- *Polich J.* Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. Clin Neurophysiol. 2007. 118(10): 2128–2148.
- *Polich J., Kok A.* Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review. Biol Psychol. 1995. 41(2): 103–146.
- Rohrbaugh J.W., Donchin E., Eriksen C.W. Decision making and the P300 component of the cortical evoked response. Percept Psychophys. 1974. 15(2): 368–374.
- Rose N.S. The Dynamic-Processing Model of Working Memory. Curr Dir Psychol Sci. 2020. 29(4): 378–387.
- Rugg M.D., Curran T. Event-related potentials and recognition memory. Trends Cogn Sci. 2007. 11(6): 251–257.
- Saenz M., Lewis L.B., Huth A.G., Fine I., Koch C. Visual Motion Area MT+/V5 Responds to Auditory Motion in Human Sight-Recovery Subjects. J. Neurosci. 2008. 28(20): 5141–5148.
- Schomaker J. The relationship between response time and the strength of top-down attentional control: An ERP study. J. Eur. Psychol. Stud. 2009. 1(1), p. Art. 2.

- Schuermann B., Endrass T., Kathmann N. Neural correlates of feedback processing in decision-making under risk. Front. Hum. Neurosci. 2012. 6(204).
- Scimeca J.M., Kiyonaga A., D'Esposito M. Reaffirming the sensory recruitment account of working memory. Trends Cogn Sci. 2018. 22(3): 190–192.
- Shpaner M., Molholm S., Forde E., Foxe J.J. Disambiguating the roles of area V1 and the lateral occipital complex (LOC) in contour integration. Neuroimage. 2013. 69: 146–156.
- Spaak E., Watanabe K., Funahashi S., Stokes M.G. Stable and dynamic coding for working memory in primate prefrontal cortex. J Neurosci. 2017. 37(27): 6503–6516.
- Stokes M.G. 'Activity-silent' working memory in prefrontal cortex: a dynamic coding framework. Trends Cogn Sci. 2015. 19(7): 394–405.
- Twomey D.M., Murphy P.R., Kelly S.P., O'Connell R.G. The classic P300 encodes a build-to-threshold decision variable. Eur J Neurosci. 2015. 42(1): 1636—1643.
- Verleger R. Effects of relevance and response frequency on P3b amplitudes: Review of findings and comparison of hypotheses about the process reflected by P3b. Psychophysiology. 2020. 57(7): e13542.
- Woldorff M.G., Gallen C.C., Hampson S.A., Hillyard S.A., Pantev C., Sobel D., Bloom F. E. Modulation of early sensory processing in human auditory cortex during auditory selective attention. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993. 90(18): 8722–8726.
- Wolff M., Vann S.D. The Cognitive Thalamus as a Gateway to Mental Representations. J Neurosci. 2019. 39(1): 3–14.
- Worden R., Bennett M.S., Neacsu V. The thalamus as a blackboard for perception and planning. Front Behav Neurosci. 2021. 15: 633872.
- Wronka E., Kaiser J., Coenen A.M. Neural generators of the auditory evoked potential components P3a and P3b. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2012. 72(1): 51–64.
- Yang T.X., Allen R.J., Yu Q.J., Chan R.C.K. The influence of input and output modality on following instructions in working memory. Sci Rep. 2015. 5: 17657.
- Yang Y.-F., Brunet-Gouet E., Burca M., Kalunga E.K., Amorim M.-A. Brain processes while struggling with evidence accumulation during facial emotion recognition: An ERP study. Front Hum Neurosci. 2020. 14: 340–340.
- Zhang F., Deshpande A., Benson C., Smith M., Eliassen J., Fu Q.-J. The adaptive pattern of the auditory N1 peak revealed by standardized low-resolution brain electromagnetic tomography. Brain Res. 2011. 1400: 42–52.
- Zhong R., Li M., Chen Q., Li J., Li G., Lin W. The P300 event-related potential component and Ccgnitive impairment in epilepsy: A systematic review and meta-analysis. Front Neurol. 2019. 10(943).

BRAIN ORGANIZATION OF WORKING MEMORY DURING DELAYED COPYING OF A BROKEN LINE: AN ANALYSIS OF POTENTIALS RELATED TO THE GO SIGNAL

A. V. Kurgansky^{a, b, #}, D. I. Lomakin^a, A. A. Korneev^{a, c}, R. I. Machinskaya^a

^aInstitute of Developmental Physiology, Russian Academy of Education, Moscow, Russia
^bPsychology Department of Institute for Social Sciences, Russian Academy of National Economy and Public Administration,
Moscow, Russia

^cPsychology Department of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia [#]e-mail: akurg@yandex.ru

A group of adults performed a task requiring working memory (WM) capacities. This task implies delayed copying (hand drawing) of a broken line, which is shown either statically in the form of a line drawing, or dynamically by showing the cursor moving along the invisible contour of this line. We studied the joint influence of the presentation mode of the trajectory (static and dynamic) and the duration of the retention of the representation in the WM (the delay of the imperative stimulus relative to the broken line presentation) on the evoked potentials (ERP) associated with the delivery of a sound signal. Five long-latency cortical components of the ERP were analyzed: N100, P200, P250, P300, and N400. It is shown that the N100 amplitude is statistically significantly higher in the case of static than dynamic presentation mode, and it does not depend on the delay. The amplitude of the other components, on the contrary, did not depend on the presentation mode but did depend on the delay. The possibility is discussed that (1) the large amplitude N100 upon static presentation of a broken line may be the result of a greater involvement of top-down control in this mode at the early stages of information retrieval from the WM and/or with the fact that (2) in the case of static and dynamic modes of presentation of a broken line, the different visual sensory-specific areas are involved in holding its representation, with the activation of these areas being caused by different pools of neurons of the auditory cortex. It is assumed that the dependence of the amplitude of the components P200, P250, P300, and N400 on the retention time of the broken line representation in WM is associated with the transformation of this representation from a sensoryspecific to an abstract format, as well as with preparation for its subsequent motor reproduction.

Keywords: working memory, event-related potentials, transformation of internal representation, motor reproduction

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

УДК 612.821

ДЕФИЦИТ ГИППОКАМП-ЗАВИСИМОГО ОБУЧЕНИЯ НЕ КОРРЕЛИРУЕТ С ПОДАВЛЕНИЕМ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПОСТТЕТАНИЧЕСКОЙ ПОТЕНЦИАЦИИ ПРИ СИСТЕМНОЙ БЛОКАДЕ НМДА-РЕЦЕПТОРОВ

© 2022 г. В. А. Коршунов^{1, *, **}, Ш. С. Узаков¹

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

*e-mail: korav-md@mail.ru **e-mail: vkorshunov@ihna.ru Поступила в редакцию 07.08.2021 г. После доработки 17.11.2021 г. Принята к публикации 20.12.2021 г.

Обучение и поведение более чувствительны к блокаде НМДА-рецепторов (НМДАр), чем ДПП-подобная пластичность. Интраперитонеальные и интравентрикулярные инъекции низких, нетоксичных доз неконкурентного антагониста НМДАр МК-801 не блокируют ДПП в гиппокампе, но нарушают гиппокамп-зависимые формы обучения и пространственного поведения как в алло-, так и в эгоцентрической координатных системах и препятствуют воспроизведению ранее выработанных реакций у хорошо обученных животных. Наши результаты не подтверждают связь ДПП-подобной пластичности с пространственным обучением.

Ключевые слова: свободноподвижные крысы, бассейн Морриса, гиппокамп, вызванные потенциалы, ДПП, МК-801

DOI: 10.31857/S0044467722030054

ВВЕДЕНИЕ

Долговременная посттетаническая потенциация (ДПП) в гиппокампе рассматривается как синаптическая модель обучения и памяти (Bliss, Collingridge, 1993; Whitlock et al., 2006). Антагонисты N-метил-D-аспартатных (НМДА) рецепторов блокируют как индукцию ДПП, так и пространственное обучение (Morris, 1989). Дозы, блокирующие ДПП, всегда влияют на пространственное обучение (Butcher et al., 1990). Эти данные легли в основу предположения о связи ДПП-подобной пластичности и обучения. Тем не менее результаты подобных экспериментов свидетельствуют лишь о том, что НМДАр участвуют в пространственном обучении (Morris et al., 2013) и, в ряде случаев, в реконсолидации пространственной памяти (Зайченко и др. 2018), в то время как роль ДПП-подобной пластичности остается неочевидной (Saucier, Cain, 1995; Bannerman et al., 1997; Jeffery, 1997; Holscher, 1999; Kikusui et al., 2000; Александров, 2005). НМДАр присутствуют во многих структурах мозга (Monaghan, Cotman, 1985), и любое системное (интраперитонеальное или интравентрикулярное) введение блокаторов может нарушить много процессов в мозге, помимо блокалы ДПП (Keith, Rudy, 1990), например, блокировать пачечную активность пирамид гиппокампа (Peet et al., 1987; Abraham, Kairiss, 1988), связанную с пространственным обучением (Christian. Deadwyler, 1986). Антагонисты НМДАр нарушают тета-ритм в гиппокампе (Leung, Desborough, 1988), в то время как тета-осцилляции необходимы для пространственного обучения (McNaughton et al., 2006). Эти данные говорят о роли НМДАр в динамических процессах, происходящих в нейронной сети. К сожалению, большинство современных исследований ограничивается лишь участием НМДАр в синаптической пластичности (Сегcato et al., 2014, 2017; Sengar et al., 2019). Действительно ли причина дефицитов обучения связана с блокадой ДПП-подобной пластич-

ности, или мы имеем дело с другими нарушениями? Если представить, что механизмы обучения более чувствительны к блокаде НМДАр, чем ДПП, то мы получим ложную корреляцию между ДПП и обучением. В этом случае нарушения обучения будут наблюдаться уже при низких дозах антагониста НМДАр, а чтобы заблокировать ДПП, придется увеличить концентрацию антагониста, при которой обучение будет нарушено *a priory*. Следовательно, дозы, блокирующие ДПП, неадекватны для выявления корреляции между ДПП и пространственным обучением (Коршунов, 2012). В этой работе мы исследовали пространственное и непространственное обучение у крыс при низких дозах антагонистов НМДАр, не блокирующих ДПП.

МЕТОДИКА

Четырнадцать взрослых крыс самцов линии Long-Evans (ИПРАН) весом 300-520 г было использовано в экспериментах. Крысы этой линии имеют хорошее зрение по сравнению с альбиносами, вследствие нормально пигментированной радужной оболочки (Prusky et al., 2002), а визуальные стимулы играют основную роль в пространственных задачах в бассейне Морриса (Whishaw, 2004). Крысы содержались индивидуально при естественном суточном цикле и имели свободный доступ к воде и пище. Все процедуры выполняли в соответствии с международныэтическими нормами (EU Directive 2010/63/ЕU) и положением Института ВНД и НФ о работе с животными.

Животные псевдослучайно были разделены на 3 группы: экспериментальную (6 крыс) и 2 контрольные (5 и 3 крысы соответственно).

Операция

Крыс анестезировали золетилом (Zoletil 100, VIRBAC S.A., Франция, 35 мг/кг) или хлоралгидратом 400 мг/кг внутрибрюшинно. Скальпирование проводили под дополнительной новокаиновой блокадой. Трепанационные отверстия сверлили согласно координатам атласа (Paxinos, Watson, 1998). Отрезок инъекционной иглы (Рекорд 1A1-06x25-1 15, ОСТ 64-1-102-73, Россия) использовали в качестве направляющей для интравентрикулярных инъекций и имплантировали в левый латеральный желудочек мозга (AP = -0.8; L = 1.4; H = 3.8). В направляющую вставляли стерильный мандрен, во избежание загрязне-

ний. Биполярные стимулирующие электроды делали из 80 мкм нихромовой проволоки в эмалевой изоляции (ПЕТНХ-155, 505810-75. Россия). Электроды скручивали вместе, припаивали к индивидуальным контактам и вживляли в перфорантный путь (ПП) (левое полушарие, $\hat{AP} = -6.8$; L = 3.4; H = 3.5 от кости) и в вентральную гиппокампальную комиссуру (ВГК) (правое полушарие, AP = -1.3; L = 1.0; H = 4.0 от bregma). Электроды фиксировали к кости зуботехнической пластмассой. Регистрирующие электроды вживляли в дорсальную зубчатую фасцию (ДЗФ) (левое полушарие, AP = -3.1; L == 1.8; H = 3.5 от кости) и в поле CA1 дорсального гиппокампа (правое полушарие, AP = -3.8; L = 2.8: H = 2.2 - 2.5 от поверхности мозга). Эти структуры были выбраны, поскольку ДПП в них НМДАр-зависимая. Для регистрации использовали 25 мкм платино-иридиевую проволоку в эмалевой изоляции (CFW, USA) или высокоимпедансные (1 $-3~{
m M}\Omega$ при 1600 Гц) электроды, изготовленные из 100—130 мкм вольфрамовой проволоки, электролитически заточенной и изолированной винифлексовым лаком или стеклом. Микропроволочные электроды вставляли в микроманипулятор и имплантировали под физиологическим контролем (подробности см. Korshunov, 2012). Для высокоимпедансных электродов использовали съемный микроманипулятор, для чего на голове животного во время операции фиксировали только "гнездо", манипулятор устанавливали и погружали электроды непосредственно перед экспериментом (подробности см. Korshunov, Averkin, 2007).

Электрофизиология

Эксперименты начинали через 3–8 дней после операции. Процедура экспериментов была одинаковой для всех 3 групп. Все эксперименты начинали вечером, когда крысы наиболее активны. Животное находилось в домашней клетке. Стимулирующие и регистрирующие электроды подключались соответственно к стимулирующей приставке (DL360, NBLab, Россия) и усилителям (U7-1, Россия) с помощью гибкого кабеля с миниатюрным многоканальным предусилителем (Korshunov, 2012). Выход усилителя и входы стимулятора соединяли соответственно с аналого-цифровым и цифро-аналоговым преобразователями (L-203, L-CARD, Россия), управление экспериментом осуществлял компьютер РС АТ-386. Для стимуляции и

регистрации вызванных потенциалов (ВП) использовали ранее опубликованный протокол (Ezrokhi et al., 1999). Для стимуляции использовали прямоугольные импульсы тока $(50-200 \text{ мкс}, 60-350 \text{ мкА для } \Pi\Pi \text{ и } 50-100 \text{ мкс},$ 60-124 мкА для ВГК). Перед началом эксперимента для каждого животного подбирали стимуляцию, вызывающую в соответствуюшей области гиппокампа ВП 30-50% от максимума. В дальнейшем эта стимуляция использовалась в качестве тестирующей. Каждое тестирование состояло из 10 предъявлений импульсов тока, с псевдослучайным интервалом 25–35 с. Полученные ВП усредняли и записывали на диск с 12-битным разрешением. Интервал между тестами составлял от нескольких минут до нескольких часов. Для получения базовой линии использовали усреднение по 3-5 тестам, результат усреднения принимали за 100%. Для ДПП использовали высокочастотную стимуляцию 200 имп/с для $\Pi\Pi$ и 100 имп/с для ВГК. Продолжительность стимуляции 1 с, амплитуда и длительность импульсов была равна тестирующим стимулам. ВП после тетанизирующей стимуляции оценивали в процентах от базовой линии. После эксперимента положение электродов проверяли гистологически.

