

## СОДЕРЖАНИЕ

---

### Обзорные статьи

- Фармакологические мишени и механизм действия антипсихотических средств в рамках нейрохимической теории патогенеза шизофрении  
*К. Ю. Калитин, А. А. Спасов, О. Ю. Муха, Г. В. Придворов, В. А. Лунатов* 927
- 

### Экспериментальные статьи

- Фоновые показатели мощности ЭЭГ как корреляты вербальных и невербальных компонентов креативности и интеллекта  
*О. М. Разумникова* 955
- Влияние острого плавательного стресса на поведенческие и нейрохимические эффекты производного пиразоло[С]пиридина ГИЖ-72 и диазепама у мышей BALB/c и C57BL/6  
*Н. В. Кудряшов, П. Л. Наплёкова, А. В. Волкова, К. А. Касабов, В. Б. Наркевич, В. С. Кудрин, Т. С. Калинина, Т. А. Воронина* 973
- Сравнительная оценка влияния основных медиаторов острофазового ответа (ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6) на паттерн дыхания и выживаемость крыс при острой нарастающей гипоксии  
*Ж. А. Донина, Е. В. Баранова, Н. П. Александрова* 996
- Адаптивные реакции практически здоровых мужчин на пассивную гипертермию сопровождаются повышением уровня ирисина в крови  
*О. С. Глазачев, С. Ю. Крыжановская, Е. Н. Дудник, М. А. Запара, В. Г. Самарцева, А. Д. Лыфенко* 1007
- Метаболизм L-аргинина у гипертензивных крыс при угнетении аргиназы L-норвалином  
*М. А. Гилинский, Ю. К. Политько, А. Л. Маркель* 1018
- Влияние ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 на сокращения мышц трахеи и бронхов крысы  
*Л. Е. Блажевич, О. Е. Смирнова, В. М. Кирилина, А. И. Кривченко* 1027
- Механизмы ингибирования АМРА рецепторов диминазеном  
*А. С. Жигулин, М. Ю. Дронь, О. И. Барыгин* 1039
- Показатели количественной электроэнцефалографии у детей с острым гнойным менингитом  
*В. Б. Войтенков, А. А. Вильниц, Н. В. Скрипченко, Е. В. Екушева, Н. А. Савельева, А. В. Климкин, Н. В. Марченко, М. А. Бедова* 1049
- 
-

# CONTENTS

---

## Reviews

- Pharmacological Targets and the Mechanism of Action of Antipsychotic Agents  
in the Framework of the Neurochemical Theory of the Pathogenesis  
of Schizophrenia  
*K. Y. Kalitin, A. A. Spasov, O. Y. Mukha, G. V. Pridvorov, and V. A. Lipatov* 927
- 

## Experimental Articles

- EEG Correlates of Verbal and Non-Verbal Components of Creativity and Intelligence  
*O. M. Razumnikova* 955
- The Influence of Acute Swimming Stress on the Behavioral and Neurochemical  
Effects of Pyrazole[C]pyridine Derivative GIZh-72 and Diazepam  
in BALB/c and C57BL/6 Mice  
*N. V. Kudryashov, P. L. Naplekova, A. V. Volkova, K. A. Kasabov,  
V. B. Narkevich, V. S. Kudrin, T. S. Kalinina, and T. A. Voronina* 973
- Comparative Assessment of the Effect of the Main Mediators of Acute Phase  
Response (IL-1, TNF- $\alpha$  and IL-6) on Breathing Pattern and Survival in Rats  
with Acute Progressive Hypoxia  
*Zh. A. Donina, E. V. Baranova, and N. P. Aleksandrova* 996
- Adaptive Reactions of Practically Healthy Men to Passive Hyperthermia  
are Accompanied by an Increase in the Level of Irisin in the Blood  
*O. S. Glazachev, S. Yu. Kryzhanovskaya, E. N. Dudnik, M. A. Zapara,  
V. G. Samarzeva, and A. D. Lyfenko* 1007
- Arginine Metabolism in the Hypertensive Rats under Arginase Inhibition  
by Norvaline  
*M. A. Gilisky, Yu. K. Polityko, and A. L. Markel* 1018
- Influence of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 on Contraction of the Muscles  
of the Trachea and Bronchi of the Rat  
*L. E. Blazhevich, O. E. Smirnova, V. M. Kirilina, and A. I. Krivchenko* 1027
- Mechanisms of AMPA-Receptor Inhibition by Diminazene  
*A. S. Zhigulin, M. Y. Dron, and O. I. Barygin* 1039
- Quantitative Electroencephalography in Children with Acute Bacterial Meningitis  
*V. B. Voytenkov, A. A. Vilnitz, N. V. Skripchenko, E. V. Ekusheva, N. A. Savelyeva,  
A. V. Klimkin, N. V. Marchenko, and M. A. Bedova* 1049
- 
-

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МИШЕНИ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ  
АНТИПСИХОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ В РАМКАХ НЕЙРОХИМИЧЕСКОЙ  
ТЕОРИИ ПАТОГЕНЕЗА ШИЗОФРЕНИИ**

© 2021 г. К. Ю. Калитин<sup>1, 2</sup>, А. А. Спасов<sup>1, 2</sup>, О. Ю. Муха<sup>1, \*</sup>,  
Г. В. Придворов<sup>1, 2</sup>, В. А. Липатов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup>Научный центр инновационных лекарственных средств ВолГМУ, Волгоград, Россия

\*E-mail: olay.myha14@gmail.com

Поступила в редакцию 27.04.2021 г.

После доработки 22.05.2021 г.

Принята к публикации 26.05.2021 г.

Шизофрения характеризуется нейрохимическими, морфологическими, биоэлектрическими и поведенческими изменениями в организме, системная совокупность которых образует констелляцию взаимоопосредующих патофизиологических теорий. В обзоре рассматривается нейрохимическая теория патогенеза шизофрении через призму нейropsихофармакологии с целью объяснения и понимания механизма действия антипсихотических средств. Описаны взаимосвязи нейрохимических процессов с генетическими и иммунологическими предпосылками шизофрении. Представлены актуальные данные о лигандах, рецепторных мишенях и вторичных мессенджерах, которые вовлечены в патогенез шизофрении и психозов, с подробным объяснением их физиологической роли и связей на нейрохимическом, анатомическом, функциональном и эффекторном уровнях коннективной организации головного мозга.

*Ключевые слова:* шизофрения, антипсихотические препараты, нейролептики, нейropsихофармакология, дофамин, серотонин, глутамат, цитокины, нейропептиды

DOI: 10.31857/S0869813921080070

В литературе описаны многочисленные теории и гипотезы развития шизофрении с различным акцентом на биологические, психологические и социальные факторы [1]. Каждая из теорий сосредоточена на отдельных аспектах патогенеза, при этом изолированное их рассмотрение часто приводит к утрате важных взаимосвязей. В настоящем обзоре получает дальнейшее развитие комплексный подход, предполагающий инкорпорирование элементов генетической, иммунной, дизонтогенетической и прочих теорий в суперсистему нейрохимических процессов, которая наилучшим образом позволяет соотнести фармакодинамику антипсихотических веществ с патогенезом шизофрении.

Для шизофрении характерна мультифакторная полилокусная (полигенетическая) модель наследования с преобладанием рецессивных генов [2]. Различные генетические варианты, эпистаз и уровень экспрессии [3] объясняют вариабельность клинических картин и типов течения шизофрении [4].

Учитывая полиморфную природу шизофрении, высказано предположение о необходимости разделения ее на различные феноменологические компоненты, на

которые можно было бы воздействовать независимо с помощью препаратов со специфическим фармакологическим профилем [5].

В настоящее время для лечения шизофрении применяется комплексная терапия, состоящая из фармакологического и социально-психологического компонентов. Первый из них строится на применении двух групп антипсихотических лекарственных препаратов — типичных и атипичных нейролептиков.

Согласно классическим представлениям, механизм действия типичных нейролептиков состоит главным образом в блокировании дофаминовых  $D_2$ -рецепторов, с чем связан их антипсихотический эффект, направленный на устранение преимущественно позитивных симптомов заболевания [6]. Однако их применение ведет к развитию экстрапирамидных расстройств, гиперпролактинемии, выраженного седативного эффекта, ожирения, метаболических нарушений и пр. [7]. Кроме того, может наблюдаться обострение когнитивных и негативных симптомов шизофрении.