Введение препарата

Мы использовали неконкурентный антагонист НМДАр (+)-MK-801 (Sigma-Aldrich, USA). Выбор последнего был обусловлен тем, что он наиболее эффективен среди селективных антагонистов НМДАр (Tricklebank et al., 1989) и длительно действует. Таким образом, отсутствует необходимость в довведении препарата, и конечная доза точно известна. Во избежание токсичного воздействия на нейроны мы использовали дозы вдвое меньшие нижней границы токсичности для МК-801 (см. Olney et al., 1993). Предварительные эксперименты (Коршунов, 2012) показали, что эти дозы не влияют на индукцию ДПП в ДЗФ и поле СА1 гиппокампа. МК-801 растворяли в изотоническом p-pe NaCl и вводили интраперитонеально $(0.05-0.1 \text{ мг/кг}, 1 \text{ мл на кры$ су) или интравентрикулярно (12–20 мкг, 5 мкл на крысу, 1 мкл/мин) с помощью прецизионной помпы (Stoelting, USA). Для этого изымали мандрен из направляющей и вставляли в нее отрезок инъекционной иглы 0.3 мм диаметром, соединенный с помпой тонкой силиконовой трубкой. Контрольные инъекции (изотонический p-p NaCl) делали в тех же объемах: 1 мл интраперитонеально и 5 мкл интравентрикулярно.

Поведение

Для анализа повеления использовали аллоцентрическую (гиппокамп-зависимую) и эгоцентрическую задачи в бассейне Морриса. Бассейн диаметром 150 см и глубиной 50 см был заполнен теплой (24-27°C) водой. Уровень воды − 25 см. Невидимая платформа диаметром 10 см располагалась на 1 см ниже уровня воды для аллоцентрической задачи. Для эгоцентрической задачи на платформу ставили черный цилиндр, возвышавшийся над водой на 2 см. Согласно данным (Lamberty, Gower, 1991) упрощение среды улучшает пространственное поведение; также показано (Nakazawa et al., 2002), что пространственные тесты в обедненной среде более чувствительны к нарушениям поведения, поэтому мы сознательно сократили количество визуальных стимулов. Бассейн стоял в углу заземленной комнаты и был отгорожен с двух сторон черными занавесками, таким образом, крыса могла видеть только две светлые и две темные стены. Крысам давали 3–5 попыток в день, чтобы найти платформу, с 10-30-минутными интервалами между попытками для отдыха и еды. Поведение записывали на вебкамеру (LG, Korea) и анализировали с помощью программы трекинга с поправкой перспективных искажений (Коршунов, 2014).

Анализ поведения

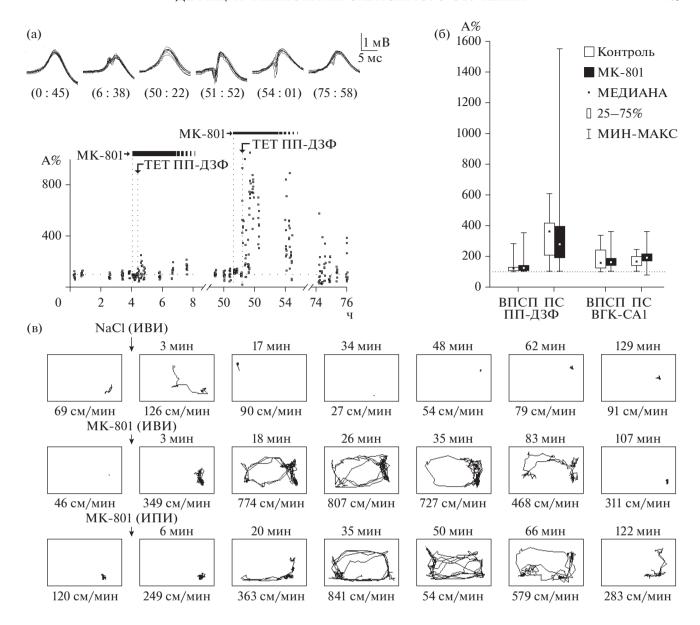
Традиционные методы оценки поведения в бассейне Морриса включают время нахождения платформы, длину траектории, скорость плавания и процент времени пребывания в квадрантах и зонах. Поскольку МК-801 влияет на двигательную активность (Tricklebank et al., 1989; Ahlander et al., 1999), мерить время бесполезно (Коршунов, 2014). Предварительный анализ (Коршунов, 2012) показал, что выбор правильного направления - наиболее адекватный параметр для оценки пространственного поведения в аллоцентрических задачах. Мы использовали три индекса оценки поведения: $\mathbf{w/m}$, $\mathbf{w/d}$ и $\mathbf{w/c}$, где \mathbf{w} длина траектории плавания; т – кратчайшее расстояние между платформой и исходным положением крысы в бассейне; \mathbf{d} — диаметр бассейна; $\mathbf{c} = \mathbf{\pi} \times \mathbf{d}$ — длина стенки бассейна. Аллоцентрическая задача сводится к выбору правильного направления, и если выбор веРис. 1. (а) Предварительное тестирование доз блокатора. ПС регистрировали в ДЗФ. МК-801 интраперитонеально в дозе 1 мг/кг блокирует ДПП в ДЗФ после тетанизирующей стимуляции ПП. Два дня спустя эксперимент повторили с низкой (0.1 мг/кг) дозой блокатора. Стимуляция с теми же параметрами через те же электроды легко вызывала ДПП в ДЗФ. Стимуляция предъявлялась на пике поведенческих изменений в обоих экспериментах. При большей дозе препарата пик активности начинается раньше. (б) ДПП после инъекций изотонического p-ра NaCl (белые столбики) и низких доз МК-801 (темные столбики). Гистограмма показывает суммарный результат, полученный на всех экспериментальных крысах. ДПП ВПСП и ПС показаны отдельно. Пунктир — базовая линия до тетанизации (100%). Остальные детали в тексте. (в) — Сравнение между интравентрикулярным и интраперитонеальным введением низких доз МК-801. Сходный эффект (гиперактивность с сенсомоторными дефицитами) наблюдали в обоих случаях. Каждый прямоугольник показывает траекторию крысы в домашней клетке за 1 мин, сверху от прямоугольника — время после инъекции, снизу — средняя скорость перемещений. Верхний ряд — контрольная инъекция NaCl. Второй ряд — МК-801 интравентрикулярно (ИВИ) (20 мкг на крысу, 5 мкл, 1 мкл/мин) 18 дней спустя. Третий ряд — МК-801 интраперитонеально (ИПИ) (0.1 мг/кг) 6 дней спустя после предылущей инъекции.

Fig. 1. (a) Preliminary test of the drug. PS was recorded in DDG. Intraperitoneal injection of high (1 mg/kg) dose of MK-801 blocks LTP induction in DDG after tetanic stimulation of PP. Two days later the experiment was repeated with low (0.1 mg/kg) dose of the drug. Tetanic stimulation with the same parameters via the same electrodes easily induced LTP in DDG. Stimulation was presented at the peak of behavioral changes after both doses. When the dose was higher, the peak of hyperactivity began earlier (note the time difference between the injections and tetanic stimulations in experiments). (6) LTP after saline injections and under the low dose of the drug. Histograms show the summary results obtained from all experimental rats. Potentiation of EPSP and PS in both fields are shown separately. Dotted horizontal line – normalized background before tetanisation (100%). White columns – LTP after saline injections, dark columns – after injections of low dozes of MK-801. For more details see the text. (B) Comparison between intraventricular and intraperitoneal injections of low non-toxic doses of MK-801. Similar effects (hyperactivity with motor and sensor deficits) were observed in both cases. These data were obtained from the same rat. iv, ip – intraventricular and intraperitoneal injections of the drug, respectively. Each panel shows trajectory of the animal in the home cage per minute, time after injection (above the panel) and average velocity of movements (below the panel). The first row – control injection of isotonic solution of NaCl; second row – intraventricular injection of MK-801 (20 µg in 5 µL per rat, 1 µL/min) 18 days later; third row – intraperitoneal injection of MK-801 (0.1 mg/kg in 1 mL) 6 days after the previous injection.

рен, то w близка к m и индекс w/m стремится к 1, или 100% (см. Коршунов, 2014). Если животное использует дирекциональную или фокальную стратегию поиска, то w не может быть больше **d**; следовательно, $\mathbf{w}/\mathbf{d} \le 1$. Таким образом, если крыса использует пространственную стратегию, $\mathbf{w}/\mathbf{d} < 1 < \mathbf{w}/\mathbf{m}$. Если животное ошиблось в выборе направления или использует непространственные стратегии поиска, длина траектории растет и $\mathbf{w/c} < 1 <$ < w/d. Наивные животные обычно плавают вдоль стен бассейна, совершая несколько полных кругов, что отражается на индексе w/c > 1. Эмпирически мы нашли, что, когда индекс $\mathbf{w/c}$ становится меньше 1, крыса меняет escape-реакцию на целенаправленный поиск платформы (Коршунов, 2012). Попытка, когда это случилось, может быть использована как точка синхронизации для сравнения различных животных. Индексы не зависят от физического состояния животных и их двигательной активности. Кроме того, будучи пропорциями, эти индексы позволяют сравнивать между собой различные попытки разных животных независимо от места запуска в бассейн, без каких-либо дополнительных расчетов (Коршунов, 2019).

Протокол экспериментов

Отсутствие ДПП на фоне антагониста еще не означает успешной блокады рецепторов, поскольку тот же эффект будет и без блокатора, при ошибочной установке электродов или неудачных параметрах тетанизирующей стимуляции. Для нахождения оптимальных параметров индукции ДПП индивидуально для каждой крысы мы предварительно потенцировали ПП и ВГК на фоне инъекции изотонического p-pa NaCl. Эксперименты начинали через несколько дней после полного угашения предварительной ДПП. Предварительное плавание наивного животного использовали для оценки исходного физического состояния (средняя и максимальная скорость плавания). ВП в ответ на стимуляцию соответствующих входов регистрировали в течение всего эксперимента, до и после введения антагониста. Тетанизирующую стимуляцию с ранее найденными параметрами предъявляли через 20-50 мин после инъекции антагониста, когда наблюдались наиболее выраженные поведенческие изменения, что свидетельствовало, что препарат действует на ЦНС. Каждой крысе давали столько попыток, сколько не-



обходимо, чтобы найти подводную или видимую платформу после инъекции препарата (экспериментальные крысы) или изотонического раствора (контрольные животные). При тестировании после обучения всем крысам давали одну попытку найти подводную платформу.

Статистический анализ

Если данные имели нормальное распределение (тесты Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка), использовали двусторонний критерий Стьюдента (число степеней свободы: $df = n_1 + n_2 - 2$). В случае ненормального распределения использовали тест Манна—

Уитни. Для данных с биномиальным распределением использовали точный тест Фишера. Различия p < 0.05 принимались как достоверные во всех тестах. Для обработки данных использовали программы Statistica10 и SPSS17.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Препарат протестировали до экспериментов. Большая доза МК-801 (1 мг/кг) полностью блокировала индукцию ДПП (рис. 1, первая инъекция). Напротив, низкие, нетоксичные дозы (0.08–0.1 мг/кг) препарата не препятствовали индукции ДПП (рис. 1 (а), вторая инъекция). Результаты представлены на рис. 1 (б). Поскольку NaCl вводили и кон-

трольным, и экспериментальным животным, группы объединили (11 крыс, 8 потенциаций в ДЗФ, 10 в CA1); MK-801вводили только экспериментальной группе (6 крыс, 8 потенциаций в ДЗФ, 6 в СА1). ДПП после инъекции изотонического p-pa NaCl и после интраперитонеальных и интравентрикулярных введений МК-801 достоверно не отличались в ДЗФ (тест Манна-Уитни, для ВПСПz == 1.636181, p > 0.1; для $\Pi C_z = -0.806179$, p >> 0.4) после тетанизирующей стимуляции ПП. В СА1 потенциация ПС на фоне МК-801 была даже выше, чем после инъекции изотонического р-ра у тех же крыс (+17.7% в среднем, z = -4.29132, p < 0.001); достоверных различий в потенциации ВПСП не выявлено (z = -0.297012, p > 0.76). Низкие дозы препарата вызывали гиперактивность у крыс в домашней клетке, сопровождаемую вестибулярными и моторными нарушениями как после интраперитонеальных, так и после интравентрикулярных инъеций (рис. 1 (в)). Изменения поведения начинались через 26-61 мин после инъекции, что соответствует ранее опубликованным результатам (Tricklebank et al., 1989; Adams et al., 2013). Введенные дозы не блокировали индукцию ДПП ни в ДЗФ, ни в поле СА1 гиппокампа после тетанизации соответственно ПП и ВГК. Тем не менее как интраперитонеальные, так и интравентрикулярные инъекции низких доз МК-801 драматически нарушали поведение как в аллоцентрических, так и в эгоцентрических пространственных задачах. Экспериментальной группе крыс было сделано 11 интравентрикулярных инъекций низких доз МК-801 (0.08— 0.1 мг/кг). Ни одно из шести экспериментальных животных под действием антагониста НМДАр не смогло выучить не только аллоцентрическую, но даже эгоцентрическую пространственную задачу. Типичный пример показан на рис. 2. У этой крысы было 8 попыток на фоне интраперитонеальной инъекции препарата. Два первых эксперимента были с невидимой платформой. До инъекции наивное животное сначала плавает вдоль стен бассейна, потом пересекает его по хордам (рис. 2 (а), траектория 0t01). Напротив, под воздействием МК-801 животные вращаются на месте или кружатся в воде, иногда погружаясь под воду (рис. 2 (a), траектория 0t02). Плавание начинает возвращаться к норме только через 3 часа после инъекции (рис. 2 (а), траектория 0t04). ДПП в CA1 была вызвана тетанизирующей стимуляцией ВГК, на пике действия

препарата (через 24 мин после введения), когда животное было не в состоянии решить пространственную задачу. После короткой депрессии (1 тест, сразу после тетанизации, см. рис. 2 (а)), амплитуда ПС достоверно увеличилась по сравнению с фоном (нормальное распределение, тест Стьюдента, $t_{108} = -16.2841$, p < 0.001). ДПП сохранялась более суток ($t_{78} =$ =-2.67815, p < 0.05). Когда ДПП полностью угасла, эксперимент повторили. ВГК потенцировали через 50 мин после интраперитонеальной инъекции МК-801, стимуляция снова вызвала достоверное возрастание ПС $(t_{108} = -15.9573, p < 0.001)$, при грубых нарушениях поведения (рис. 2 (б), траектория 0t05). Эта крыса нашла платформу один раз с 6-й попытки, но не забралась на нее и не запомнила ее позиции, что выяснилось при тестировании. В третьем эксперименте выяснилось, что крыса после интраперитонеальной инъекции МК-801 не смогла решить даже эгоцентрическую задачу с видимой платформой (рис. 2 (в), траектории 0t07-9). Для сравнения, контрольная крыса выучила ту же задачу за 2 попытки (рис. 2 (г)).

интравентрикулярных инъекциях низких доз МК-801 (20 мкг на крысу) результаты не отличались от интраперитонеальных введений. В экспериментальной группе крыс было сделано 9 интравентрикулярных инъекций. Ни одно животное не обучилось под действием препарата. Типичный пример показан на рис. 3 (а). Тетанизирующая стимуляция ПП легко вызвала ДПП в ДЗФ на фоне гиперактивности животного, вызванной низкой дозой МК-801 (тест Манна-Уитни, z = -8.94836, p < 0.001). Крыса не смогла найти даже видимой платформы, несмотря на интактность индукции ДПП. ДПП длилась более 3 суток (тест Манна-Уитни, z = -2.08272, p < 0.05 на третий день). Три инъекции с интервалом в неделю были сделаны этому животному, все попытки обучиться были безуспешными.

Использованные нами дозы не были токсичны для мозга. Через несколько дней после последней инъекции экспериментальные крысы легко обучались. Типичный пример показан на рис. 3 (б). В первой же попытке крыса сразу нашла видимую платформу, в последующих 2 попытках крыса нашла невидимую платформу с разных исходных позиций.

Низкие дозы МК-801 нарушали поведение даже у хорошо обученных животных (рис. 4).

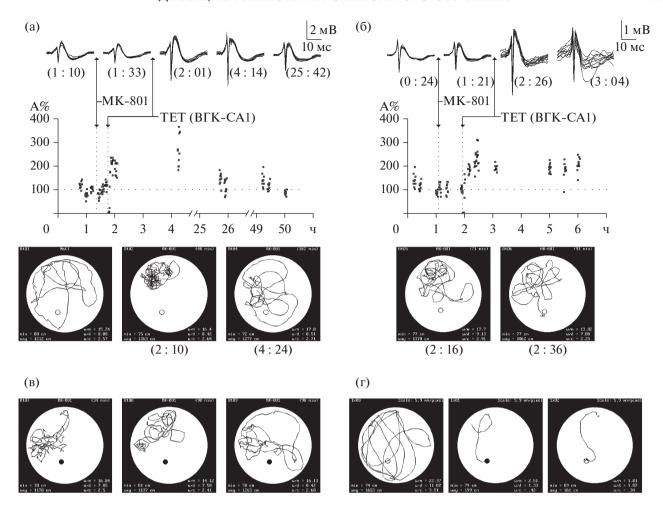
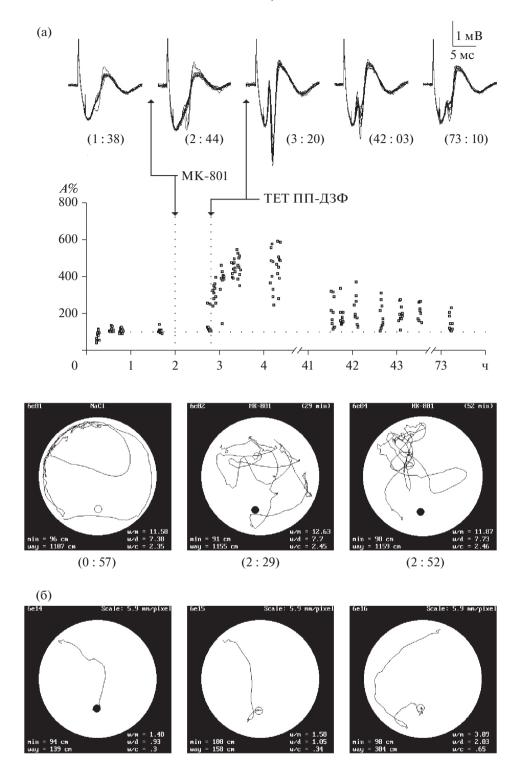


Рис. 2. Влияние интраперитонеальной инъекции МК-801 на индукцию ДПП и пространственное поведение. Низкие дозы антагониста НМДА-рецепторов не блокируют индукцию ДПП, но драматически нарушают поведение как в алло-, так и в эгоцентрических пространственных задачах. Сверху — вызванные ответы в СА1 гиппокампа при стимуляции ВГК до и после ТЕТ. В скобках — время на общей временной шкале. На графиках ниже — амплитуды ПС до и после ТЕТ, нормированные по амплитуде фона. Ниже показаны траектории животного в бассейне при отдельных попытках. Время после инъекции указано в правом верхнем углу. Светлый круг — подводная платформа, темный — видимая платформа. Время каждой попытки относительно общей временной шкалы показано под траекторией. min — минимальное расстояние между платформой и исходной позицией крысы в бассейне; way — длина траектории в воде; w/m, w/d, w/c — индексы выполнения. В первых двух экспериментах ТЕТ ВГК легко вызывает ДПП через 24 (а) и 50 мин (б) после инъекции МК-801 на фоне грубых нарушений аллоцентрического пространственного поведения в бассейне Морриса. В третьем эксперименте крыса не может решить эгоцентрическую задачу с видимой платформой на фоне МК-801 (в). Для сравнения, контрольной крысе (инъекция изотонического р-ра) потребовалось всего две попытки для решения той же задачи (г).

Fig. 2. Effect of intraperitoneal injections of MK-801 on induction of LTP and behavior. Low doses of NMDAr antagonist MK-801 do not block induction of LTP, but dramatically impair spatial learning in both, allocentric (submerged platform) and egocentric (visible platform) tasks. The panels show the trajectories of the animal in the water maze in each trial; times after injections are shown in the right upper corners of each panel; light circle – submerged platform, dark circle – visible platform; the time of each trial according to the common time scale is shown below the panel; min – the minimal distance between the platform and initial position of the animal; way – the length of the animal trajectory in the water; w/m, w/d, w/c – indices of performance. Graphics and waveforms above the panels illustrate the changes of the field potentials recorded in CA1 field of hippocampus before and after tetanic stimulation of VHC. Data were obtained in the same rat with 2 days interval between experiments. Swimming pattern was dramatically changed after the injection of the drug in all tasks in comparison with swimming after a control saline injection. Intraperitoneal injection of 0.1 mg/kg of MK-801 did not prevent LTP induction. Tetanic stimulation of VHC easily induced LTP in CA1 hippocampal field after 24 min (a) and 50 min (6) of the drug injection exactly during the period of time when the animal could not learn the task due to impairments of behavior. In the third experiment the rat could not find even the visible platform under the drug (B). For comparison, it takes 2 trials for control rat to learn the same egocentric task (Γ).



Эксперименты проведены на трех крысах второй контрольной группы после обучения в аллоцентрической задаче. Все 44 попытки до применения препарата были успешны у всех крыс. Половины низких доз (0.05 мг/кг интраперитонеально и 12 мкг на крысу ин-

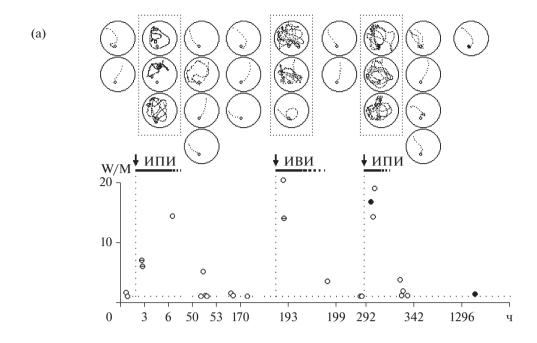
травентрикулярно) не влияли на поведение; все 9 попыток были успешны. При полных низких дозах поведение драматически нарушалось у всех крыс (только 2 успешные попытки из 17, точный тест Фишера, p < 0.001). Крысы 10 раз случайно (индексы дирекцио-

Рис. 3. Влияние интравентрикулярой инъекции МК-801 на индукцию ДПП и пространственное поведение. (а) МК-801(20 мкг на крысу) не блокирует индукцию ДПП, но нарушает поведение даже в эгоцентрических задачах с видимой платформой. На графике ВП в ДЗФ и ДПП ПС после ТЕТ ПП на фоне антагониста НМДАр. ТЕТ предъявили через 49 мин после инъекции, на пике гиперактивности, когда животное не могло решить задачу (6е02-6е04). ДПП длилась трое суток. В первой попытке на фоне антагониста (6e02) крыса коснулась платформы, но не залезла и не запомнила ее позицию. Эксперимент повторили трижды с недельным интервалом, все попытки на фоне МК-801 были неудачными. После отмены антагониста та же крыса легко решила как эго-, так и аллоцентрическую задачи. (б) Все обозначения как на рис. 2. Fig. 3. (a) Intraventricular injections of MK-801 (20 µg per rat, 5 µL, 1 µL per minute) do not block LTP induction, but impair spatial learning even in egocentric task (visible platform). All the symbols on the plates have the same meaning as they do in Fig. 2. The graphic and the waveforms show LTP in DDG after tetanic stimulation of PP. Stimulation was presented 49 min after drug injection during the period of time when the animal could not learn the task. LTP lasted for 3 days. In the first trial under the drug the animal touched the platform, but did not remember the position and could not find the platform in the next trials. Three drug injections with one week intervals were made in this particular animal, all the trials under the drug were not successful. (6) Two weeks after the last drug injection this rat could easily learn the task with both, visible and submerged platforms; thus, the dozes used in our experiments were not toxic for the brain.

нальности \mathbf{w}/\mathbf{m} и выполнения \mathbf{w}/\mathbf{c} достоверно возрастали до уровня попыток наивных животных: тест Манна—Уитни, z = -3.88057, p < -3.88057< 0.001; z = -3.826673, p < 0.001 cootbetctbehно) натыкались на платформу, но в 8 случаях даже не пытались на нее забраться. Для дополнительной проверки одну из крыс дважды потенцировали на фоне МК-801, когда крыса не могла найти платформу. При этом ДПП в ДЗФ была интактна: ПС достоверно возрастал после стимуляции ПП как на фоне интраперитонеальной (z = -9.48424, p < 0.001), так и на фоне интравентрикулярной инъекций (z = -7.63068, p < 0.001) низких доз МК-801. ДПП длилась 3 дня минимум в обоих случаях (z = -7.44223, p < 0.001; z = -5.43591, p < 0.001 на третий день). Обученные крысы под действием блокатора смогли найти только видимую платформу, невидимую находили случайно. Этот эксперимент показал, что блокатор мешает животным воспроизвести ранее выученное поведение. Может быть. крысы все-таки учатся под действием МК-801, но препарат мешает им выполнить выученное поведение? Чтобы проанализировать возможность отставленного или "молчащего" обучения (Rossato et al., 2018), мы исследовали выполнение задачи у экспериментальных жи-MK-801. после отмены антагонист не влияет на обучение, а только мешает воспроизвести выученное поведение, то после отмены препарата экспериментальные животные должны находить платформу лучше, чем в наивных попытках. Одна крыса из экспериментальной группы была исключена из анализа, поскольку ни разу не нашла платформу, следовательно, не могла обучитьпространственной задаче. Поведение

остальных 5 крыс после обучения на фоне МК-801 не отличалось от наивных попыток. Таким образом, низкие дозы МК-801 нарушают обучение, не блокируя ДПП-подобной пластичности. Типичные траектории контрольных и экспериментальных крыс показаны на рис. 5 (а). Индекс дирекциональности w/m достоверно падает у крыс контрольной группы после обучения (рис. 5 (а), К1), чего не наблюдается в экспериментальной (рис. 5 (а), Э), несмотря на большее число попыток. Животные не могли решить ни пространственной аллоцентрической (подводная платформа), ни эгоцентрической (видимая платформа) под действием МК-801. В то же время контрольное животное легко решает эгоцентрическую задачу (рис. 5 (а), К2), после чего сразу находит невидимую платформу при тестировании.

Динамика обучения в контрольной и экспериментальной группах показана на рис. 5 (б). Обученные животные с любой стратегией пространственного поведения имеют индекс выполнения $\mathbf{w/c} \le 1$ (Коршунов, 2019). Попытки, в которых крысы достигли этого результата, использованы как точки синхронизации и обозначены "0" на оси Х (рис. 5 (б), контроль). После этой попытки индекс дирекциональности w/m у всех контрольных крыс стремится к 1 (рис. 5 (б), контроль). Ни одна крыса из экспериментальной группы не достигла индекса $\mathbf{w/c} \le 1$, $\mathbf{w/m}$ -индекс после обучения на фоне МК-801 не отличается от результатов наивных попыток (рис. 5 (б), МК-801). Крыса с худшим результатом в контрольной группе (рис. 5 (б), контроль) показала достоверно лучшие показатели, чем любое из экспериментальных животных (рис. 5 (б), (б)



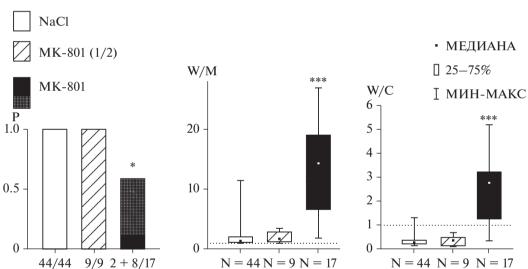


Рис. 4. (а) Низкие дозы МК-801 как при интраперитонеальных (ИПИ), так и при интравентрикулярных инъекциях (ИВИ) нарушают поведение у хорошо обученных животных как в аллоцентрических, так и в эгоцентрических задачах. Траектории под действием антагониста показаны в пунктирных прямоугольниках. Без блокатора индекс **w/m** близок к 1, на фоне МК-801 он достоверно возрастает до показателей наивного плавания. Только через 5 часов после интравентрикулярой инъекции (198 ч на временной шкале) крыса смогла найти платформу. Белые кружки — невидимая платформа, черные — видимая, "—" в кружке — крыса не нашла платформу. (б) Гистограммы показывают статистически обработанные результаты второй контрольной группы, включающие в себя вероятность нахождения платформы (Р), индексы дирекциональности — **w/m** и выполнения — **w/c**. Инъекции половинных доз не влияют на поведение, полные низкие дозы нарушают поведение у хорошо обученных животных без блокады ДПП.

Fig. 4. (a) Low doses of MK-801 after both, intraperitoneal (ip - 0.1 mg/kg, 1 mL) and intraventricular (iv - 20 µg in 5 µL per rat, 1 µL/min) injections impaired behavior even in well-trained animals. Panels with trajectories and graphic below show the results obtained in a particular well-trained control rat. Trajectories under the drug are shown in dotted rectangles. White circles on graphic mean submerged platform, dark – visible platform. Symbol "—" in the circle indicates that the animal could not find the platform. Without the drug index of directionality w/m was close to 1, but under the drug this parameter significantly increased in all trials. Only five hours after iv — injection (198 h at the total scale) behavior became better and the animal could find submerged platform. (6) Histograms show the statistical analysis of summary results in control group, including probability of finding the platform and indices of directionality w/m and performance w/c. Injections of isotonic solution or a half of low dose of MK-801 did not impair behavior. The whole low dose dramatically impaired behavior even in well-trained rats without blockade of LTP.