Атипичные нейролептики реже вызывают проявление побочных эффектов со стороны экстрапирамидной системы за счет более избирательного воздействия на дофаминергические рецепторы и дополнительного механизма, связанного с  $5-HT_{2A}$ - и  $5-HT_{1A}$ -рецепторами, что также приводит к снижению выраженности негативной симптоматики и антидепрессивному эффекту [8], но при этом повышается риск развития ожирения, дислипидемии, поражения печени, сахарного диабета 2 типа [9], болезней сердечно-сосудистой системы [10].

Фармакодинамика нейролептиков не ограничивается взаимодействием с указанными выше дофаминовыми и серотониновыми рецепторами. Антипсихотическое действие имеет обширный и многогранный спектр проявлений, поскольку большинство антипсихотических препаратов обладает аффинитетом сразу к нескольким типам рецепторов, включая глутаматные, ацетилхолиновые, ГАМК, норадреналиновые и другие [11, 12].

Основная цель настоящего обзора заключается в систематическом представлении современных данных о лигандах, рецепторных мишенях и вторичных мессенджерах, которые вовлечены в патогенез шизофрении и психозов, с подробным рассмотрением их физиологической роли и связей на нейрохимическом, анатомическом, функциональном и эффекторном уровне коннективной организации. В отличие от опубликованных за последнее время русскоязычных работ по фармакотерапии шизофрении, усилия авторов были направлены не столько на клинические аспекты применения нейролептиков, сколько на фундаментальные нейробиологические механизмы, сущностная характеристика которых раскрывается в первую очередь на нейрохимическом уровне взаимодействия. Обзор интегрирует новые экспериментальные данные в систему классических теорий и воззрений, тем самым расширяя возможности для понимания перспектив дальнейшей разработки антипсихотических препаратов с более избирательным антипсихотическим действием и менее выраженными побочными эффектами.

## ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Дофаминергическая теория шизофрении (дофаминовая гипотеза психозов) является биохимической моделью, которая связывает позитивные симптомы шизофрении с гиперактивной дофаминергической передачей сигнала в ЦНС [13]. Модель предложена в 1960-х годах, когда было обнаружено, что антипсихотический препарат хлорпромазин эффективен в лечении позитивных симптомов шизофрении. Как и хлорпромазин, большинство типичных нейролептиков обладают антагонистическим действием по отношению к дофаминовым рецепторам [14]. Имеется высокая корреляция между антипсихотическими эффектами типичных нейролептиков и степенью их антагонизма к  $D_2$ -рецепторам.

Предполагается, что гиперактивация G-белок-сопряженных D<sub>2</sub>-рецепторов является одним из главных факторов глобальной нейросинаптической дисрегуляции при шизофрении [15, 16]. У больных наблюдается усиление субкортикальной дофаминовой передачи и повышение секреции дофамина в полосатом теле [17, 18].

Тем не менее, дисфункция дофаминергической передачи в полосатом теле не объясняет развитие негативных и когнитивных симптомов. Позднее было установлено, что негативные симптомы и когнитивный дефицит обусловлены снижением дофаминергической передачи в мезокортикальном тракте [19]. Эти данные привели к пересмотру первоначальной теории подкорковой гипердофаминергии, включив в ее состав корковую гиподофаминергию.

Также в рамках данной теории было выделено несколько опосредующих механизмов, предполагающих вовлеченность глутаматергической системы [20].

Кроме того, при полногеномном поиске ассоциаций выявлены многочисленные генетические дефекты, которые обуславливают изменения в структуре D<sub>2</sub>-рецепторов, что, в свою очередь, связывает дофаминовую теорию с генетической [21, 22].

К семейству D<sub>2</sub>-подобных рецепторов относятся подтипы D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> и D<sub>4</sub>, которые обладают близкими фармакологическими свойствами. D<sub>5</sub> дофаминовые рецепторы относятся к D<sub>1</sub>-подобному семейству рецепторов [23].

Большое внимание в последнее время уделяется D<sub>3</sub>-рецепторам, которые детерминируют клиническую эффективность различных антипсихотиков [24] и являются перспективной мишенью с точки зрения лечения негативных симптомов. D<sub>3</sub>-рецепторы контролируют кортикальные проекции в гиппокамп, их частичный агонист карипразин влияет на гамма-активность срезов гиппокампа, это допускает предположить, что данный тип рецепторов позволяет опосредованно корректировать гипофункцию NMDA [25].

Дофаминовые рецепторы D<sub>4</sub> также вовлечены в патогенез шизофрении и механизм действия некоторых атипичных антипсихотических препаратов, например, луразидона, частично объясняя его положительное действие в отношении когнитивных нарушений [26]. Более подробная информация о дофаминовых рецепторах изложена в табл. 1.

В настоящее время интерес фармакологов вышел за пределы D<sub>1</sub>–D<sub>2</sub>-подтипов дофаминовых рецепторов, наблюдается существенный прогресс в синтезе новых лигандов (агонистов, антагонистов и частичных агонистов) с функциональной селективностью, активно изучается возможность воздействия на каскад пострецепторной сигнальной трансдукции.

## ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Глутамат является одним из основных возбуждающих нейромедиаторов в головном мозге, глутаматергические нейроны образуют проекции в кору, лимбическую систему и таламус [68]. Глутамат выполняет ключевую роль в синаптической пластичности, снижение глутаматергической передачи приводит к нарушению функций лобных долей и гиппокампа, а также дезорганизации деятельности дофаминергической системы [69]. У больных шизофренией и людей, склонных к психозам, наблюдается повышенная концентрация глутамата в зоне поясной извилины [70].

В рамках изучения и понимания патогенеза шизофрении наибольший интерес представляют NMDA-рецепторы, которые являются ионными каналами и опосредуют возбуждающие процессы в ЦНС, а также тесно связаны с эксайтотоксичностью и нейропластичностью. Помимо этого, NMDA-рецепторы вносят вклад в формирование нейрональных проводящих путей и медленных возбуждающих

**Таблица 1.** Функции, локализация и лиганды дофаминовых рецепторов

Рецептор	Функции и локализация	Лиганды
D <sub>1</sub>	<p>Расположены преимущественно пресинаптически, обеспечивая отрицательную обратную связь при высвобождении нейромедиатора.</p> <p>Активация связана с негативным влиянием на процессы обучения и памяти, локомоции, внимания, контроля импульсивного поведения, сна [27].</p> <p>Регулируют рост и развитие нервной системы.</p> <p>Участвуют в работе системы внутреннего подкрепления и поведенческих реакциях.</p> <p>Модулируют D<sub>2</sub>-рецепторы.</p>	<p>Антагонисты:</p> <p>Галобензазепин (SCH-23390) [28]</p> <p>Оланзапин [29]</p> <p>SKF-83566 [30]</p> <p>Экопипам (SCH-39166) [31]</p> <p>Агонисты:</p> <p>SKF-38393</p> <p>SKF-81297 [28]</p> <p>Фенолдопам (SKF-82526) [32]</p>
D <sub>2</sub>	<p>Подразделяются на две изоформы: пресинаптические (D<sub>2S</sub>) и постсинаптические (D<sub>2L</sub>). Пресинаптические рецепторы D<sub>2S</sub> осуществляют ауторегуляторный контроль высвобождения дофамина.</p> <p>Регулируют механизмы обучения и памяти [33], локомоции, внимания, сна.</p> <p>Играют ключевую роль в развитии шизофрении, аутизма, биполярного расстройства и являются основной мишенью для действия типичных нейролептиков. Задействованы в системе внутреннего подкрепления.</p>	<p>Антагонисты:</p> <p>Большая часть типичных нейролептиков</p> <p>Сулпирид [27]</p> <p>Рисперидон [34]</p> <p>L-741,626 [35]</p> <p>Агонисты:</p> <p>Арипипразол [36]</p> <p>Бромокриптин [37]</p> <p>Перголид [38]</p> <p>Каберголин [39]</p> <p>Ропинирол [40]</p> <p>Суманирол [41, 42]</p>
D <sub>3</sub>	<p>Анатомически локализованы преимущественно в лимбической системе [23].</p> <p>Принимают участие в когнитивных и эмоциональных процессах. Регулируют возбудимость пирамидальных клеток [43].</p> <p>Ингибирование способствует устранению дефицита сенсомоторного гейтинга (в тесте преимпульсного ингибирования), негативных симптомов (социальной изоляции) и когнитивных нарушений (в тесте распознавания новых объектов), вероятно, за счет фасилитации дофаминового рилизинга в мезокортикальной системе [44].</p>	<p>Антагонисты:</p> <p>Нафадотрид [35]</p> <p>Блонансерин [45]</p> <p>Карипразин [46]</p> <p>Брексипразол [47]</p> <p>SB-277011A [48]</p> <p>NGB-2904 [49]</p> <p>S33084 [35]</p> <p>S33138 [50]</p> <p>Агонисты:</p> <p>7-ОН-DPAT [51]</p> <p>Прамипексол [52]</p> <p>Ротиготин [53]</p> <p>PD-128907 [54]</p>
D <sub>4</sub>	<p>Участвуют в познавательных процессах, контроле импульсивного поведения, внимания, цикле сон–бодрствование.</p> <p>Активация приводит к повышению секреции ацетилхолина и дофамина в коре и гиппокампе (что может предотвращать когнитивные нарушения) [26, 55], а также усилению гамма-ритма на ЭЭГ, мощность которого снижается при шизофрении [56].</p>	<p>Антагонисты:</p> <p>FAUC213 [57]</p> <p>PNU-101,387</p> <p>NGD 94-1</p> <p>CP-293,019</p> <p>PD-172,938 [58]</p> <p>Агонисты:</p> <p>A-412997 [59]</p> <p>PD-168077 [26]</p> <p>WAY-100635</p> <p>CP226269 [60]</p>
D <sub>5</sub>	<p>Распределены в миндалине, коре, гиппокампе, таламусе, полосатом теле и других областях.</p> <p>Активация приводит к усилению образования нейротрофического фактора мозга (BDNF) в префронтальной коре крыс [61].</p> <p>Оказывают влияние на познавательные функции, внимание, механизмы принятия решений, моторное обучение.</p> <p>Полиморфизм гена ассоциирован с повышенным риском развития шизофрении [62].</p>	<p>Антагонисты:</p> <p>2-амино-3-гидрокси-7-метил-5,6,7,8,9,14-гексагидродибенз[D, G]азецин</p> <p>2-гидроксидибенз[D, G]азецин 2-метоксидибенз[D, G]азецин [63]</p> <p>Агонисты:</p> <p>PF-06412562 [64]</p> <p>Ротиготин [65]</p> <p>SKF-83,959 [66]</p> <p>Стефолидин [67]</p>

постсинаптических потенциалов, которые участвуют в ассоциативном обучении, поведенческой гибкости, внимании, рабочей памяти [19].

Антагонисты NMDA-рецепторов (фенциклидин, кетамин, кинуреновая кислота) вызывают психозы с симптомами, аналогичными тем, что развиваются при шизофрении, включая негативную симптоматику и когнитивные нарушения [20, 71, 72]. Это наблюдение легло в основу глутаматной гипотезы, интерпретация которой разделилась на пре- и постсинаптическую [73].

Согласно пресинаптической гипотезе, гипофункция NMDA приводит не к гипоглутаматергическому, а к гиперглутаматергическому состоянию, которое возникает в результате снижения чувствительности NMDA-рецепторов на ГАМК-ергических интернейронах. За счет этого происходит растормаживание глутаматергических пирамидных нейронов. В конечном итоге это приводит к эксайтотоксическому повреждению и когнитивным нарушениям в головном мозге [74].

Постсинаптическая гипотеза основана на структурно-функциональной и модуляторной дисфункции постсинаптических глутаматных рецепторов [74].

На NMDA-рецепторы можно воздействовать непосредственно агонистами и опосредованно через оксидазу D-аминокислот, которая участвует в катаболизме D-серина – коагониста GluN1-субъединицы глутаматных рецепторов. Блокирование оксидазы D-аминокислот с помощью бензоата натрия [75] или TAK-83 [76] позволяет корректировать позитивную, негативную и когнитивную симптоматику. Также перспективной мишенью представляется транспортер глицина-1, который регулирует доступность глицина для GluN1-субъединицы NMDA-рецепторов. Его ингибирование при помощи саркозина [77] и BI-425809 [78] приводит к снижению выраженности негативных симптомов. В недавних исследованиях показана важная роль NMDA-рецепторов нейроэндотелия, дисфункция которых может обуславливать нарушение кровоснабжения нервной ткани при шизофрении [79].

Кинуреновая кислота является конкурентным антагонистом глицинового сайта GluN1. Ингибиторы кинуренинаминотрансферазы II PF-04859989 [80] и ZINC35466084 [81] снижают уровень кинуреновой кислоты и устраняют ангедонию и выраженность когнитивных симптомов. Активация мускариновых ацетилхолиновых рецепторов  $M_1$  и  $M_4$  (mAChR) в гиппокампе и регионах переднего мозга облегчает NMDA-нейротрансмиссию, поэтому при использовании агониста mACh-рецепторов VU0364572 [82] происходит снижение выраженности когнитивных нарушений.

Активация субъединицы никотинового ацетилхолинового рецептора (nAChR) увеличивает высвобождение глутамата и дофамина в лобной коре и гиппокампе. Агонисты (Энциенин [83], АВТ-126 [84]) и положительные аллостерические модуляторы (AVL-3288 [85], JNJ-39393406 [86])  $\alpha 7$  nACh-рецепторов позволяют снизить выраженность когнитивных и негативных симптомов.

Немаловажными звеньями патогенеза и потенциальными терапевтическими мишенями являются метаботропные глутаматные рецепторы (mGlu). Пресинаптически высвобождение глутамата регулируется рецепторами mGlu<sub>2/3</sub>. Активация mGlu<sub>2/3</sub> приводит к подавлению секреции глутамата. Постсинаптические рецепторы mGlu<sub>3</sub> и mGlu<sub>5</sub> являются аллостерическими модуляторами NMDA-рецепторов, которые регулируют кинетику их ионных каналов [87]. Подробнее функции глутаматных рецепторов описаны в табл. 2.

Основной проблемой глутаматергических средств является неизбежность действия, что делает их применение невозможным ввиду развития грубых нарушений нервной деятельности. При разработке новых антипсихотических препаратов особое внимание уделяется созданию лигандов, проявляющих тропность к NMDA-рецепторам на отдельных популяциях нервных клеток, в частности на

**Таблица 2.** Функции, локализация и лиганды глутаматных рецепторов

Рецептор	Функция и локализация	Лиганд
NMDA	Обнаруживаются во многих областях головного мозга, включая кору, гиппокамп [88], базальные ганглии, миндалевидное тело, дорсомедиальное полосатое тело. Играть ключевую роль в процессах синаптической пластичности, участвуют в долговременной потенциации и долговременной депрессии синаптической передачи в гиппокампе. Влияют на когнитивные процессы (внимание, исполнительные функции мозга, визуальное распознавание, решение проблем [89]), социальное поведение и память [90].	Агонисты: Глицин [91, 92] D-серин D-циклосерин D-аланин [93] Антагонисты: Кетамин [94] Фенциклидин [95] Декстрорфан [96] Дизоцилпин (МК-801) [97] Мемантин [98]
AMPA	Широко распространены по всей ЦНС, включая гиппокамп, кору, базальные ганглии, обонятельные области, латеральную перегородку и миндалевидное тело [99]. Обеспечивают быструю возбуждающую нейротрансмиссию. Их количество или композиция взаимосвязаны с синаптической пластичностью. Модулируют активность NMDA-рецепторов. Участвуют в процессах обучения и памяти [100].	Положительные аллостерические модуляторы: CX516 [101, 102] CX-546 [103] CX691 [104] Антагонисты: Кинуреновая кислота [105] LY293558 [106] Селурампанель [107]
mGlu <sub>5</sub>	Повышают активность NMDA-рецепторов. Экспрессируются в областях, обеспечивающих функции памяти и познания, таких как базальные ганглии, кора и гиппокамп [108].	Положительные аллостерические модуляторы: VU0409551 [109] ADX-47273 [110] CDPPB [111] Антагонист: Метил-6-(фенилэтил)-пиридин (MPEP) [112] 3-((2-Метил-4-тиазолил)этил)пиридин (MTEP) [113] ABP688 Фенобам [114]
mGlu <sub>2/3</sub>	Экспрессируется во многих областях мозга включая гиппокамп, полосатое тело, префронтальную кору и миндалевидное тело [115]. Функционируют как ауторецепторы, подавляют высвобождение глутамата. Осуществляют постсинаптическую модуляцию NMDA-рецепторов. Влияют на двигательную активность и когнитивные функции [108].	Положительные аллостерические модуляторы: ADX71149 [116] Агонист: LY2140023 [117] LY354740 [118] LY541850 [119] Антагонист: LY341495 [120] MGS0039 [121]

ГАМК-ергических интернейронах. Кроме того, ведется поиск решений для регуляции сигналинга от постсинаптических глутаматных рецепторов.

## СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Согласно серотонинергической теории, развитие шизофрении обусловлено дисрегуляцией в системе серотониновой нейротрансмиссии [122, 123]. Эта гипотеза возникла на основе наблюдений за психотомиметическим действием диэтиламида

лизергиновой кислоты, которое связывают с активацией 5-НТ<sub>2А</sub>- и 5-НТ<sub>2С</sub>-рецепторов [124].

5-НТ<sub>2А</sub>-рецепторы содержатся в гиппокампе и коре головного мозга, то есть в структурах, связанных с эмоциональными и когнитивными процессами [19]. 5-НТ<sub>2А</sub>-рецепторы модулируют высвобождение дофамина, норадреналина, ГАМК и ацетилхолина в коре, лимбической системе и стриатуме [125]. Ингибиторы 5-НТ<sub>2А</sub>-рецепторов проявляют антагонистическое действие по отношению к психотомиметическим эффектам NMDA-блокаторов [126].

Активация 5-НТ<sub>2С</sub>-рецепторов приводит к подавлению дофаминовой нейротрансмиссии в кортикальной области и лимбической системе [127].

Кроме того, активация серотонинергических нейронов дорсального ядра шва, например, в результате продолжительного стресса, связанного с неудовлетворением потребностей и пребыванием в условиях внешней угрозы, может приводить к нарушению деятельности кортикальных нейронов при шизофрении [128], особенно в передней поясной извилине и дорсолатеральной части лобных долей [129].

Агонисты 5-НТ<sub>1А</sub>-рецепторов способны ослаблять катаlepsию, вызванную антипсихотическими препаратами [130]. При активации 5-НТ<sub>1А</sub>-рецепторов наблюдаются редукция агрессивного поведения, повышение социализации и снижение тревожности [131]. Применение атипичных нейролептиков, являющихся агонистами 5-НТ<sub>1А</sub>-рецепторов улучшает когнитивные функции у пациентов с шизофренией [132].

Имеются данные о возможной роли 5-НТ<sub>1В</sub>-, 5-НТ<sub>3</sub>-, 5-НТ<sub>6</sub>-, 5-НТ<sub>7</sub>-подтипов рецепторов (табл. 3) в патогенезе шизофрении, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных терапевтических мишеней.

Таким образом, серотониновые рецепторы вовлечены в сложную сеть взаимодействия с другими нейромедиаторными системами, тем самым предоставляя возможность осуществлять таргетную фармакологическую регуляцию нейрональной активности [183]. В настоящее время активно ведется разработка препаратов с двойным действием: во-первых, направленным на блокирование D<sub>2</sub>-рецепторов, во-вторых, обеспечивающим регуляцию серотониновых рецепторов, что позволяет оптимизировать антипсихотический профиль соединения и предупреждать побочные эффекты.

## ГАМК-ЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

При шизофрении выявляется снижение функции ГАМК-ергической системы, например, в дорсолатеральной префронтальной коре [184]. Ингибирование ГАМК-рецепторов в вентральной области коры головного мозга *in vivo* усиливает дофаминовую передачу в области обонятельного бугорка мозга и вызывает аномалии поведения у животных, схожие с симптомами шизофрении [185, 186].

В настоящий момент особое внимание уделяется дисфункции кортикальных (префронтальный отдел) и гиппокампальных парвальбумин-положительных быстро-разряжающихся ГАМК-ергических интернейронов [187, 188], деятельность которых изолированно нарушается при шизофрении, а также снижается численность их популяции.

ЭЭГ-исследования косвенно подтверждают дисфункцию интернейронов при шизофрении. Так, в ЭЭГ-сигналах выявляются аномалии биоэлектрической активности, которые выражаются в снижении мощности в гамма-диапазоне (30–80 Гц) [189]. Данная активность в норме генерируется парвальбумин-положительными интернейронами [190].

**Таблица 3.** Функции, локализация и лиганды серотониновых рецепторов

Рецептор	Функция и локализация	Лиганд
5-HT <sub>1A</sub>	Наиболее распространены в коре головного мозга, гиппокампе, перегородке, миндалевидном теле и ядре шва, с меньшей плотностью в базальных ганглиях и таламусе. Действуют как пресинаптические ауторецепторы. Опосредуют гиперполяризацию и снижение частоты возбуждения постсинаптического нейрона. Участвуют в регуляции настроения, эмоций и стрессовых реакций [133].	Агонисты: Арипипразол [134] Зипразидон [135] Луразидон [136, 137] Брексипразол [138] Элтропризин F17464 [139] Вортиоксетин [140] Антагонисты: MC18 VP08 / 34 NAD-299 [141]
5-HT <sub>1B</sub>	Широко распространены в лобной коре, базальных ганглиях, полосатом теле и гиппокампе. Ауторецепторы ингибируют высвобождение серотонина. Гетерорецепторы регулируют высвобождение других нейротрансмиттеров, например, глутамата и дофамина. Оказывают влияние на пищевое поведение, связаны с тревогой и агрессией, двигательной активностью, половым поведением, участвуют в модуляции памяти и обучения [142].	Агонисты: Элтропризин Вортиоксетин [143] Антагонисты: Исамолтан Метипотепин [144] Арипипразол [145] SB-216,641 [146]
5-HT <sub>2A</sub>	Локализованы в неокортексе (префронтальная, теменная и соматосенсорная кора) и обонятельном бугорке. Наибольшая плотность популяции отмечается на апикальных дендритах пирамидных клеток V слоя. Опосредуют возбуждающую нейротрансмиссию. Модулируют высвобождение других нейротрансмиттеров (дофамина, ГАМК, ацетилхолина, норадреналина). Связаны с галлюцинаторными явлениями и тревожностью; участвуют в процессах обучения и памяти [147]; регулируют сосудистый тонус [148].	Агонисты: Пимавансерин [132, 149] Диэтиламид лизергиновой кислоты (ЛСД) [150] Псилоцин [151] Мескалин [152] Антагонисты: Атипичные нейролептики (кроме амисульпирида) [153, 154] Зикронапин [155] Брексипразол [138] Ролуперидон (МТ-101) [156] Тозилат лямбда-теперона (IT1-007) [157] LuAF-35700 PY-31 [158]
5-HT <sub>2C</sub>	Распространены в гиппокампе, черной субстанции, миндалине, гипоталамическом ядре. Подавляют дофаминовую и норадреналиновую нейротрансмиссию. Регулируют настроение, тревожное, пищевое и репродуктивное поведение [159].	Агонисты: Большинство атипичных нейролептиков [160] Вабиказерин [161] JJ-3-42 [162] Антагонисты: SB-243213 SB-228357 [163] Флуоксетин [164] Элтропризин [165]
5-HT <sub>3</sub>	Опосредуют быструю возбуждающую синаптическую передачу в неокортикальных интернейронах, миндалевидном теле и гиппокампе, и, как полагают, модулируют высвобождение нейромедиаторов в мезолимбических и мезокортикальных дофаминовых нейронах. Связаны с развитием тревожных расстройств, участвуют в процессах памяти и обучения [166].	Антагонисты: Ондансетрон [167] Вортиоксетин [168] Клозапин Оланзапин Кветиапин [169] Агонисты: Хлорфенилбигуанид [170] Ибогаин [171] 2-метил-5-гидрокситриптамин [172] Хипазин [173]

Таблица 3. Окончание

Рецептор	Функция и локализация	Лиганд
5-HT <sub>6</sub>	Распространены в коре головного мозга (лобная и энторинальная области), обонятельном бугорке, прилежащем ядре, полосатом теле, хвостатом ядре, гиппокампе и молекулярном слое мозжечка. Усиливают ГАМК-ергическую нейротрансмиссию. Ингибируют высвобождение дофамина в префронтальной коре и ацетилхолина во фронтальной коре. Ассоциированы с тревожными состояниями и наркотической зависимостью. Регулируют пищевое поведение, цикл сон–бодрствование; участвуют в процессах памяти и обучения [174].	Антагонисты: LuAF-35700 Азенапин [175] AVN-211 [176] Агонисты: WAY-181187 SB-742457 [177] 2-этил-5-метокси-N, N-диметилтрип- тамин [178] E-6837 [179]
5-HT <sub>7</sub>	Наибольшая плотность обнаруживается в таламусе и гипоталамусе, а также в гиппокампе и коре головного мозга. Участвуют в регуляции настроения, цикла сон–бодрствование, процессов обучения и памяти, циркадных ритмов [180].	Антагонисты: Луразидон [136, 137] Вортиоксетин [138] SB-269970 [181] Агонисты: N,N-диметилтриптамин [182]

Выдвинута теория, которая связывает глутаматную и дофаминовую системы опосредованно через ГАМК-ергическую. Предполагается, что дисфункция NMDA-рецепторов ГАМК-ергических нейронов приводит к растормаживанию глутаматергических проекций в средний мозг, что в свою очередь ведет к гиперактивации мезостриальных дофаминовых нейронов. При этом кортикальный дефицит дофаминовой нейротрансмиссии объясняется тем, что гиперактивные глутаматергические проекции активируют ГАМК-интернейроны в вентральной области покрышки и, таким образом, подавляются мезокортикальные структуры [191].