МК-801). Экспериментальным животным потребовалось почти вдвое больше попыток, чтобы впервые найти платформу (рис. 5 (в)). Пространственное поведение в экспериментальной группе также было нарушено. Индекс дирекциональности w/m в контроле при обучении был достоверно ниже, чем аналогичный показатель в экспериментальной группе (Mann–Whitney test, z = -3.384702, p << 0.001, рис. 5 (в)); w/m- и w/c-индексы в экспериментальной группе не отличались от результатов в наивных попытках (Mann–Whitney test, z = 0.456435, p > 0.6, puc. 5 (B)). Bo время обучения контрольная группа достоверно лучше находила платформу (15 успешных попыток из 18) по сравнению с экспериментальной группой (3 из 22) (точный тест Фишера, p < 0.001, рис. 5 (в)). Различия между контрольной и экспериментальной группой после обучения были также достоверны (точный тест Фишера, p < 0.01, рис. 5 (в)). Все контрольные крысы нашли подводную платформу при тестировании. Ни одна экспериментальная крыса невидимую платформу при тестировании не нашла, несмотря на большее число попыток при обучении (43 попытки всего, 22 после первого нахождения платформы) по сравнению с контролем (30 попыток всего, 18 после нахождения платформы).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на многолетнюю историю изучения ДПП-подобной пластичности, ее роль в обучении остается дискуссионной (Morris, 1994; Jeffery, 1997; Holscher, 1999). Обнаруженные при обучении изменения ВП при надлежащих контролях оказались связанными с изменениями температуры мозга при двигательной активности (Moser et al., 1993). Различия в потенцируемости связей у обученных и необученных животных обусловлены стрессом (Shors et al., 1989, Jeffery, 1997). Если механизмы обучения ДПП-подобны, то модификация синапсов до "насыщения" должна блокировать обучение (Castro et al., 1989), но оказалось, что "насыщенная" потенциация гиппокампальных связей на обучение не влияет (Korol et al., 1993; McNamara et al., 1993). Прямые измерения синаптической эффективности в обучении зависят от нейросетевых процессов, не контролируемых экспериментатором (Коршунов, 2001). Результаты генетических манипуляций противоречивы (Jeffery, 1997) и не допускают однозначных трактовок. Селективная блокада НМДАр не приводит к нарушениям синаптической передачи, но блокирует ДПП, поэтому фармакологические методы рассматривались как наиболее перспективные. В работе (Priestley et al., 1998) на анестезированных крысах показано, что МК-801 в дозе 0.12 мг/кг с последующим довведением 1.8 мкг/час успешно блокирует ДПП в ДЗФ при стимуляции ПП. При системном введении доз антагониста (0.2-0.33 мг/кг), блокирующих ДПП в гиппокампе, были выявлены нарушения поведения и обучения в различных поведенческих задачах (Butelman, 1989; Tan et al., 1989; Tricklebank et al., 1989; Ward et al., 1990). Обнаруженная корреляция рассматривается как подтверждение связи ДПП-подобной пластичности с обучением. Однако в работе (Olney et al., 1993) было показано, что, начиная с дозы 0.18 мг/кг, МК-801 токсичен для пирамидных и мультиполярных нейронов 3-4 слоев цингулярой коры и вызывает гибель клеток. При удалении ретросплениальной области цингулярной коры (Whishaw et al., 2001) крысы не способны решать гиппокамп-зависимые пространственные задачи, более того, даже временное отключение этой области ведет к пространственным дефицитам, связанным с изменениями гиппокампальных плейсполей (Cooper, Mizumori, 2001). Поскольку дозы, блокирующие ДПП, были токсичны для цингулярной коры, вряд ли найденные корреляции свидетельствуют об общности механизмов ДПП и обучения. Даже при использовании нетоксичных доз антагониста, блокирующих ДПП, методологическая ошибка заключается в том, что если механизмы обучения менее резистентны к блокаде НМДАр, то возможна ложная корреляция между ДПП и обучением (Коршунов, 2012). После любого системного введения блокатора его концентрация в мозге растет градуально, таким образом, поведенческие дефициты начинаются раньше нарушений индукции ДПП. Новизна нашего подхода в том, что, используя низкие, нетоксичные дозы неконкурентного антагониста НМДАр МК-801, не блокирующие ДПП, нам удалось отделить обучение и поведенческие нарушения от ДПП – подобной пластичности. ДПП при низких дозах МК-801 не отличается от ДПП на фоне инъекций изотонического p-pa NaCl (см. рис. 1 (б)), в то же время дефициты поведения наблюдаются и в домашней клетке, и в бассейне Морриса

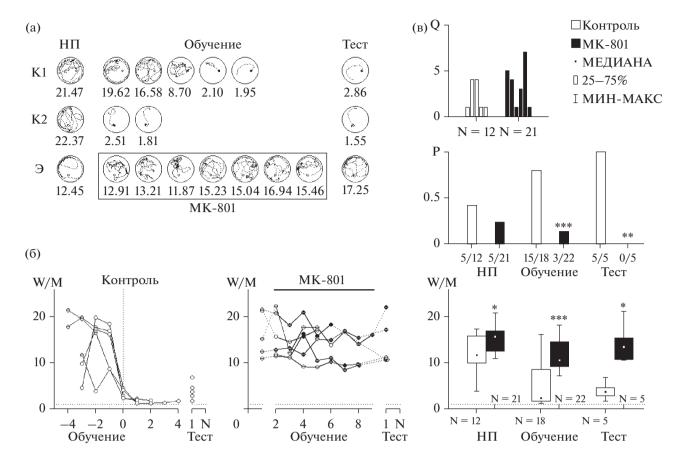


Рис. 5. Суммарные результаты. (а) Типичные траектории контрольных и экспериментальных крыс. К1 — контроль с подводной платформой, К2 — контроль с видимой платформой, Э — экспериментальная крыса. w/m — индексы показаны под каждой попыткой. В прямоугольнике показаны попытки под влиянием МК-801. В тесте экспериментальные крысы показывают тот же результат, что и в наивной попытке (НП). (б) Кривые обучения. Слева контрольные крысы, справа — экспериментальные. Белые кружки — невидимая платформа, темные — видимая. Символ "—" в кружке — крыса не нашла платформу. Данные контрольных крыс синхронизированы относительно попытки с индексом w/c < 1 (0 на графике). Ни одна из экспериментальных крыс не достигла подобного показателя. Все контрольные крысы показали при тестировании достоверно лучший результат, чем экспериментальные. (в) Гистограммы показывают количество попыток (Q) до первого попадания на платформу, вероятность (P) нахождения платформы и индекс дирекциональности (w/m) до, во время и после обучения, X — число попыток, X/N — соотношение числа успехов X и общего числа попыток N. Остальные объяснения в тексте.

Fig. 5. Summary results. (a) Typical trajectories of control and experimental rats. First row — control with the submerged platform; second row — control with the visible platform; third row — a typical trajectory example of an experimental rat. Visible platform is shown as a black circle, submerged platform — as a white circle. Rectangle marks trials under the drug. $\mathbf{w/m}$ — indices are shown under each trial. Experimental rats showed the same task performance as they did in naive trials (HII). (6) Learning curves. Left graph — control rats, right graph — experimental rats. White circles — submerged platform, black circles — visible platform. Symbol "—" inside a circle indicates that the animal did not find the platform in this particular trial. Results obtained from control rats are synchronized relative to the trials with $\mathbf{w/c} \le 1$ (see "0" point on the x-axis). None of the experimental rats achieved this index of performance. Experimental rats after learning under the drug showed the same performance as they did in naive trials. Control rats showed significantly better results in the test. (B) Histograms show the number of trials before a rat found the platform the first time, the probability of finding the platform before, during and after learning. N — number of trials, X/N — number of successful trials X out of total N. For more details see the text.

как у наивных, так и у хорошо обученных животных. Дозы, не блокирующие ДПП в гиппокампе, нарушают поведение крыс не только в гиппокамп-зависимых аллоцентрических задачах, но и в эгоцентрических, где

участие гиппокампа необлигатно. Этот факт ставит под сомнение корреляции между ДПП-подобной пластичностью и гипокамп-зависимыми формами обучения, найденные в ранее опубликованных работах.

Можно предположить, что дефициты обучения могут быть обусловлены гиперактивностью животного и сенсомоторными нарушениями под действием блокатора. Однако, если механизмы обучения интактны и блокатор нарушает только воспроизведение, то после отмены препарата животное должно демонстрировать лучшие результаты, чем при наивной попытке. Тем не менее феномен латентного или "молчащего" обучения (Rossato et al., 2018) в нашей работе не обнаружен. В экспериментальной группе после обучения на фоне блокатора тестирование не выявило разницы с наивными попытками. Таким образом, механизмы обучения были нарушены при сохранной ДПП-подобной пластичности.

МК-801 нарушает воспроизведение ранее заученной реакции, но не ее хранение. Под действием низких доз антагониста НМДАр поведение хорошо обученных крыс неотличимо от наивных, но после выведения препарата обученные животные легко решали аллоцентрическую задачу без какой-либо дополнительной тренировки, что означает, что животные помнили позицию платформы. Сходные результаты описаны для других форм обучения (object recognition memory task) (Chan et al., 2019).

Побочный результат нашего исследования включал регистрацию нейронной активности в ДЗФ и поле СА1 гиппокампа при плавании крыс в бассейне Морриса. Предварительные данные показали, что низкие дозы МК-801, не блокирующие ДПП, драматически нарушают паттерн нейронной активности, и эти изменения коррелируют с нарушениями пространственного поведения крыс в бассейне Морриса. Мы предполагаем, что дефициты обучения на фоне антагонистов НМДА-рецепторов связаны с нарушениями динамических процессов в ЦНС, а не с блокадой ДПП-подобной пластичности. Эксперименты в этом направлении продолжаются.

ВЫВОДЫ

- 1. Большие дозы препаратов, блокирующие ДПП, приводят к ложной корреляции между ДПП и обучением, поскольку поведение и механизмы обучения менее устойчивы к блокаде НМДАр, чем ДПП-подобная пластичность.
- 2. Низкие дозы антагонистов НМДАр нарушают обучение без блокады ДПП-подобной пластичности, таким образом, наши дан-

ные не подтверждают гипотезу о роли ДПП-подобной пластичности в обучении.

3. Блокада НМДАр нарушает воспроизведение ранее заученных реакций у хорошо обученных животных, не затрагивая механизмы хранения памяти.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 19-515-52001/19 МНТ_А. Авторы благодарят В.Н. Мац за морфоконтроль, Ю.В. Райгородского за программу ввода данных, Е.А. Кузину за помощь в обработке данных, К.Б. Норкину и К.Р. Арутюнову за критические замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров Ю.И. Научение и память: традиционный и системный подходы. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2005. 55(6): 842—860.
- Зайченко М.И., Григорьян Г.А., Маркевич В.А. Влияние МК-801 на реконсолидацию пространственной памяти в 8-канальном радиальном лабиринте зависит от условий ее реактивации. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2018. 68(2): 216—226.

https://doi.org/10.7868/S0044467718020077

- Коршунов В.А. Проблемы адекватности методов, применяемых для тестирования синаптической пластичности при обучении. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2001. 51(2): 267—278. PMID: 11548613
- Коршунов В.А. Дефицит гиппокамп-зависимых форм обучения при блокаде НМДА-рецепторов не связан с нарушениями долговременной посттетанической потенциации (ДПП). II-Всероссийская конференция с международным участием "Гиппокамп и память: норма и патология". 10—14 сентября 2012 г., Пущино, Россия. с. 13—14.
- Коршунов В.А. Метод исправления перспективных искажений при видеотрекинге животных в бассейне Морриса. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2014. 64(2): 240—245. https://doi.org/10.7868/S0044467714020117
- Коршунов В.А. Простые индексы для оценки выполнения задач в бассейне Морриса. 15-й Международный Междисциплинарный Конгресс "Нейронаука для Медицины и Психологии". Судак, Крым, Россия, 30 мая—10 июня 2019 г. с. 237.

https://doi.org/10.29003/m442.sudak.ns2019-15/237 Abraham W.C., Kairiss E.W. Effects of NMDA-antagonist 2AP5 on complex spike discharge by hippo-

- campal pyramidal cells. Neurosci. Lett. 1988. 89(1): 36-42.
- https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90477-6
- Adams W.K., Halberstadt A.L., Van den Buuse M. Hippocampal serotonin depletion unmasks differences in the hyperlocomotor effects of phencyclidine and MK-801: quantitative versus qualitative analyses. Front. Pharmacol. 2013. 4: 109. https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00109
- Ahlander M., Misane I., Schott P.A., Ogren S.O. A behavioral analysis of the spatial learning deficit induced by the NMDA receptor antagonist MK-801 (dizocilpine) in the rat. Neuropsychopharmacologv. 1999. 21(3): 414-426.
 - https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00116-X
- Bannerman D.M., Butcher S.P., Good M.A., Morris R.G. Intracerebroventricular infusion of the NMDA receptor-associated glycine site antagonist 7chlorokynurenate impairs water maze performance but fails to block hippocampal long-term potentiation in vivo. Neurobiol. Learn. Mem. 1997. 68(3): 252-270. https://doi.org/10.1006/nlme.1997.3797
- Bliss T.V.P., Collingridge G.L. A synaptic model of
- memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature. 1993. 361 (6407): 31–39. https://doi.org/10.1038/361031a0
- Butcher S.P., Davis S., Morris R.G. A dose-related impairment of spatial learning by the NMDA receptor antagonist, 2-amino-5-phosphonovalerate (AP5). Eur. Neuropsychopharmacol. 1990. 1(1):
 - https://doi.org/10.1016/0924-977x(90)90005-u
- Butelman E.R. A novel NMDA antagonist, MK-801, impairs performance in a hippocampal-dependent spatial learning task. Pharmacol Biochem Behav. 1989. 34(1): 13–16. PMID: 2696982 https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90345-6
- Castro C.A., Silbert L.H., McNaughton B.L., Barnes C.A. Recovery of spatial learning deficits after decay of electrically induced synaptic enhancement in the hippocampus. Nature (London). 1989. 342(6249): 545-548.
- Cercato M.C., Colettis N., Snitcofsky M., Aguirre A.I., Kornisiuk E.E., Baez M.V., Jerusalinsky D.A. Hippocampal NMDA Receptors and the Previous Experience Effect on Memory. J. Physiol. Paris, 2014. 108(4–6): 263–269. https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2014.08.001
- Cercato M.C., Vázquez C.A., Kornisiuk E., Aguirre A.I., Colettis N., Snitcofsky V., Jerusalinsky D.A., Baez M.V. GluN1 and GluN2A NMDA Receptor Subunits Increase in the Hippocampus During Memory Consolidation in the Rat. Front. Behav. Neurosci. 2017. 10: 242.
 - https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00242
- Chan M., Austen J.M., Eacott M.J., Easton A., Sanderson D.J. The NMDA receptor antagonist MK-801

- fails to impair long-term recognition memory in mice when the state-dependency of memory is controlled. Neurobiol. Learn. Mem. 2019. 161: 57 - 62.
- https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.03.006
- Christian E.P., Deadwyler S.A. Behavioral Functions and Hippocampal Cell Types: Evidence for Two Nonoverlapping Populations in the Rat. J. Neurophysiol. 1986. 55(2): 331-348. https://doi.org/10.1152/jn.1986.55.2.331
- Cooper B.G., Mizumori S.J.Y. Temporary Inactivation of the Retrosplenial Cortex Causes a Transient Reorganization of Spatial Coding in the Hippocampus.J. Neurosci. 2001. 21(11): 3986–4001.
- Ezrokhi V.L., Zosimovskii V.A., Korshunov V.A., Markevich V.A. Restoration of Decaying Longterm Potentiation in the Hippocampal Formation by Stimulation of Neuromodulatory Nuclei in Freely Moving Rats. Neurosci. 1999. 88(3): 741-753.
 - https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00232-2
- Holscher C. Synaptic Plasticity and Learning and Memory: LTP and Beyond. J. Neurosci. Research. 1999. 58: 62-75. PMID: 10491572
- Jeffery K.J. LTP and Spatial Learning—Where to Next? Hippocampus. 1997. 7: 95–110. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1997)7:1 <95::AID-HIPO10>3.0.CO;2-D
- Keith J.R., Rudy J.W. Why NMDA-receptor-depenent long-term potentiation may not be a mechanism of learning and memory: reappraisal of the NMDA-receptor blockade strategy. Physiology. 1990. 18: 251–257. https://doi.org/10.3758/BF03327238
- Kikusui T., Aoyagi A., Kaneko T. Spatial Working Memory Is Independent of Hippocampal CA1 Long-Term Potentiation in Rats. Behavioral Neuroscience. 2000. 114 (4): 700-706. PMID: 10959528
- Korol D.L., Abel T.W., Church L.T., Barnes C.A., McNaughton B.L. Hippocampal synaptic enhancement and spatial learning in the Morris swim task. Hippocampus, 1993. 3: 127–132.
- Korshunov V.A, Averkin R.G. A Method of Extracellular Recording of Neuronal Activity in Swimming Mice. J. Neurosci. Methods. 2007. 165: 244-250. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2007.06.014
- Korshunov V.A. Miniature multichannel preamplifier for extracellular recordings of single unit activity in freely moving and swimming small animals. J. Neurosci. Methods. 2012. 206: 15–22. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2012.02.007
- Lamberty Y., Gower A.J. Simplifying environmental cues in a Morris-type water maze improves place learning in old NMRI mice. Behav. Neural. Biol. 1991. 56 (1): 89–100.
 - https://doi.org/10.1016/0163-1047(91)90315-h

- Leung L.W.S., Desborough K.A. APV, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, blocks the hippocampal theta rhytm in behaving rats. Brain Res. 1988. 463: 148–152.
 - https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90538-0
- McNamara R.K., Kirkby R.D., dePape G.E., Skelton R.W., Corcoran M.E. Differential effects of kindling and kindled seizures on place learning in the Morris water maze. Hippocampus. 1993. 3: 149–152.
- McNaughton N., Ruan M., Woodnorth M.A. Restoring theta-like rhythmicity in rats restores initial learning in the Morris water maze. Hippocampus. 2006. 16(12): 1102–1110. https://doi.org/10.1002/hipo.20235
- Monaghan D.T., Cotman C.W. Distribution of N-metyl-D-aspartate-sensitive L-[3H] glutamate-binding sites in rat brain. J. Neurosci. 1985. 5: 2909–2919.
 - https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-11-02909.1985
- *Morris R.G.M.* NMDA receptors and memory encoding. Neuropharmacology. 2013. 74: 32–40. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.014
- Morris R.G.M., Steele R.J., Bell J.E., Martin S.J. N-methyl-d-aspartate receptors, Learning and memory: Chronic intraventricular infusion of the NMDA receptor antagonist d-AP5 interacts directly with the neural mechanisms of spatial learning. European Journal of Neuroscience. 2013. 37(5): 700–717. https://doi.org/10.1111/ejn.12086
- Morris R.G.M. The neural basis of learning with Particular Reference to the Role of Synaptic Plasticity. Where Are We a Century after Cajal's Speculations? -in "Animal learning and Cognition", Ed. N.J. Mackintosh, Academic press, 1994.
- Morris R.G. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. Journal of Neuroscience. 1989. 9(9): 3040–3057. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-09-03040.1989
- Moser E.I., Mathiesen I., Andersen P. Assosiation between brain temperature and dentate field potentials in exploring and swimming rats. Science. 1993. 259: 1324–1326.
- Nakazawa K., Quirk M.C., Chitwood R.A., Watanabe M., Yeckel M.F., Sun L.D., Kato A., Carr C.A., Johnston D., Wilson M.A., Tonegawa S. Requirement for Hippocampal CA3 NMDA Receptors in Associative Memory Recall. Science. 2002. 279: 211–218. https://doi.org/10.1126/science.1071795
- Olney J.W., Sesma M.A., Wozniak D.F. Glutamatergic, Cholinergic and GABAergic Systems in Posterior Cingulate Cortex: Interactions and Possible Mechanisms of Limbic System Disease, in: Vogt, BA, Gabriel, M (Eds.), Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus. A Comprehen-

- sive Handbook. Birkhauser, Boston, Basel, Berlin, 1993. 557–580 pp.
- Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Fourth edition, Acad. Press, 1998.
- Peet M.J., Curry K., Magnuson D.S.K., McLennan H. The N-methyl-D-aspartate receptor and burst firing of CA1 hippocampal pyramidal neurons. Neuroscience. 1987. 22: 563–571. https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90353-8
- Priestley T., Marshall G.R., Hill R.G., Kemp J.A. L-687,414, a low efficacy NMDA receptor glycine site partial agonist in vitro, does not prevent hippocampal LTP in vivo at plasma levels known to be neuroprotective. Br. J. Pharmacol. 1998. 124(8): 1767–1773.
- Prusky G.T., Harker K.T., Douglas R.M., Whishaw I.Q. Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. Behav Brain Res. 2002. 136(2): 339–348. https://doi.org/10.1016/s0166-4328(02)00126-2
- Rossato J.I., Moreno A., Genzel L., Yamasaki M., Takeuchi T., Canals S., Morris R.G.M. Silent Learning. Curr Biol. 2018. 28(21): 3508—3515. https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.09.012
- Sengar A.S., Li H., Zhang W., Leung C., Ramani A.K., Saw N.M., Wang Y., Tu Y., Ross P.J., Scherer S.W., Ellis J., Brudno M., Jia Z., Salter M.W. Control of Long-Term Synaptic Potentiation and Learning by Alternative Splicing of the NMDA Receptor Subunit GluN1. Cell Rep. 2019. 29(13): 4285–4294.e5.
 - https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.087
- Saucier D., Cain D.P. Spatial learning without NMDA receptor-dependent long-term potentiation. Nature. 1995. 378(6553): 186–189. https://doi.org/10.1038/378186a0
- Shors T.J., Seib T.B., Levine S., Thompson R.F. Inescapable Versus Escapable Shock Modulates Long-Term Potentiation in the Rat Hippocampus. Science. 1989. 244(4901): 224–226.
- Tan S., Kirk R.C., Abraham W.C., McNaughton N. Effects of the NMDA antagonists CPP and MK-801 on delayed conditional discrimination. Psychopharmacology (Berl). 1989. 98(4): 556–60. PMID: 2505299 https://doi.org/10.1007/BF004419592505299
- Tricklebank M.D., Singh L., Oles R.J., Preston C., Iversen S.D. The behavioral effects of MK-801: a comparision with antagonists acting competitevely at the NMDA-receptor. Eur. J. Pharmacol. 1989. 167: 127–135.
 - https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90754-1
- Ward L., Mason S.E., Abraham W.C. Effects of the NMDA antagonists CPP and MK-801 on radial arm maze performance in rats. Pharmacol Biochem Behav. 1990. 35(4): 785–790. PMID: 2189143 https://doi.org/10.1016/0091-3057(90)90359-p

- Whishaw I.Q., Maaswinkel H., Gonzalez C.L.R., Kolb B. Deficits in allothetic and idiothetic spatial behavior in rats with posterior cingulate cortex lesions. Behavioural Brain Research. 2001. 118: 67–76.
- Whishaw I.Q. Posterior neocortical (visual cortex) lesions in the rat impair matching-to-place navigation in a swimming pool: a reevaluation of cortical contributions to spatial behavior using a new as-
- sessment of spatial versus non-spatial behavior. Behav. Brain Res. 2004. 155(2): 177–184. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.04.013
- Whitlock J., Heynen A., Shuler M., Bear M. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. Science. 2006. 313(5790): 1093–1097. https://doi.org/10.1126/science.1128134

DEFICITS OF HIPPOCAMPUS-DEPENDENT LEARNING DO NOT CORRELATE WITH BLOCKADE OF LONG-TERM POTENTIATION BY THE SYSTEM ADMINISTRATION OF AN NMDA-RECEPTOR ANTAGONIST

V. A. Korshunov^{a, #, ##}, Sh. S. Uzakov^a

^aInstitution of Russian Academy of Sciences, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

[#]e-mail: korav-md@mail.ru

^{##}e-mail: vkorshunov@ihna.ru

Learning and behavior are more sensitive to blockade of NMDARs than LTP-like plasticity. Both intraperitoneal and intraventricular injections of low non-toxic doses of non-competitive NMDARs antagonist MK-801 do not block LTP in the hippocampus but dramatically disturb spatial and non-spatial learning and behavior in rats and prevent spatial memory recall in well-trained animals. Our results do not support the hypothesis about the role of LTP in learning processes.

Keywords: freely moving rats, water maze, hippocampus, evoked potentials, LTP, MK-801

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

УДК 574/577,576.37,591.16,57.085.23

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОЙ СРЕДЫ НА РАННЕЕ ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС ЛИНИИ OXYS

© 2022 г. Т. Н. Игонина¹, О. М. Воронкова¹, Д. С. Рагаева¹, Е. Ю. Брусенцев¹, И. Н. Рожкова¹, Н. Г. Колосова¹, С. Я. Амстиславский^{1,*}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук", г. Новосибирск, Россия

*e-mail: amstis@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.10.2021 г. После доработки 22.10.2021 г. Принята к публикации 20.12.2021 г.

Изменение окружающей эмбрион среды во время внутриутробного развития может оказать влияние на постнатальный онтогенез потомков. В данном исследовании у крыс ОХҮЅ. являющихся моделью преждевременного старения, было изучено влияние материнской среды на рост новорожденных и развитие их рефлексов, а также на плотность нейронов в префронтальной коре и гиппокампе. Преимплантационные эмбрионы переносили от крыс ОХҮЅ к разным самкам-реципиентам: либо крысам линии Wistar, либо гибридам F1 между самками линии Sprague-Dawley и ручными серыми крысами. Полученные нами результаты показали, что в целом неонатальное развитие потомков ОХҮЅ, полученных в результате эмбриотрансфера (ЭТ), ускорялось, но это зависело от генотипа приемной матери. Крысята линии ОХҮЅ, рожденные и выкормленные гибридными матерями, имели большую массу тела, раньше открывали глаза и демонстрировали ускоренное созревание неонатальных рефлексов, что подтверждалось в реакциях избегания края и отрицательного геотаксиса. Более того, эти потомки имели более низкую плотность нейронов в областях гиппокампа CA1, CA3 и DG по сравнению с контрольной группой OXYS (без ЭТ), Крысята OXYS, рожденные и воспитанные матерями Wistar, раньше демонстрировали зрелую позу и открытие глаз, а также имели более низкую плотность нейронов в области САЗ гиппокампа по сравнению с контрольной группой. Кроме того, эти потомки демонстрировали реакцию отрицательного геотаксиса на более раннем этапе неонатального онтогенеза по сравнению с контролем. В заключение следует отметить, что замена матерей OXYS матерями-реципиентами без генетически обусловленной предрасположенности к преждевременному старению привела к более быстрому созреванию неонатальных рефлексов и изменению плотности нейронов в гиппокампе у потомства.

Ключевые слова: крысы OXYS, материнская среда, эмбриотрансфер, потомки, неонатальные рефлексы, префронтальная кора, гиппокамп

DOI: 10.31857/S0044467722020058

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является пересадка (перенос) эмбрионов в полость матки — эмбриотрансфер (ЭТ), который широко применяют как в медицине, так и в экспериментах на лабораторных животных (Вегntsen et al., 2019; Ramos-Ibeas et al., 2019). Гипотеза DOHaD — Developmental Origins of Health and Disease (Barker, 2007) предполага-

ет, что изменения условий внутриутробного развития влияют на постнатальный рост, метаболизм и восприимчивость к заболеваниям во взрослом возрасте; эта гипотеза недавно была распространена и на преимплантационную стадию (Fleming et al., 2015). Несмотря на то что ВРТ в репродуктивной медицине применяются уже на протяжении 40 лет, долгосрочное влияние этих методов на здоровье потомства еще полностью не изучено (Bernt-

sen et al., 2019). Долгосрочные эффекты, связанные с развитием сердечно-сосудистой (Ceelen et al., 2009: Scherrer et al., 2015: Meister et al., 2018) и нервной систем (Rumbold et al., 2017; LaRovere et al., 2019) у детей, рожденных после применения ВРТ, активно обсуждаются в настоящее время. Однако до сих пор неясно, вызваны ли наблюдаемые изменения в этих системах применением ВРТ, или они обусловлены низкой фертильностью (Pontesilli et al., 2015) и наличием хронических заболеваний у родителей (Davan et al., 2016), а также поздним репродуктивным возрастом ма-(Gleicher et al., 2014), которые принимают участие в ВРТ.

Экспериментальные исследования на лабораторных животных направлены на изучение эффектов репродуктивных технологий в проявлении тех или иных признаков у потомков (Sunde, 2019; Раннева и др., 2020). Как правило, воздействие на экспериментальное животное, моделирующее ситуацию лечения бесплодия в медицине, включает комплекс процедур, таких как суперовуляция, культивирование in vitro и ЭТ (Mainigi et al., 2016; Aljahdali et al., 2020). На внутриутробную среду влияют различные факторы, обусловленные как генотипом матери, так и плода (Chiossi et al., 2016; Burrell, Edozien, 2014). Между тем, важный вопрос, который ставят в некоторых исследованиях, заключается в том, как изменение материнской среды во время процедуры ЭТ влияет на эпигеном (молекулярные метки, регулирующие активность генов) в холе лальнейшего развития зарольшей в новой материнской среде (Rivera et al., 2008) и как это отражается на фенотипе потомков (Lee, Azar, 2010; Igonina et al., 2019).

Процедура переноса эмбрионов суррогатной матери вызывает резкие изменения среды для преимплантационных зародышей и в конечном итоге влияет на программирование развития плода. Эксперименты по ЭТ, проведенные на линиях крыс с гипертензией, таких как SHR (Spontaneous Hypertensive Rat) и ISIAH (Inherited Stress Induced Arterial Hypertension) выявили сильное влияние пренатальной материнской среды на массу тела потомства и их систолическое артериальное давление (Lee, Azar, 2010; Igonina et al., 2019). Недавнее исследование на мышах показало также, что генотип суррогатной матери влияет на массу тела и процент жира в организме потомков (Gerlinskaya et al., 2019).

Крысы ОХҮЅ характеризуются преждевременным старением, а также симптомами, сходными с болезнью Альцгеймера человека и некоторыми другими возрастными заболеваниями (Korbolina et al., 2016; Telegina et al., 2019). У крыс OXYS в возрасте 3—5 мес., одновременно с первыми признаками нейродегенерации, возникают изменения поведения, а также нарушения памяти и обучения (Telegina et al., 2019). В неонатальный период крысы OXYS характеризуются задержкой развития нервной системы, сопровождающейся изменениями плотности нейронов в префронтальной коре и гиппокампе, а также отличиями общего уровня метилирования ДНК в исследуемых структурах головного мозга (Igonina et al., 2018). Мы предполагаем, что характерная для этой линии материнская среда осуществляет влияние на развитие нервной системы и созревание мозга у потомков и может быть одним из механизмов, обусловливающим предрасположенность к преждевременному старению крыс OXYS.

Несмотря на то что в некоторых исследованиях была поставлена задача изучить влияние комплекса процедур ВРТ на поведение и развитие мозга потомков (Ecker et al., 2004; Mainigi et al., 2016), до сих пор отсутствуют работы, которые были направлены на оценку специфических эффектов именно ЭТ на эти характеристики. Поскольку особенности раннего постнатального развития и плотность нейронов в отдельных структурах головного мозга у крыс OXYS ранее были нами охарактеризованы (Igonina et al., 2018), данная линия представляет интерес для проведения такого рода исследований. Целью настоящей работы было изучение влияния материнской среды на массу тела потомков и созревание их рефлексов, а также плотность нейронов в префронтальной коре и гиппокампе головного мозга в неонатальный период у крыс OXYS.