В исследованиях сообщается о применении ГАМК-миметиков при шизофрении, что обосновывается необходимостью подавления возбуждающей дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии, однако результаты носят противоречивый и неубедительный характер [192–194]. Недостаточная эффективность ГАМК-миметиков может объясняться избирательностью действия, при этом NMDA-рецепторы представляются более перспективными точками приложения для селективной коррекции дисфункции ГАМК-ергических интернейронов.

### РЕЦЕПТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ СО СЛЕДОВЫМИ АМИНАМИ (ТААР)

ТААР сопряжены с G-белками и активируются эндогенными следовыми аминами, которые структурно схожи с моноаминергическими нейротрансмиттерами. У млекопитающих гены ТААР сосредоточены в виде единого кластера в хромосоме 6q23. Эта позиция совпадает с локусом предрасположенности к шизофрении и аффективным расстройствам [195].

ТААР1 локализуется в дофаминергических и серотонинергических нейронах вентральной области покрышки, серотонинергических нейронах ядра шва, глутаматергических нейронах миндалевидного тела и префронтальной коры, а также в лимбической системе и базальных ганглиях [196]. ТААР1 принимают участие в регуляции системы вознаграждения, когнитивных процессов и эмоций [197, 198].

Агонисты ТААР1 представляют значительный потенциал для коррекции когнитивных и негативных симптомов шизофрении [196]. На данный момент в разработке находятся два соединения с ТААР1-агонистической активностью: SEP-363856 и

R05263397 [199]. Соединение SEP-363856 в настоящее время проходит клинические испытания [200].

Кроме того, связь с шизофренией была установлена для TAAR5 и TAAR6. TAAR5 обнаруживаются в обонятельном ядре, обонятельном бугорке, орбитофронтальной коре, миндалевидном теле, гиппокампе, прилежащем ядре, таламусе и многих других регионах головного мозга [201]. Агонист TAAR5  $\alpha$ -NETA вызывает у крыс нарушения, схожие с негативной и когнитивной симптоматикой при шизофрении [202]. TAAR6 расположены в гиппокампе, лобной коре, миндалевидном теле и, в меньшей степени, в черной субстанции и базальных ганглиях. В исследованиях показано, что TAAR6 также вносят вклад в развитие шизофрении, хотя их роль недостаточно хорошо изучена [203, 204].

## ЦИТОКИНЫ

Иммунологическая гипотеза предполагает в качестве этиологических или триггерных факторов бактериальную и вирусную инфекцию (ретровирусы [205], герпес [206] и др.), особенно в перинатальный и неонатальный периоды онтогенеза. Согласно данной гипотезе, основным пусковым механизмом развития шизофрении является дисфункция иммунной системы [207], что ведет к первичным и вторичным аутоиммунным процессам, нейровоспалению и оксидативному стрессу, которые, в свою очередь, опосредуют комплексный патогенез шизофрении.

При системном воспалении наблюдаются дисфункция гематоэнцефалического барьера и активация микроглии [208]. Нейровоспалительные иммунные маркеры коррелируют с психотической симптоматикой и шизофренией [209]. Оксидативный стресс сопровождается возникновением дефектов ДНК [210] и повреждением клеток мозга, включая олигодендроциты (как следствие, запускается процесс демиелинизации) [211], а также ГАМК-ергические интернейроны [212].

Имеются данные, что некоторые провоспалительные цитокины (табл. 4) приводят к метаболическим изменениям в мозге и могут провоцировать (или сопровождать) психоз [213, 214]. Многие антипсихотические препараты способны подавлять образование провоспалительных цитокинов, активацию микроглии и нейровоспаление, с чем в некоторой степени может быть связано их антипсихотическое действие [215].

Накоплена доказательная база, подтверждающая, что дофамин является одним из основных регуляторов нейровоспаления. Дофамин может регулировать активность, миграцию, дифференциацию и пролиферацию иммунных клеток, включая Т-клетки, микроглию и периферические моноциты, что, в свою очередь, связано с когнитивными функциями [233]. Таким образом, изменение уровня дофамина при шизофрении может влиять на воспалительный ответ иммунных клеток и, следовательно, на некоторые функции мозга, включая долговременную память, обучение, социальное поведение и устойчивость к стрессу.

Иммуотропные средства обладают лечебным потенциалом в отношении шизофрении [234]. Положительный эффект был достигнут при использовании нестероидных противовоспалительных препаратов из группы ингибиторов циклооксигеназы (целекоксиба, ацетилсалициловой кислоты) в составе комплексной антипсихотической терапии [234]. Также получены данные о терапевтическом эффекте миноциклина, который предотвращает активацию микроглии и нейровоспаление при шизофрении [235, 236]. Рост интереса наблюдается по отношению к противовоспалительным свойствам статинов, направленным на эндотелий и Т-клетки. В качестве вспомогательной терапии статины подавляют как позитивную, так и негативную симптоматику. Их применение также оправдано повышенным риском

**Таблица 4.** Провоспалительные цитокины, ассоциированные с шизофренией и психозами

Цитокины	Функции	Супрессанты среди нейролептиков
IL-1 $\beta$	Индуктирует нейровоспаление [216]. Усиливает секрецию IL-6 и MIP-1 $\beta$ [217]. Активирует моноциты и макрофаги [218]. Стимулирует продукцию FGF-2 в клетках гиппокампа и TIMP-1 в астроцитах [219].	Арипипразол Оланзапин [220] Клозапин [221] Рисперидон Галоперидол
IL-6	Участвует в синтезе кинуреновой кислоты в ЦНС [222]. Участвует в образовании CRP. Активирует моноциты и макрофаги [223]. Индуктирует нейровоспаление [215]. Связан с негативными симптомами и резистентными формами шизофрении [224].	Клозапин [225] Оланзапин Рисперидон
IL-8	Повышение концентрации ассоциировано с резистентными формами шизофрении и негативной симптоматикой [215].	Арипипразол [226] Рисперидон
IFN- $\gamma$	Активирует микроглию и запускает апоптоз олигодендроцитов. Стимулирует продукцию TNF $\alpha$ [227].	Арипипразол Оланзапин [228]
TNF- $\alpha$	Усиливает продукцию IL-6 [217]. Индуктирует нейровоспаление [216]. Регулирует метаболизм моноаминов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса, голубом пятне, медиальной префронтальной коре, центральной и медиальной миндалине [229].	Арипипразол Рисперидон [216] Оланзапин [230, 231]
MIP-1 $\beta$	Вызывает воспалительную реакцию моноцитов, T-лимфоцитов, дендритных клеток, NK-клеток и тромбоцитов [232]. Активирует гранулоциты. Стимулирует продукцию IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$ .	Рисперидон [226] Арипипразол

развития сердечно-сосудистых заболеваний на фоне длительного приема нейролептиков [237].

Таким образом, несмотря на то, что противовоспалительные средства не могут рассматриваться в качестве монотерапии, они могут выступать как эффективные адьювантные компоненты.

### НЕЙРОПЕПТИДЫ

Нейропептиды представлены гетерогенным классом нейроактивных белков, которые регулируют возбудимость нейронов, синаптогенез, мозговой кровотока, функции глиальных клеток и другие процессы в ЦНС [238]. Нейропептиды обнаруживаются в дофаминергических, серотонинергических, глутаматергических, ГАМК-ергических терминалях и могут модулировать нейротрансмиссию [239]. Дисфункция нейропептидного сигналинга приводит к нарушениям дофаминергической передачи в мезокортикальных и мезокортиколимбических трактах [240].

Экспериментально выявлены антипсихотические свойства у аналогов холецистокинина [240] и нейротензина [241]. Активация нейротензиновых рецепторов (NTS1) в вентральной области покрышки способствует повышению активности мезокортикальных дофаминергических нейронов и уменьшению выраженности

когнитивных нарушений [242]. Также показано, что нейротензин модулирует деятельность серотонинергической системы [243].

Увеличение концентрации  $\beta$ -эндорфинов наблюдается у пациентов с преобладанием негативных симптомов и снижение у пациентов с преимущественно позитивными симптомами [244].

В посмертных исследованиях пациентов с шизофренией выявлены повышенные уровни субстанции P в префронтальной коре, таламусе, гиппокампе и черной субстанции, а также снижение уровней субстанции P и его предшественника пре-протахикинина A в миндалине [238].

Пониженные уровни NPY и аномальное распределение NPY-содержащих нейронов зафиксировано в лобной коре у лиц с шизофренией. Однако роль NPY в этиопатогенезе остается неясной [245].

В экспериментах на грызунах показано, что окситоцин может влиять как на позитивную, так и на негативную симптоматику. Однако имеющиеся на данный момент исследования в отношении эффективности использования окситоцина в лечении шизофрении дают неоднозначные результаты, что, вероятно, связано с дизайном исследований и индивидуальными различиями [246].

Таким образом, накоплены сведения, однозначно указывающие на то, что у больных шизофренией наблюдаются изменения уровней различных нейропептидов. Это диктует необходимость в уточнении, являются ли эти изменения казуальными по отношению к шизофрении, либо сопутствующими маркерами состояния, что имеет значение с точки зрения оценки их фармакотерапевтической перспективности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дофаминовая концепция шизофрении до настоящего времени является одной из наиболее обоснованных, поскольку достоверно установлено повышение плотности дофаминовых рецепторов и усиление секреции дофамина в полосатом теле, а также клинически подтверждается высокая эффективность антипсихотических препаратов с  $D_2$ -блокирующим действием. Однако текущий массив эмпирических данных не укладывается в рамки данной теории.

Получено новое понимание взаимосвязанных нарушений дофаминергической и глутаматергической системы, опосредованных ГАМК-ергическими интернейронами. Изучен вклад целого ряда новых рецепторов, вторичных мессенджеров на пострецепторном уровне и ферментов, участвующих в метаболизме медиаторов, которые позволяют оказывать более таргетное воздействие на деятельность нервной системы при шизофреническом расстройстве.

Все больше сведений указывает на то, что патогенез шизофрении и механизм действия антипсихотических препаратов не должны рассматриваться в отрыве от серотонинергической системы, которая явилась источником фармакологических мишеней большинства антипсихотических препаратов последнего поколения.

При разработке новых нейролептиков активно внедряется полифармакологический подход. Так, один из новых препаратов луматеперон проявляет аффинитет к  $5\text{-HT}_{2A}$ , транспортеру серотонина,  $D_2$ -,  $D_1$ - и  $\text{GluN}2\text{B}$ -рецепторам, что наделяет его уникальным фармакологическим профилем, позволяющим синергетически модулировать серотонинергическую, дофаминергическую и глутаматергическую системы [247].

Поиск решения проблемы развития побочных эффектов идет по нескольким направлениям, а именно: повышение селективности действия, внедрение полифармакологического подхода и создание средств адьювантной терапии.

Следует отметить, что современное состояние теоретического понимания патогенеза шизофрении все еще остается недоопределенным. Предстоит более детальное изучение нейросетевых структур и процессов, связанных с шизофренией. Требуется глубже оценить вовлеченность провоспалительных цитокинов и нейропептидов, чей вклад также нельзя игнорировать при разработке и изучении фармакологических свойств новых антипсихотических препаратов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликты интересов, связанные с публикацией данной статьи, отсутствуют.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

Вклад в написание и редактирование манускрипта в нисходящем порядке: К.Ю.К., А.А.С., О.Ю.М., Г.В.П., В.А.Л.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа была профинансирована за счет средств госбюджета.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Imamura A, Morimoto Y, Ono S, Kurotaki N, Kanegae S, Yamamoto N, Kinoshita H, Tsujita T, Okazaki Y, Ozawa H* (2020) Genetic and environmental factors of schizophrenia and autism spectrum disorder: insights from twin studies. *J Neural Transmission* 127: 1–15. <https://doi.org/10.1007/s00702-020-02188-w>
2. *Avramopoulos D* (2018) Recent advances in the genetics of schizophrenia. *Mol Neuropsychiatry* 4: 35–51. <https://doi.org/10.1159/000488679>
3. *Shokouhifar A, Askari N, Yazdani S, Mehrabadi JF* (2019) DISC1 gene polymorphisms and the risk of schizophrenia in an Iranian population: A preliminary study. *J Cell Biochem* 120: 1588–1597. <https://doi.org/10.1002/jcb.27427>
4. *Malavia TA, Chaparala S, Wood J, Chowdari K, Prasad KM, McClain L, Jegga AG, Ganapathiraju MK, Nimgaonkar VL* (2017) Generating testable hypotheses for schizophrenia and rheumatoid arthritis pathogenesis by integrating epidemiological, genomic, and protein interaction data. *npj Schizophrenia* 3: 11. <https://doi.org/10.1038/s41537-017-0010-z>
5. *Gründer G, Hippus H, Carlsson A* (2009) The “atypicality” of antipsychotics: A concept re-examined and re-defined. *Nature Rev Drug Discov* 8(3): 197–202. <https://doi.org/10.1038/nrd2806>
6. *Amato D, Vernon AC, Papaleo F* (2018) Dopamine, the antipsychotic molecule: A perspective on mechanisms underlying antipsychotic response variability. *Neurosci Biobehav Rev* 85: 146–159. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.09.027>
7. *Solmi M, Murru A, Pacchiarotti I, Undurraga J, Veronese N, Fornaro M, Stubbs B, Monaco F, Vieta E, Vseaman M, Correll CU, Carvalho AF* (2017) Safety, tolerability, and risks associated with first- and second-generation antipsychotics: A state-of-the-art clinical review. *Therap Clin Risk Management* 13: 757–777. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s117321>
8. *Grinchii D, Dremencov E* (2020) Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs in mood disorders. *Int J Mol Sci* 21(24): 9532. <https://doi.org/10.3390/ijms21249532>
9. *Xu H, Zhuang X* (2019) Atypical antipsychotics-induced metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: A critical review. *Neuropsych Disease Treatment* 15: 2087–2099. <https://doi.org/10.2147/ndt.s208061>
10. *Grajales D, Ferreira V, Valverde AM* (2019) Second-Generation Antipsychotics and Dysregulation of Glucose Metabolism: Beyond Weight Gain. *Cells* 8(11): 1336. <https://doi.org/10.3390/cells8111336>
11. *Garay RP, Citrome L, Samalin L, Liu CC, Thomsen MS, Correll CU, Hameg A, Llorca PM* (2016) Therapeutic improvements expected in the near future for schizophrenia and schizoaffective disorder: An appraisal of phase III clinical trials of schizophrenia-targeted therapies as