МЕТОДИКА

Экспериментальные животные. В эксперименте использовали крыс линий ОХҮЅ, Wistar и гибридов F1 между самками Sprague-Dawley и самцами ручных серых крыс, которых содержали в SPF-виварии Института цитологии и генетики в индивидуально вентилируемых клетках (OptiRAT, AnimalCare, США) при температуре 22—24°С и влажности 40—50%; в качестве подстилки использовали

опилки. Суточный цикл состоял из 12 ч дня и 12 ч ночи, с восходом в 4 ч угра и закатом в 16 ч. Животные имели постоянный доступ к автоклавированному стандартизированному корму (V1534-300, Sniff, Soest, Германия) и очищенной воде, обогащенной минеральными добавками ("Северянка", "Экопроект", Россия). Взрослые самцы и самки крыс в возрасте 12—14 нед. содержались в группах по 2—3 животных перед началом эксперимента. Самцы перед началом спаривания были отсажены в отдельные клетки. Самок с потомством (до 25 дней) также содержали отдельно.

Были сформированы следующие группы животных:

- 1) Контроль, n = 21 (5 пометов): крысы OXYS, зачатые естественным путем, с уменьшением размера помета до 3-7 детенышей;
- 2) ЭТ-Wistar, n = 13 (3 помета): крысы ОХҮЅ, рожденные после ЭТ самкам Wistar; 4-5 крысят в помете;
- 3) ЭТ-гибрид, n = 15 (3 помета): крысы OXYS, рожденные после ЭТ гибридным сам-кам F1 между Sprague-Dawley и ручными серыми крысами; 3-6 детенышей в помете.

Все экспериментальные процедуры были одобрены комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики (протокол № 12 от 6 декабря 2012 г.) и согласуются с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Спаривание доноров и получение эмбрионов. Самок крыс линии OXYS (n = 7) в возрасте 12–16 нед. в период проэструса или эструса ссаживали на ночь с самцами того же вида. Спаривание подтверждалось наличием вагинальной пробки и присутствием сперматозоидов в мазках. День, когда была обнаружена вагинальная пробка/сперматозоиды, считали первым днем после покрытия — post coitum (рс). Спарившихся самок подвергали эвтаназии при помощи CO_2 на пятый день pc для сбора эмбрионов на стадии бластоцисты. Рога матки промывали средой FertiCultTMFlushing (FertiPro, Бельгия), как описано ранее (Igonina et al., 2019). Собранные эмбрионы оценивали под стереомикроскопом S8 APO (Leica Microsystems, Германия) с увеличением 80×. Бластоцисты без видимых дефектов и с интактной *zona pellucida* отбирали для ЭТ, а эмбрионы низкого качества отбраковывали.

Спаривание самок-реципиентов. Самок Wistar (n = 5) и самок гибридных крыс F1 (n = 5),

выбранных в качестве реципиентов для экспериментов по ЭТ, ссаживали на стадии проэструса или эструса с вазэктомированными самцами ручных серых крыс с подтвержденной стерильностью. Через 8—12 ч самок проверяли на наличие вагинальной пробки. День обнаружения вагинальной пробки считали первым днем псевдобеременности.

Эмбриотрансфер. Бластоцисты, полученные от крыс OXYS, были перенесены в рог матки самкам-реципиентам на четвертый день их псевдобеременности. С целью анестезии самкам-реципиентам производили внутрибрюшинные инъекции сначала 0.1 мг/кг медетомидина гидрохлорида (Медитин; 1 мг/мл, Апи-Сан, Россия), а затем через 10 мин 50 мг/кг кетамина гидрохлорида (Кетамин; 50 мг/мл, Московский эндокринный завод, Россия). После этого им подкожно вводили 0.02 мл амоксициллина (Амоксициллина тригидрат; 150 мг/мл, Апи-Сан, Россия). Шерсть в месте разреза сбривали с правой стороны спины на расстоянии 1 см от нижнего ребра в вентральном направлении, а кожу обрабатывали 70%-м спиртом. Шкуру и нижележащий мышечный слой в области над маткой разрезали дорсовентрально, в 5 мм от нижнего ребра в каудальном направлении. Висцеральный жир с яичником, яйцеводом и верхней частью рога матки захватывали пинцетом и приподнимали. Эмбрионы (7–10 на самку) переносили в правый рог матки с помощью стеклянного капилляра в 5 мкл среды FertiCultTMFlushing (FertiPro, Бельгия). Разрез зашивали рассасывающимися нитками и присыпали антибиотиком (Амоксициллина тригидрат; Апи-Сан, Россия), затем хирургический шов обрабатывали антисептиком (Acerbin, Montavit Pharmazeutische Fabrik GmbH, Австрия).

Оценка потомства. День родов считали первым после рождения (Д1). Крысят взвешивали на Д6 и Д14 на цифровых весах (ОНAUS Scout PRO, США) и ежедневно проверяли открытие глаз, начиная с Д6.

Поддержание позы оценивали, помещая крысят на нескользкую поверхность, и наблюдали за тем, как они поддерживают позу при движении. Незрелая поза характеризуется волочением живота по поверхности и перпендикулярным по отношению к телу расположением передних и задних лап. В случае сформированной зрелой позы крысята могут поднимать живот над поверхностью и пере-

двигаться на всех четырех лапах (Geisler et al., 1993). Соответственно, при демонстрации крысятами зрелой позы тест считался выполненным, а незрелой позы — невыполненным. Крысят тестировали в возрасте с двенадцатого по пятнадцатый день жизни (Д12—Д15).

Рефлексы новорожденных оценивали по стандартной методике, рекомендованной ранее (Nguyen et al., 2017). Крысят оценивали ежедневно, начиная с Д6, с использованием перечисленных ниже тестов.

Рефлекс переворачивания (Д6—Д9): каждого крысенка клали на спину на ровную поверхность. Регистрировали время, необходимое детенышу, чтобы перевернуться на четыре конечности. Время теста 30 с. Этот рефлекс считали сформированным, если время переворачивания не превышало 5 с.

Отрицательный геотаксис (Д7—Д13): каждого крысенка помещали головой вниз на наклонную поверхность, покрытую металлической проволочной сеткой под углом 45 градусов. Тест считали успешно выполненным, когда у детеныша получалось развернуться на 180 градусов и начать ползти по поверхности. Время теста — 180 с.

Реакция избегания края (Д9—Д14): каждого крысенка помещали на ровную приподнятую поверхность (высота 70 см) так, чтобы голова и передние лапы свисали с края. Испытание считали выполненным, когда у детеныша получалось развернуться на 180 градусов и отползти от края. Время теста — 180 с.

Тест "выход из круга" (Д8—Д12): каждый крысенок был помещен в центр круга диаметром 15 см. Тест считали успешно выполненным, когда детеныш мог выйти за пределы круга обеими передними лапами. Время теста — 30 с.

Гистологический анализ и получение изображений. В возрасте шести дней одного или двух крысят из помета каждой группы подвергали эвтаназии при помощи декапитации, выделяли мозг и фиксировали в течение 48 ч в 4%-м параформальдегиде, приготовленном на PBS. Затем мозг с помощью лезвия разделяли на части толщиной 5 мм и помещали в гистологические кассеты. Кассеты с частями мозга подвергали проводке в аппарате карусельного типа Citadel 2000 (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Затем блоки заливали парафиновой средой Histomix Extra (Bio Vitrum, Россия) на станции HistoStar (Thermo

Fisher Scientific, США). Для гистологической оценки были получены срезы толщиной 4 мкм префронтальной коры (брегма = +5.64) и гиппокампа (брегма = -2.92) с помощью микротома Microm HM340E (Thermo Fisher Scientific, США) и помещены на предметные стекла. Затем срезы окрашивали по Нисслю для идентификации клеток. Оценивали плотность нейронов в третьем слое префронтальной коры, а также в СА1-, СА2-, СА3-областях и зубчатой извилине (DG) гиппокампа. Получали изображения срезов префронтальной коры и каждой области гиппокампа с помощью микроскопа EclipseCi-L (Nikon, Япония), оснащенного камерой DS-Fi2 (Nikon, Япония). Плотность нейронов рассчитывали вручную при помощи программы ImageJ (NІН, США), как описано ранее (Igonina et al., 2018).

Статистический анализ. Анализ результатов проводили с использованием программы STATISTICA v.6.0. Уровень значимости считали при p < 0.05. Проверку нормальности распределения полученных данных проводили с помощью тестов Колмогорова—Смирнова и Шапиро-Уилка; однородность дисперсий проверяли тестом Левена. Данные по массе тела и плотности нейронов в различных областях головного мозга были проанализированы при помощи ANOVA с последующим анализом post hoc с использованием теста Fisher LSD и представлены как среднее значение ± стандартная ошибка. Результаты общего развития (зрелость позы, реакция отрицательного геотаксиса, день открытия глаз, тесты "избегание края" и "выход из круга") представлены как доля крысят. Данные были проанализированы с использованием критерия хи-квадрат с поправкой Холма-Бонферрони для множественных сравнений. Результаты по рефлексу переворачивания представлены как медиана с первым и третьим квартилями (Me [Q1; Q3]) и были проанализированы с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Общее неонатальное развитие

Гендерных различий в тестируемых параметрах неонатального развития для всех исследуемых групп выявлено не было, поэтому данные для самок и самцов были объединены для дальнейшего статистического анализа. Данные по массе тела представлены на рис. 1

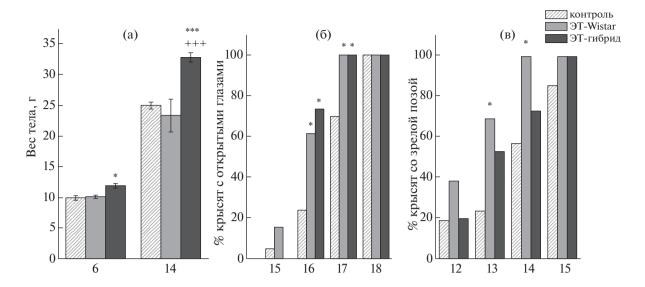


Рис. 1. Общее развитие потомков крыс OXYS. По оси абсцисс указан день неонатального развития. (а) — масса тела, (б) — открытие глаз, (в) — формирование зрелой позы. * -p < 0.05, *** — p < 0.001 по сравнению с контролем. *+++ — p < 0.001 по сравнению с ЭT-Wistar.

Fig. 1. General development in offspring of OXYS rats. X-axis indicates day of the neonatal development. (a) - body weight, (6) - eyes opening, (B) - mature posture development. * -p < 0.05, *** -p < 0.001 vs. Control. +++ -p < 0.001 vs. ET-Wistar.

(а). Анализ ANOVA выявил значительное влияние на массу тела таких факторов, как "генотип приемной матери" (F(2, 46) = 43.8, p < 0.001) и "возраст крысенка" (F(1, 46) = 2071.5, p < 0.001), а также взаимодействие между этими факторами (F(2, 46) = 38.4, p < 0.001). Как показал post hoc тест Fisher LSD, детеныши из группы ЭТ-гибрид весили больше по сравнению с контрольной группой на Д6 (p < 0.05) и Д14 (p < 0.001) и по сравнению с крысятами из группы ЭТ-Wistar на Д14 (p < 0.001).

Доля крысят с открытыми глазами была значительно выше по сравнению с контролем в обеих ЭТ-группах на Д16 (p < 0.05) и Д17 (p < 0.05). Кроме того, на Д17 глаза уже были открыты у всех крысят обеих экспериментальных групп. Однако в контрольной группе все детеныши открыли глаза только на Д18 (рис. 1 (б)).

Зрелая поза быстрее формировалась у крысят ЭТ-Wistar по сравнению с контролем (рис. 1 (в)). Доля детенышей, имевших зрелую позу, была в группе ЭТ-Wistar значительно выше по сравнению с контролем на Д13 (p < 0.01) и Д14 (p < 0.01). Кроме того, у всех крысят в группе ЭТ-Wistar уже развилась зрелая поза на Д14, тогда как в контрольной и ЭТ-гибрид группах все детеныши демонстрировали зрелую позу только на Д16.

Развитие рефлексов

Никаких гендерных различий в развитии рефлексов обнаружено не было ни в одной из исследуемых групп; по этой причине данные по самкам и самцам были объединены для дальнейшего статистического анализа. Согласно нашим результатам, время выполнения рефлекса переворачивания у крысят всех трех исследуемых групп не отличается (рис. 2 (а)). Считается, что рефлекс переворачивания полностью сформирован, когда крысенок может выполнить задание менее чем за 5 с (Markus, Petit, 1987). Согласно нашим результатам, у детенышей всех исследуемых групп рефлекс переворачивания полностью сформировался на Д8.

Передвижение у потомков оценивали с помощью теста "выход из круга". Доля крысят, успешно выполнивших задание, в исследуемых группах не отличалась (рис. 2 (б)).

Во всех трех изученных группах доля детенышей, успешно продемонстрировавших реакцию избегания края, увеличивалась на протяжении всего периода тестирования. Тем не менее доля крысят, выполняющих задание, была выше (p < 0.01) в группе ЭТ-гибрид по сравнению с контролем на Д11 (рис. 2 (в)).

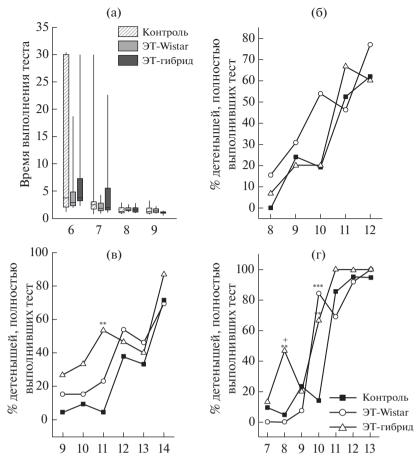


Рис. 2. Неонатальные рефлексы у потомков крыс ОХҮЅ. По оси абсцисс указан день неонатального развития. (а) — рефлекс переворачивания, (б) — тест "выход из круга", (в) — реакция избегания края, (г) — реакция отрицательного геотаксиса. * -p < 0.05, ** -p < 0.01, *** — p < 0.001 по сравнению с контролем. +p < 0.05 по сравнению с ЭТ-Wistar.

Fig. 2. Neonatal reflexes in offspring of OXYS rats. X-axis indicates day of the neonatal development. (a) - righting reflex, (6) - gate test, (B) - cliff avoidance reaction, (r) - negative geotactic reaction. * - p < 0.05, ** - p < 0.01, *** - p < 0.001 vs. Control. * - p < 0.05 vs. ET-Wistar.

Аналогичным образом доля детенышей, успешно показавших реакцию отрицательного геотаксиса, увеличивалась на протяжении всего периода тестирования во всех трех исследуемых группах (рис. 2 (д)). На Д8 доля детенышей, успешно выполнивших это задание, была выше в группе ЭТ-гибрид по сравнению с контролем (p < 0.01) и с группой ЭТ-Wistar (p < 0.05). На Д10 доля детенышей, успешно продемонстрировавших реакцию отрицательного геотаксиса, была выше в обеих ЭТ-группах по сравнению с контролем (p < 0.001 для ЭТ-Wistar и p < 0.01 для ЭТ-гибрид).

Плотность нейронов в префронтальной коре и гиппокампе

Результаты по плотности пирамидных нейронов в префронтальной коре шести-

дневных крысят ОХҮЅ для всех групп представлены на рис. 3. Однофакторный дисперсионный анализ не выявил влияния фактора "генотип приемной матери" на плотность нейронов в префронтальной коре головного мозга (F(2, 8) < 1).