- found in US and EU clinical trial registries. *Expert Opinion Pharmacother* 17(7): 921–936.  
<https://doi.org/10.1517/14656566.2016.1149164>
12. *Köster LS, Carbon M, Correll CU* (2014) Emerging drugs for schizophrenia: An update. *Expert Opinion Emerg Drugs* 19(4): 511–531.  
<https://doi.org/10.1517/14728214.2014.958148>
  13. *Itokawa M, Arinami T, Toru M* (2010) Advanced research on dopamine signaling to develop drugs for the treatment of mental disorders: Ser311Cys polymorphisms of the dopamine D2-receptor gene and schizophrenia. *J Pharmacol Sci* 114(1): 1–5.  
<https://doi.org/10.1254/jphs.10R07FM>
  14. *Yang AC, Tsai SJ* (2017) New targets for schizophrenia treatment beyond the dopamine hypothesis. *Int J Mol Sci* 18(8): 1689.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18081689>
  15. *Brisch R, Saniotis A, Wolf R, Biela H, Bernstein HG, Steiner J, Bogerts B, Braun K, Kumaratilake J, Henneberg M, Gos T* (2014) The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: Old fashioned, but still in vogue. *Front Psychiatry* 5: 47.  
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00047>
  16. *Kapur S, Remington G* (2001) Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. *Biol Psychiatry* 50(11): 873–883.  
[https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(01\)01251-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01251-3)
  17. *Gründer G, Cumming P* (2016) In: *The Neurobiology of Schizophrenia*. Eds Abel T, Nickl-Jockschat T. Acad Press: 109–124.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801829-3.00015-X>
  18. *Gomes FV, Grace AA* (2018) Cortical dopamine dysregulation in schizophrenia and its link to stress. *Brain* 141(7): 1897–1899.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awy156>
  19. *Гареева АЭ* (2019) Современный взгляд на нейробиологические гипотезы шизофрении. Журн высш нерв деятельн им ИП Павлова 69(4):437–455 [Gareeva AE (2019) Hypothesis of schizophrenia. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 69(4): 437–455. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.1134/s0044467719040038>
  20. *Nakazawa K, Sapkota K* (2020) The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Pharmacol Therap* 205: 107426.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107426>
  21. *Ripke S, Neale BM, Corvin A, Walters JTR, Farh KH, Holmans PA, Lee P, et al.* (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511(7510): 421–427.  
<https://doi.org/10.1038/nature13595>
  22. *Funahashi Y, Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Mori Y, Mori T, Ochi S, Iga J ichi, Ueno S ichi* (2019) Analysis of methylation and -141C Ins/Del polymorphisms of the dopamine receptor D2 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 278: 135–140.  
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.06.001>
  23. *Maramai S, Gemma S, Brogi S, Campiani G, Butini S, Stark H, Brindisi M* (2016) Dopamine D3 receptor antagonists as potential therapeutics for the treatment of neurological diseases. *Front Neurosci* 10: 451.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00451>
  24. *Girgis RR, Forbes A, Abi-Dargham A, Slifstein M* (2020) A positron emission tomography occupancy study of brexpiprazole at dopamine D2 and D3 and serotonin 5-HT1A and 5-HT2A receptors, and serotonin reuptake transporters in subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 45(5): 786–792.  
<https://doi.org/10.1038/s41386-019-0590-6>
  25. *Meier MA, Lemercier CE, Kulisch C, Kiss B, Lendvai B, Adham N, Gerevich Z* (2020) The novel antipsychotic cariprazine stabilizes gamma oscillations in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol* 177(7): 1622–1634.  
<https://doi.org/10.1111/bph.14923>
  26. *Huang M, Kwon S, He W, Meltzer HY* (2017) Neurochemical arguments for the use of dopamine D4 receptor stimulation to improve cognitive impairment associated with schizophrenia. *Pharmacol Biochem Behav* 157: 16–23.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.04.010>
  27. *Beaulieu JM, Gainetdinov RR* (2011) The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev* 63(1): 182–217.  
<https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
  28. *Darvish-Ghane S, Quintana C, Beaulieu JM, Martin LJ* (2020) D1 receptors in the anterior cingulate cortex modulate basal mechanical sensitivity threshold and glutamatergic synaptic transmission. *Mol Brain* 13(1): 1–15.  
<https://doi.org/10.1186/s13041-020-00661-x>

29. *Stahl SM* (2017) Drugs for psychosis and mood: Unique actions at D3, D2, and D1 dopamine receptor subtypes. *CNS Spectrums* 22(5): 375–384.  
<https://doi.org/10.1017/S1092852917000608>
30. *Stouffer MA, Ali S, Reith MEA, Patel JC, Sarti F, Carr KD, Rice ME* (2011) SKF-83566, a D1-dopamine receptor antagonist, inhibits the dopamine transporter. *J Neurochem* 118(5): 714–720.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07357.x>
31. *Arnsten AFT, Girgis RR, Gray DL, Mailman RB* (2017) Novel Dopamine Therapeutics for Cognitive Deficits in Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 81(1): 67–77.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.12.028>
32. *Noce A, Marrone G, Rovella V, Busca A, Gola C, Ferrannini M, di Daniele N* (2019) Fenoldopam Mesylate: A Narrative Review of Its Use in Acute Kidney Injury. *Current Pharmac Biotechnol* 20(5): 366.  
<https://doi.org/10.2174/1389201020666190417124711>
33. *Kecel-Gunduz S, Budama-Kilinc Y, Cakir-Koc R, Zorlu T, Bicak B, Kokcu Y, Kaya Z, Ozel AE, Akyuz S* (2019) In silico Analysis of Sulpiride, Synthesis, Characterization and In vitro Studies of its Nanoparticle for the Treatment of Schizophrenia. *Current Computer-Aided Drug Design* 16(2): 104–121.  
<https://doi.org/10.2174/1573409915666190627125643>
34. *Han J, Li Y, Wang X* (2017) Potential link between genetic polymorphisms of catechol-O-methyltransferase and dopamine receptors and treatment efficacy of risperidone on schizophrenia. *Neuropsych Disease Treatment* 13: 2935–2943.  
<https://doi.org/10.2147/NDT.S148824>
35. *Watson DJ, Marsden CA, Millan MJ, Fone KC* (2012) Blockade of dopamine D<sub>3</sub> but not D<sub>2</sub> receptors reverses the novel object discrimination impairment produced by post-weaning social isolation: implications for schizophrenia and its treatment. *Int J Neuropsychopharmacol* 15(4): 471–484.  
<https://doi.org/10.1017/s1461145711000435>
36. *Kirino E* (2017) Serum prolactin levels and sexual dysfunction in patients with schizophrenia treated with antipsychotics: Comparison between aripiprazole and other atypical antipsychotics. *Ann Gen Psychiatry* 16(1): 1–7.  
<https://doi.org/10.1186/s12991-017-0166-y>
37. *MacQueen DA, Young JW* (2020) The D2-family receptor agonist bromocriptine but, not nicotine, reverses NMDA receptor antagonist-induced working memory deficits in the radial arm maze in mice. *Neurobiol Learn Memory* 168: 107159.  
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107159>
38. *Gibbs SEB, D'Esposito M* (2006) A functional magnetic resonance imaging study of the effects of pergolide, a dopamine receptor agonist, on component processes of working memory. *Neuroscience* 139(1): 359–371.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.11.055>
39. *Kalkavoura CS, Michopoulos I, Arvanitakis P, Theodoropoulou P, Dimopoulou K, Tzebelikos E, Lykouras L* (2013) Effects of cabergoline on hyperprolactinemia, psychopathology, and sexual functioning in schizophrenic patients. *Exp Clin Psychopharmacol* 21(4): 332.  
<https://doi.org/10.1037/a0033448>
40. *Michalopoulou PG, Azim A, Tracy D, Shergill SS* (2012) Ropinirole as an effective adjunctive treatment for clozapine-resistant negative symptoms in simple schizophrenia: A case report. *J Clin Psychopharmacol* 32(5): 719–720.  
<https://doi.org/10.1097/jcp.0b013e318267062c>
41. *Weber M, Chang WL, Breier MR, Yang A, Millan MJ, Swerdlow NR* (2010) The effects of the dopamine D2 agonist sumanirole on prepulse inhibition in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 20(6): 421–425.  
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.02.011>
42. *Maple AM, Call T, Kimmel PC, Hammer RP* (2017) Effects of repeated ropinirole treatment on phencyclidine-induced hyperlocomotion, prepulse inhibition deficits, and social avoidance in rats. *J Pharmacol Exp Therap* 361(1): 109–114.  
<https://doi.org/10.1124/jpet.116.238634>
43. *Clarkson RL, Liptak AT, Gee SM, Sohal VS, Bender KJ* (2017) D3 Receptors Regulate Excitability in a Unique Class of Prefrontal Pyramidal Cells. *J Neurosci* 37(24): 5846–5860.  
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.0310-17.2017>
44. *Takeuchi S, Hida H, Uchida M, Naruse R, Yoshimi A, Kitagaki S, Ozaki N, Noda Y* (2019) Blonanserin ameliorates social deficit through dopamine-D3 receptor antagonism in mice administered phencyclidine as an animal model of schizophrenia. *Neurochem Int* 128: 127–134.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.04.008>
45. *Inoue Y, Tsuchimori K, Nakamura H* (2021) Safety and effectiveness of oral blonanserin for schizophrenia: A review of Japanese post-marketing surveillances. *J Pharmacol Sci* 145(1):