Данные гистологического анализа CA1-, CA2-, CA3- и DG-областей гиппокампа у шестидневных крысят представлены на рис. 4 и 5. Однофакторный дисперсионный анализ показал значительное влияние фактора "генотип приемной матери" на плотность нейронов в CA1- (F (2, 8) = 52.27, p < 0.001), CA3- (F(2, 8) = 36.08, p < 0.001) и DG- (F (2, 8) = 8.17, p < 0.05) областях гиппокампа. В зоне CA2 влияние фактора "генотип приемной матери" было недостоверным (F (2, 8) = 2.07, p > 0.05). Как показало *post hoc* сравнение, плотность нейронов в CA1-области была ни-

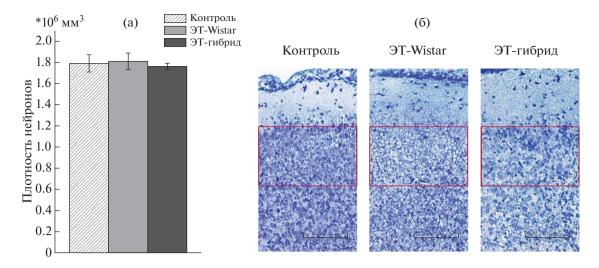


Рис. 3. Плотность пирамидных нейронов в префронтальной коре головного мозга крыс OXYS. (a) — плотность нейронов на мм^3 , (б) — пирамидные нейроны, окрашенные по Нисслю.

Fig. 3. Density of pyramidal neurons in prefrontal cortex in OXYS rats. (a) – density of the neurons per mm³, (6) – Nissl-stained pyramidal neurons.

же у детенышей группы ЭТ-гибрид по сравнению с крысятами группы ЭТ-Wistar (p < 0.001) и контрольной группы (p < 0.001) (рис. 4). В зоне САЗ плотность нейронов была ниже в обеих ЭТ-группах по сравнению с контролем (p < 0.001) и в группе ЭТ-гибрид по сравнению с ЭТ-Wistar (p < 0.05) (рис. 4). В DG-области плотность нейронов была ниже у детенышей группы ЭТ-гибрид по сравнению с ЭТ-Wistar (p < 0.01) и контрольной (p < 0.05) группами (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе изучено влияние материнской среды на раннее развитие у крысят OXYS. Наши результаты показывают, что неонатальное развитие у детенышей OXYS стимулируется в случае применения ЭТ, но эти эффекты зависят от генотипа приемной матери. Крысята ОХҮЅ, рожденные и выкормленные гибридными матерями, имели большую массу тела по сравнению с детенышами, матерями которых были самки OXYS или Wistar. Paнее было показано, что крысы OXYS показывают более медленный набор массы тела в постнатальный период по сравнению с контрольными крысами линии WAG – Wistar Albino Glaxo (Igonina et al., 2018). Исходя из этого, можно предположить, что гибридные приемные матери могут вносить вклад в компенсацию прибавки массы тела у крысят OXYS в неонатальном периоде. Исследования с использованием ЭТ и кросс-фостеринга показали, что генотип приемной матери влияет на массу тела потомства как во время беременности, так и в раннем постнатальном периоде (Kurnianto et al., 1998; Rhees et al., 1999; Lee, Azar, 2010). Степень материнского влияния зависит от физиологических особенностей приемной матери. Наблюдаемое увеличение массы тела потомков крыс OXYS, рожденных и выращенных гибридными самками, может быть связано с особенностями беременности гибридных самок крыс, способствующими росту плода и плаценты (Matthews, Peel, 1991). Гибридные матери оказали наибольшее влияние на увеличение массы тела потомков, что, вероятно, обусловлено усиленным транспортом питательных веществ во время беременности и периода лактации. Об аналогичных эффектах гибридных матерей на прибавку в массе потомков ISIAH, полученных после ЭТ, сообщалось нами ранее (Igonina et al., 2019).

Изменение материнской среды повлияло на такой показатель общего развития, как открытие глаз у потомков. Крысята ОХҮЅ, рожденные и выращенные как самками Wistar, так и гибридными матерями, открывали глаза раньше, чем в контроле. Время открытия глаз — важный показатель общего развития и, в частности, созревания мозга (Yoshii, Sheng, 2003; Heinen et al., 2004). Еще одним важным показателем развития в неонатальном периоде является поддержание зрелой позы, кото-

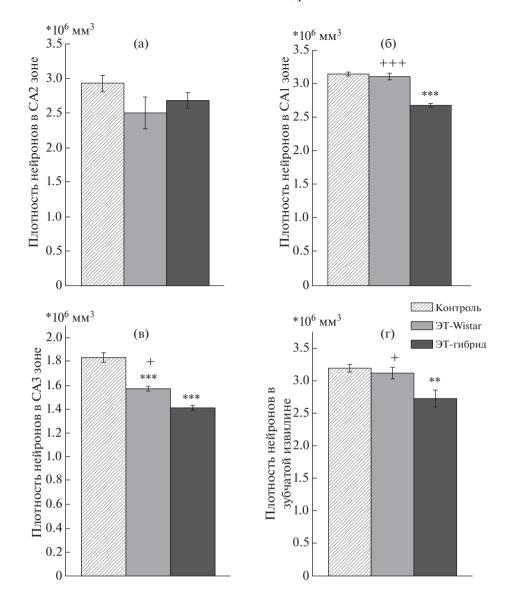


Рис. 4. Плотность пирамидных нейронов в гиппокампе крыс ОХҮЅ. Плотность нейронов в областях СА1, СА2, СА3 и DG представлена в виде числа клеток на мм 3 .** – p < 0.01, *** – p < 0.001 по сравнению с контролем. $^+$ – p < 0.05, $^{+++}$ – p < 0.001 по сравнению с группой ЭТ-гибрид.

Fig. 4. Density of pyramidal neurons in hippocampus in OXYS rats. Neuronal density in CA1, CA2, CA3, and the DG area is presented as cell number per mm³. ** -p < 0.01, *** -p < 0.001 vs. Control. +p < 0.05, +++p < 0.001 vs. ET-hybrid.

рая формировалась быстрее у детенышей OXYS, рожденных и воспитанных матерями Wistar, по сравнению с естественно зачатыми крысятами OXYS, выращенными их биологическими матерями. Зрелость позы демонстрирует как уровень развития мышц, так и их нервно-мышечной иннервации, а также степень развития мозговых центров, участвующих в регуляции локомоции (Geisler et al., 1993).

Кроме того, материнская среда влияла на развитие некоторых рефлексов в течение первых трех недель постнатальной жизни у детенышей ОХҮЅ. Крысята ОХҮЅ, рожденные и выращенные гибридными самками, раньше демонстрируют зрелость реакции избегания края и отрицательного геотаксиса по сравнению с контрольной группой. Аналогичным образом детеныши, рожденные и выращенные самками Wistar, уже на Д10 показывали

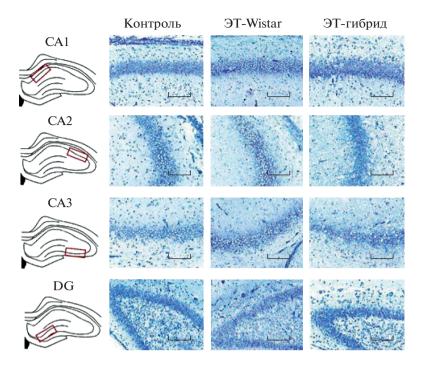


Рис. 5. Окрашенные по Нисслю пирамидные нейроны в гиппокампе крыс ОХҮЅ. На изображениях показаны окрашенные по Нисслю пирамидные нейроны в CA1-, CA2-, CA3- и DG-областях гиппокампа. Увеличение 100×; Шкала = 100 мкм.

Fig. 5. Nissl-stained pyramidal neurons in hippocampus in OXYS rats. The images show Nissl-stained pyramidal neurons in CA1, CA2, CA3, and the DG area of hippocampus. Magnification, $100 \times$; bar = $100 \,\mu m$.

сформированную реакцию отрицательного геотаксиса по сравнению с контрольными животными. Изученные рефлексы считаются индикаторами общего развития и созревания головного мозга, поскольку их выполнение связано с вовлечением различных областей центральной нервной системы (Gouveia et al., 2019). Ранее было показано, что развитие рефлексов у интактных детенышей ОХҮЅ замедлено по сравнению с крысятами контрольной линии WAG (Igonina et al., 2018). Настоящее исследование демонстрирует ускоренное созревание некоторых рефлексов у крысят ОХҮS, рожденных и воспитанных суррогатными матерями, как гибридными, так и Wistar, по сравнению с крысятами, рожденными и воспитанными собственными биологическими матерями.

Как известно, беременность и ранний постнатальный период считаются критическими в онтогенезе млекопитающих из-за быстрой пролиферации клеток, активного развития органов и физиологических систем. Замена материнской среды является одним из возможных факторов, влияющих на программу развития. Эксперименты по ЭТ, проведенные на крысах с гипертонией, подтвер-

ждают важность материнской среды как во время беременности, так и в период лактации. Было показано, что гипертензия и повреждение почек, которые характерны для линии SS (Dahl salt-sensitive rats), могут быть ослаблены или замедлены у крысят, рожденных в результате применения ЭТ (Kubisch et al... 1998; 1999). Исследователи пришли к выводу, что внутриматочная материнская среда, но не лактация играет решающую роль для проявления генетической предрасположенности к гипертензии у полученного потомства крыс SS. Точно так же ЭТ от крыс со спонтанной гипертензией SHR самкам нормотензивной линии WKY привел к значительному снижению артериального давления у потомков (Lee, Azar, 2010). В другом исследовании было показано, что материнский внутриутробный и лактационный периоды у SHR критически важны для повышения артериального давления у крыс этой линии, но не влияют на данный параметр у линии WKY (Di Nicolantonio et al., 2006). В нашем предыдущем исследовании было продемонстрировано небольшое ускорение созревания неонатальных рефлексов у потомства гипертензивной линии ISIAH, рожденного и воспитанного гибридными крысами, что, вероятно, также было связано с материнскими эффектами (Igonina et al., 2019).

Помимо материнской среды, сама процедура ЭТ также может влиять на развитие потомства, поскольку связана с хирургическим вмешательством. Ранее было показано, что хирургическое вмешательство, используемое для ЭТ у мышей, оказывает долгосрочное влияние на поведение потомства (Lerch et al., 2016). Более того, самки, рожденные после ЭТ, имели более низкую массу тела и повышенный уровень кортикостерона по сравнению с самцами, что свидетельствует о гендерных различиях (Lerch et al., 2016). Однако в нашем недавнем исследовании на крысах ISIAH было показано, что как ложная операция, имитирующая ЭТ, так и сам ЭТ несколько ускоряет раннее постнатальное развитие потомства (Igonina et al., 2019; Rozhkova et al., 2020). Эти результаты могут указывать на то, что хирургическое вмешательство на ранних сроках беременности, связанное с ЭТ, не является негативным фактором для развития нервной системы потомства. Представленные в данной работе результаты на крысах ОХҮЅ подтверждают эти более ранние наблюдения.

Наши результаты показали значительное влияние ЭТ на плотность нейронов в неонатальном периоде OXYS в CA1-, CA3- и DGобластях гиппокампа, но не в СА2-области и не в префронтальной коре. Пирамидный слой гиппокампа у новорожденных крысят состоит из 6–10 рядов нейронов, с возрастом он истончается, а у взрослых крыс он состоит из 2-3 рядов (Altman, Bayer, 1990). После рождения наблюдается рост числа не только пирамидных клеток, но и гранулярных нейронов в DG-области гиппокампа (Altman, Bayer, 1975). Число нейронов в гиппокампе удваивается в течение первой постнатальной недели, а затем снижается на 70% в течение второй недели жизни, одновременно с глиогенезом, и, следовательно, плотность нейронов снижается (Bandeira et al., 2009). Обнаруженное в нашем исследовании снижение плотности в CA1-, CA3- и DG-областях гиппокампа, сопровождающееся более активным общим развитием у детенышей ОХҮS, рожденных и воспитанных гибридными самками, является показателем ускоренного созревания мозга. Также более активное развитие мозга было обнаружено у крысят OXYS, рожденных и воспитанных самками Wistar, поскольку эти детеныши имели меньшую

плотность нейронов в САЗ-области гиппокампа и упомянутое выше ускорение созревания рефлексов. Таким образом, потомство, рожденное после ЭТ, характеризуется более быстрым созреванием гиппокампа в обоих случаях, но в основном при использовании гибридных приемных матерей, что подтверждает роль материнского фактора в механизмах программирования развития нервной системы в неонатальном онтогенезе.

Гиппокамп является одной из ключевых областей мозга, участвующих в когнитивной функции. Эта структура особенно подвержена влиянию стресса в раннем онтогенезе; неблагоприятный опыт в раннем возрасте влияет на регуляцию нейрогенеза в DG-зоне (Mirescu et al., 2004). Процедуру ЭТ, использованную в данном исследовании, можно рассматривать как стрессовое воздействие на мать, в частности, из-за хирургического вмешательства.

В нашем предыдущем исследовании на крысах ISIAH было показано, что хирургическое вмешательство, используемое для ЭТ, приводило к повышению уровня кортикостерона у беременных самок и оказало долгосрочное влияние на гиппокамп у взрослого потомства (Rozhkova et al., 2020). В другом исследовании, проведенном на крысах OXYS, изучали эффекты хирургического вмешательства на ранних сроках беременности, и было продемонстрировано снижение плотности пирамидных нейронов в префронтальной коре, СА1- и СА3-областях гиппокампа, а также повышение уровня нейрогенеза в DG у взрослых потомков (Рожкова и др., 2019). Все эти наблюдения указывают на то, что обнаруженные нами изменения мозга потомков, рожденных в результате ЭТ, могут быть связаны с пренатальным хирургическим стрессом.

С другой стороны, собственно материнская среда также может оказывать значительное влияние на развитие гиппокампа. Известно, что уровень материнской заботы влияет на число нейронов в гиппокампе крыс (Liu et al., 2000; Weaver et al., 2002; Bredy et al., 2003). Крысята из потомства тех матерей, которые демонстрируют высокую материнскую заботу, в частности, увеличенную частоту облизывания и вскармливания в течение первой недели после рождения, имели повышенную экспрессию рецептора NMDA и нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), усиление холинергической иннер-

вации гиппокампа и обладали лучшей памятью и высокими способностями к пространственному обучению (Liu et al., 2000).

В другой работе было показано, что повышенная забота матери может влиять на пролиферацию клеток и сохранение нейронов в гиппокампе у крыс (Bredy et al., 2003). У потомков из выводков матерей с низким уровнем заботы, напротив, было показано повышение уровня апоптоза и потенциальной потери нейронов в гиппокампе (Weaver et al., 2002).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании потомство крыс линии ОХҮЅ подвергали воздействию комбинации двух факторов, сопряженных с ЭТ: дородовому хирургическому стрессу и замене материнской среды. Оба фактора могут быть причиной обнаруженных в данном исследовании изменений в скорости созревания рефлексов и снижения плотности нейронов в различных областях гиппокампа у потомков, которые можно характеризовать как ускорение развития центральной нервной системы в неонатальном онтогенезе.

Крысы ОХҮЅ обладают характерным фенотипом преждевременного старения с ранним проявлением возрастных нарушений, включая патологию, подобную болезни Альцгеймера (Korbolina et al., 2016). У крыс этой линии в раннем возрасте была обнаружена задержка развития гиппокампа, которая может оказывать долгосрочное воздействие, тем самым способствуя нейродегенеративным процессам в более возрасте (Igonina et al., 2018; Rudnitskaya et al., 2019). Результаты настоящего исследования показали, что замена матерей OXYS на суррогатных привела к более быстрому развитию рефлексов и созреванию гиппокампа у потомства. Наши данные свидетельствуют о том, что задержка в развитии нервной системы в раннем постнатальном периоде, характерная для крыс OXYS, определяется, по крайней мере частично, влиянием материнской среды.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 20-015-00162, бюджетного проекта ФИЦ ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0015 с использованием обору-

дования ЦКП "Центр генетических ресурсов лабораторных животных" ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Раннева С.В., Брусенцев Е.Ю., Игонина Т.Н., Рагаева Д.С., Рожкова И.Н., Ершов Н.И., Левинсон А.Л., Амстиславский С.Я. Влияние культивирования эмбрионов на онтогенез потомства у млекопитающих. Онтогенез. 2020. 51 (6): 417—439.

https://doi.org/10.31857/S0475145020060075

Рожкова И.Н., Брусенцев Е.Ю., Игонина Т.Н., Рагаева Д.С., Петрова О.М., Напримеров В.А., Тихонова М.А., Амстиславская Т.Г., Амстиславский С.Я. Отсроченные эффекты хирургического воздействия в период ранней беременности на развитие мозга у крыс линии ОХҮЅ. ЖВНД. 2019. 69 (5): 618—628.

https://doi.org/10.1134/S0044467719050101

Aljahdali A., Airina R.K.R.I., Velazquez M.A., Sheth B., Wallen K., Osmond C., Watkins A.J., Eckert J.J., Smyth N.R., Fleming T.P. The duration of embryo culture after mouse IVF differentially affects cardiovascular and metabolic health in male offspring. Hum. Reprod. 2020. 35 (11): 2497–2514. https://doi.org/10.1093/humrep/deaa205

Altman J., Bayer S.A. Prolonged sojourn of developing pyramidal cells in the intermediate zone of the hippocampus and their settling in the stratum pyramidale. J. Compar. Neurol. 1990. 301 (3): 343—364.

https://doi.org/10.1002/cne.903010303

Altman J., Bayer S. Postnatal development of the hippocampal dentate gyrus under normal and experimental conditions. The hippocampus. Springer US. 1975. P. 95–122.

https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2976-3_5

Bandeira F., Lent R., Herculano-Houzel S. Changing numbers of neuronal and non-neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. 106 (33): 14108–14113. https://doi.org/10.1073/pnas.0804650106

Barker D.J. The origins of the developmental origins theory. J. Intern. Med. 2007. 261 (5): 412–417. https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x

Berntsen S., Soderstrom-Anttila V., Wennerholm U.B., Laivuori H., Loft A., Oldereid N.B., Romundstad L.B., Bergh C., Pinborg A. The health of children conceived by ART: "the chicken or the egg?" Hum. Reprod. Update. 2019. 25 (2): 137–158. https://doi.org/10.1093/humupd/dmz001

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.
- https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2003.02965.x
- Burrell C., Edozien L.C. Surrogacy in modern obstetric practice. Semin. Fetal. Neonatal. Med. 2014. 19 (5): 272–278.
 - https://doi.org/10.1016/j.siny.2014.08.004
- Ceelen M., van Weissenbruch M.M., Prein J., Smit J.J., Vermeiden J.P.W., Spreeuwenberg M., van Leeuwen F.E., Delemarre-van de Waal H.A. Growth during infancy and early childhood in relation to blood pressure and body fat measures at age 8–18 years of IVF children and spontaneously conceived controls born to subfertile parents. Hum. Reprod. 2009. 24: 2788–2795.
 - https://doi.org/10.1093/humrep/dep273
- Chiossi G., Costantine M.M., Tamayo E., Hankins G.D., Saade G.R., Longo M. Fetal programming of blood pressure in a transgenic mouse model of altered intrauterine environment. J. Physiol. 2016. 594 (23): 7015–7025.
 - https://doi.org/10.1113/JP272602
- Dayan N., Lanes A., Walker M.C., Spitzer K.A., Laskin C.A. Effect of chronic hypertension on assisted pregnancy outcomes: A population-based study in Ontario, Canada. Fertil. Steril. 2016. 105: 1003–1009.
 - https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.039
- Di Nicolantonio R., Koutsis K., Westcott K.T., Wlodek M.E. Relative contribution of the prenatal versus postnatal period on development of hypertension and growth rate of the spontaneously hypertensive rat. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2006. 33: 9–16.
 - https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04317.x
- Ecker D.J., Stein P., Xu Z., Williams C.J., Kopf G.S., Bilker W.B., Abel T., Schultz R.M. Long-term effects of culture of preimplantation mouse embryos on behavior. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. 101 (6): 1595–1600. https://doi.org/10.1073/pnas.0306846101
- Fleming T.P., Velazquez M.A., Eckert J.J. Embryos, DOHaD and David Barker. J. Dev. Orig. Health. Dis. 2015. 6: 377–383.
 - https://doi.org/10.1017/S2040174415001105
- Geisler H.C., Westerga J., Gramsbergen A. Development of posture in the rat. Act. Neurobiol. Exp. 1993. 53 (4): 517–524.
- Gerlinskaya L.A., Litvinova E.A., Kontsevaya G.V., Feofanova N.A., Achasova K.M., Anisimova M.V., Maslennikova S.O., Zolotykh M.A., Moshkin Y.M., Moshkin M.P. Phenotypic variations in transferred progeny due to genotype of surrogate mother. Mol. Hum. Reprod. 2019. 25 (2): 88–99. https://doi.org/10.1093/molehr/gay052
- Gleicher N., Kushnir V.A., Weghofer A., Barad D.H. The "graying" of infertility services: An impending revolution nobody is ready for. Reprod. Biol.

- Endocrinol. 2014. 12: 1–12. https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-63
- Gouveia H.J.C.B., Manhaes-de-Castro R., Costa-de-Santana B.J.R., Mendonca C.R., Albuquerque G., Visco D.B., Lacerda D.C., Toscano A.E. Maternal exposure to busulfan reduces the cell number in the somatosensory cortex associated with delayed somatic and reflex maturation in neonatal rats. J. Chem. Neuroanat. 2020. 103: 101710. https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2019.101710
- Heinen K., Bosman L.W., Spijker S., van Pelt J., Smit A.B., Voorn P., Baker R.E., Brussaard A.B. GABAA receptor maturation in relation to eye opening in the rat visual cortex. Neuroscience. 2004. 124 (1): 161–171.
 - https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.11.004
- Igonina T.N., Ragaeva D.S., Petrova O.M., Rozkova I.N., Brusentsev E.Y., Amstislavsky S.Y. Effects of in vitro culture at the preimplantation embryo stage on early development and hypertension in ISIAH rats. Hypertens. Pregnancy. 2019. 38 (4): 208–216. https://doi.org/10.1080/10641955.2019.1647232
- Igonina T.N., Ragaeva D.S., Tikhonova M.A., Petrova O.M., Herbeck Y.E., Rozhkova I.N., Amstislavskaya T.G., Amstislavsky S.Y. Neurodevelopment and behavior in neonatal OXYS rats with genetically determined accelerated senescence. Brain Res. 2018. 1681: 75–84. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.12.021
- Korbolina E.E., Zhdankina A.A., Fursova A.Z., Kozhevnikova O.S., Kolosova N.G. Genes of susceptibility to early neurodegenerative changes in the rat retina and brain: analysis by means of congenic strains. BMC Genetics. 2016. 17: 153. https://doi.org/10.1186/s12863-016-0461-7
- Kubisch H.M., Gomez-Sanchez E.P. Embryo transfer in the rat as a tool to determine genetic components of the gestational environment. Lab. Anim. Sci. 1999. 49: 90–94.
- Kubisch H.M., Mathialagan S., Gomez-Sanchez E.P. Modulation of blood pressure in the Dahl SS/Jr rat by embryo transfer. Hypertension. 1998. 31: 540–545.
 - https://doi.org/10.1161/01.hyp.31.1.540
- Kurnianto E., Shinjo A., Suga D. Prenatal and postnatal maternal effects on bodyweight in cross-fostering experiment on two subspecies of mice. Exp. Anim. 1998. 47: 97–103. https://doi.org/10.1538/expanim.47.97
- La Rovere M., Franzago M., Stuppia L. Epigenetics and neurological disorders in ART. Int. J. Mol. Sci. 2019. 20: 4169. https://doi.org/10.3390/ijms20174169
- Lee J.Y., Azar S.H. Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rat blood pressure after embryo transfer into different wombs and cross-suckling.

- Exp. Boil. Med. 2010. 235 (11): 1375–1384. https://doi.org/10.1258/ebm.2010.010081
- Lerch S., Tolksdorf G., Schutz P., et al. Effects of embryo transfer on emotional behaviors in C57BL/6 mice. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2016. 55: 510–519.
- Liu D., Diorio J., Day J.C., Francis D.D., Meaney M.J. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. 2000. Nat. Neurosci. 3: 799–806. https://doi.org/10.1038/77702
- Mainigi M., Rosenzweig J.M., Lei J., Mensah V., Thomaier L., Talbot Jr C.C., Olalere D., Ord T., Rozzah R., Johnston M.V., Burd I. Peri-implantation hormonal milieu: elucidating mechanisms of adverse neurodevelopmental outcomes. Reprod. Sci. 2016. 23 (6): 785–794. https://doi.org/10.1177/1933719115618280
- Markus E.J., Petit T.L. Neocortical synaptogenesis, aging, and behavior: lifespan development in the motor-sensory system of the rat. Exp. Neurol. 1987. 96 (2): 262–278. https://doi.org/10.1016/0014-4886(87)90045-8
- Matthews J., Peel S. The uterine response in pregnant inbred and non-inbred rats. J. Anat. 1991. 178: 101–113.
- Meister T.A., Rimoldi S.F., Soria R., von Arx R., Messerli F.H., Sartori C., et al. Association of assisted reproductive technologies with arterial hypertension during adolescence. J. Am. Coll. Cardiol. 2018. 72: 1267–1274. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.06.060
- Mirescu C., Peters J.D., Gould E. Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. Nat. Neurosci. 2004. 7 (8): 841–846. https://doi.org/10.1038/nn1290
- Nguyen A.T., Armstrong E.A., Yager J.Y. Neurodevelopmental reflex testing in neonatal rat pups. JoVE. 2017. 122: e55261. https://doi.org/10.3791/55261
- Pontesilli M., Painter R.C., Grooten I.J., Van Der Post J.A., Mol B.W., Vrijkotte T.G.M., Repping S., Roseboom T.J. Subfertility and assisted reproduction techniques are associated with poorer cardiometabolic profiles in childhood. Reprod. Biomed. Online. 2015. 30: 258–267. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.11.006
- Ramos-Ibeas P., Heras S., Gomez-Redondo I., Planells B., Fernandez-Gonzalez R., Pericuesta E., Laguna-Barraza R., Perez-Cerezales S., Gutierrez-Adan A. Embryo responses to stress induced by assisted reproductive technologies. Mol. Reprod. Dev. 2019. 86 (10): 1292–1306. https://doi.org/10.1002/mrd.23119
- Rhees B.K., Ernst C.A., Miao C.H., Atchley W.R. Uterine and postnatal maternal effects in mice selected for differential rate of early development. Genet-

- ics. 1999. 153: 905–917. https://doi.org/10.1093/genetics/153.2.905
- Rivera R.M., Stein P., Weaver J.R., Mager J., Schultz R.M., Bartolomei M.S. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. Hum. Mol. Genet. 2008. 17 (1): 1–14. https://doi.org/10.1093/hmg/ddm280
- Rozhkova I., Brusentsev E., Igonina T., Ragaeva D., Petrova O., Tikhonova M., Akopyan A., Amstislavskaya T., Antonov Ye., Amstislavsky S. Sham surgical embryo transfer affects offspring neurodevelopment and manifestation of hypertensive phenotype in ISIAH rats. Hypertens. Pregnancy. 2020. 39 (3): 283–294. https://doi.org/10.1080/10641955.2020.1762894
- Rudnitskaya E.A., Kozlova T.A., Burnyasheva A.O., Kolosova N.G., Stefanova N.A. Alterations of hippocampal neurogenesis during development of Alzheimer's disease-like pathology in OXYS rats. Exp. Gerontol. 2019. 115: 32–45. https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.11.008
- Rumbold A.R., Moore V.M., Whitrow M.J., Oswald T.K., Moran L.J., Fernandez R.C., et al. The impact of specific fertility treatments on cognitive development in childhood and adolescence: a systematic review. Hum. Reprod. 2017. 32: 1489–1507. https://doi.org/10.1093/humrep/dex085
- Scherrer U., Rexhaj E., Allemann Y., Sartori C., Rimoldi S.F. Cardiovascular dysfunction in children conceived by assisted reproductive technologies. Eur. Heart. J. 2015. 36: 1583–1589. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv145
- Sunde A. Embryo culture and phenotype of the off-spring. In Vitro Fertilization. 2019. 877–889. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43011-9_74
- Telegina D.V., Suvorov G.K., Kozhevnikova O.S., Kolosova N.G. Mechanisms of neuronal death in the cerebral cortex during aging and development of Alzheimer's disease-like pathology in rats. Int. J. Mol. Sci. 2019. 20 (22): E5632. https://doi.org/10.3390/ijms20225632
- Weaver I.C., Grant R.J., Meaney M.J. Maternal behavior regulates long-term hippocampal expression of BAX and apoptosis in the offspring. J. Neurochem. 2002. 82 (4): 998–1002. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01054.x
- Yoshii A., Sheng M.H., Constantine-Paton M. Eye opening induces a rapid dendritic localization of PSD-95 in central visual neurons. Proc. Nat. Acad. Sci. 2003. 100 (3): 1334–1339. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv145

MATERNAL INFLUENCE ON THE EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT IN OXYS RATS

T. N. Igonina^a, O. M. Voronkova^a, D. S. Ragaeva^a, E. Yu. Brusentsev^a, I. N. Rozhkova^a, N. G. Kolosova^a, S. Ya. Amstislavsky^{a, #}

^aInstitute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Sciences, Siberian Division, Novosibirsk, Russia [#]e-mail: amstis@vandex.ru

Maternal environment is critically important for offspring health. Mother can contribute to offspring development during gestation and suckling periods. Variations in maternal environment may affect the developing brain, hippocampus in particular. This study addresses relative contribution of the maternal environment to neonatal growth and neurodevelopment, as well as to the neuronal density in hippocampus and prefrontal cortex in senescence-accelerated OXYS rats. Preimplantation embryos were transferred from OXYS rats to different recipient dams; either Wistar rats or F1 hybrids of the Sprague-Dawley and tame gray rats. Our results showed that neonatal development in OXYS offspring was accelerated if embryo transfer was performed, but the effects depended on the genotype of foster mother. OXYS pups born and fostered by the hybrid mothers were heavier, opened their eves earlier, and demonstrated faster neurodevelopment during neonatal period, as was confirmed by higher percentage of successfully performed cliff avoidance and negative geotactic reactions. Moreover, these pups exhibited a reduced neuronal density in CA1, CA3, and the DG hippocampal areas as compared with naturally born OXYS rats. OXYS rat pups born and fostered by Wistar mothers showed faster posture maturation, opened their eyes earlier and exhibited lower neuronal density in CA3 area of hippocampus compared with controls. Moreover, these pups demonstrated a higher percentage of successfully performed negative geotactic reaction on day 10 of their life. To conclude, the replacement of senescence-accelerated OXYS mothers with any nonsenescence-accelerated recipient mothers led to faster neurodevelopment and hippocampus maturation in offspring.

Keywords: OXYS rats, maternal environment, embryo transfer, offspring, neurodevelopment, prefrontal cortex, hippocampus