- 42–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.09.006>
46. *Durgam S, Litman RE, Papadakis K, Li D, Németh G, Laszlovszky I* (2016) Cariprazine in the treatment of schizophrenia: A proof-of-concept trial. *Int Clin Psychopharmacol* 31(2): 61–68.  
<https://doi.org/10.1097/YIC.000000000000110>
47. *Girgis RR, Forbes A, Abi-Dargham A, Slifstein M* (2020) A positron emission tomography occupancy study of brexpiprazole at dopamine D2 and D3 and serotonin 5-HT1A and 5-HT2A receptors, and serotonin reuptake transporters in subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 45(5): 786–792.  
<https://doi.org/10.1038/s41386-019-0590-6>
48. *Micheli F, Heidbreder C* (2013) Dopamine D3 receptor antagonists: A patent review (2007–2012). *Expert Opin Therap Patents* 23(3): 363–381.  
<https://doi.org/10.1517/13543776.2013.757593>
49. *Huang M, Kwon S, Oyamada Y, Rajagopal L, Miyauchi M, Meltzer HY* (2015) Dopamine D3 receptor antagonism contributes to blonanserin-induced cortical dopamine and acetylcholine efflux and cognitive improvement. *Pharmacol Biochem Behav* 138: 49–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.09.011>
50. *Gross G, Wicke K, Drescher KU* (2013) Dopamine D3 receptor antagonism - Still a therapeutic option for the treatment of schizophrenia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 386(2): 155–166.  
<https://doi.org/10.1007/s00210-012-0806-3>
51. *Kiss B, Laszlovszky I, Krámos B, Visegrády A, Bobok A, Lévy G, Lendvai B, Román V* (2021) Neuronal dopamine D3 receptors: Translational implications for preclinical research and CNS disorders. *Biomolecules* 11(1): 104.  
<https://doi.org/10.3390/biom11010104>
52. *Weng JJ, Wang LH, Zhu H, Xu WR, Wei YM, Wang ZY, Yu WJ, Li HF* (2019) Efficacy of low-dose D2/D3 partial agonist pramipexole on neuroleptic-induced extrapyramidal symptoms and symptoms of schizophrenia: A stage-1 open-label pilot study. *Neuropsych Disease Treatment* 15: 2195–2203.  
<https://doi.org/10.2147/NDT.S205933>
53. *Moretti DV, Binetti G, Zanetti O, Frisoni GB* (2014) Behavioral and neurophysiological effects of transdermal rotigotine in atypical parkinsonism. *Front Neurol* 5: 85.  
<https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00085>
54. *Tadori Y, Forbes RA, McQuade RD, Kikuchi T* (2011) Functional potencies of dopamine agonists and antagonists at human dopamine D2 and D3 receptors. *Eur J Pharmacol* 666(1–3): 43–52.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.050>
55. *Miyauchi M, Neugebauer NM, Meltzer HY* (2017) Dopamine D4 receptor stimulation contributes to novel object recognition: Relevance to cognitive impairment in schizophrenia. *J Psychopharmacol* 31(4): 442–452.  
<https://doi.org/10.1177/0269881117693746>
56. *Kocsis B, Lee P, Deth R* (2014) Enhancement of gamma activity after selective activation of dopamine D4 receptors in freely moving rats and in a neurodevelopmental model of schizophrenia. *Brain Struct Funct* 219(6): 2173–2180.  
<https://doi.org/10.1007/s00429-013-0607-6>
57. *Boeckler F, Russig H, Zhang W, Löber S, Schetz J, Hübner H, Ferger B, Gmeiner P, Feldon J* (2004) FAUC 213, a highly selective dopamine D4 receptor full antagonist, exhibits atypical antipsychotic properties in behavioural and neurochemical models of schizophrenia. *Psychopharmacology* 175(1): 7–17.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-004-1782-1>
58. *Löber S, Hübner H, Tschammer N, Gmeiner P* (2011) Recent advances in the search for D3- and D4-selective drugs: probes, models and candidates. *Trends Pharmacol Sci* 32(3): 148–157.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.12.003>
59. *Gómez-Jeria JS, López-Aravena R* (2020) A Theoretical Analysis of the Relationships between Electronic Structure and Dopamine D4 Receptor Affinity in a series of compounds based on the classical D4 agonist A-412997. *Chem Res J* 1–9.
60. *Keck TM, Free RB, Day MM, Brown SL, Maddaluna MS, Fountain G, Cooper C, Fallon B, Holmes M, Stang CT, Burkhardt R, Bonifazi A, Ellenberger MP, Newman AH, Sibley DR, Wu C, Boateng CA* (2019) Dopamine D4 Receptor-Selective Compounds Reveal Structure-Activity Relationships that Engender Agonist Efficacy. *J Med Chem* 62(7): 3722–3740.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00231>
61. *Perreault ML, Jones-Tabah J, O'Dowd BF, George SR* (2013) A physiological role for the dopamine D5 receptor as a regulator of BDNF and Akt signalling in rodent prefrontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol* 16(2): 477–483.  
<https://doi.org/10.1017/S1461145712000685>

62. *Meymooni MS, Asil MAM, Haftvani GT, Morshedzadeh F, Zaeifi D* (2019) Auxiliary role of D5 dopamine receptor as a marker in paranoid schizophrenia patients. *Psychiatr Clin Psychopharmacol* 29(2): 158–161.  
<https://doi.org/10.1080/24750573.2019.1575501>
63. *Mohr P, Decker M, Enzensperger C, Lehmann J* (2006) Dopamine/serotonin receptor ligands. 121: SAR studies on hexahydro-dibenz[d,g]azecines lead to 4-chloro-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-3-ol, the first picomolar D5-selective dopamine-receptor antagonist. *J Med Chem* 49(6): 2110–2116.  
<https://doi.org/10.1021/jm051237e>
64. *Arce E, Balice-Gordon R, Duvvuri S, Naylor M, Xie Z, Harel B, Kozak R, Gray DL, DeMartinis N* (2019) A novel approach to evaluate the pharmacodynamics of a selective dopamine D1/D5 receptor partial agonist (PF-06412562) in patients with stable schizophrenia. *J Psychopharmacol* 33(10): 1237–1247.  
<https://doi.org/10.1177/0269881119855302>
65. *Rascol O, Zesiewicz T, Chaudhuri KR, Asgharnejad M, Surmann E, Dohin, E, Nilius S, Bauer L* (2016) A Randomized Controlled Exploratory Pilot Study to Evaluate the Effect of Rotigotine Transdermal Patch on Parkinson's Disease-Associated Chronic Pain. *J Clin Pharmacol* 56(7): 852–861.  
<https://doi.org/10.1002/jcph.678>
66. *Perreault ML, Fan T, Banasikowski TJ, Grace AA, George SR* (2017) The atypical dopamine receptor agonist SKF 83959 enhances hippocampal and prefrontal cortical neuronal network activity in a rat model of cognitive dysfunction. *Eur J Neurosci* 46(4): 2015–2025.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.13635>
67. *Meade JA, Free RB, Miller NR, Chun LS, Doyle TB, Moritz AE, Conroy JL, Watts, VJ, Sibley DR* (2015) (-)-Stepholidine is a potent pan-dopamine receptor antagonist of both G protein- and  $\beta$ -arrestin-mediated signaling. *Psychopharmacology (Berl)* 232(5): 917–930.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-014-3726-8>
68. *Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M* (2001) NMDA receptor subunits: Diversity, development and disease. *Current Opin Neurobiol* 11(3): 327–335.  
[https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(00\)00215-4](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(00)00215-4)
69. *Coyle JT, Tsai G, Goff D* (2003) Converging Evidence of NMDA Receptor Hypofunction in the Pathophysiology of Schizophrenia. *Ann NY Acad Sci* 1003: 318–327.  
<https://doi.org/10.1196/annals.1300.020>
70. *Poels EMP, Kegeles LS, Kantrowitz JT, Javitt DC, Lieberman JA, Abi-Dargham A, Girgis RR* (2014) Glutamatergic abnormalities in schizophrenia: A review of proton MRS findings. *Schizophr Res* 152(2–3): 325–332.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.12.013>
71. *Дорофейкова МВ, Кучер ЕО, Петрова НН, Егоров АЮ* (2020) Экспериментальные модели когнитивных нарушений при шизофрении. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106(11): 1325–1339 [*Dorofeikova MV, Kutcher EO, Petrova NN, Egorov AYU* (2020) Animal Models of Cognitive Impairment in Schizophrenia. *Russ J Physiol* 106(11): 1325–1339. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.31857/s0869813920110059>
72. *Plitman E, Iwata Y, Caravaggio F, Nakajima S, Chung JK, Gerretsen P, Kim J, Takeuchi H, Chakravarty MM, Remington G, Graff-Guerrero A* (2017) Kynurenic Acid in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull* 43(4): 764–777.  
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbw221>
73. *Moghaddam B, Javitt D* (2012) From revolution to evolution: The glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology* 37(1): 4–15.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2011.181>
74. *Adell A* (2020) Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. *Biomolecules* 10(6): 947.  
<https://doi.org/10.3390/biom10060947>
75. *Lin CH, Lin CH, Chang YC, Huang YJ, Chen PW, Yang HT, Lane HY* (2018) Sodium Benzoate, a D-Amino Acid Oxidase Inhibitor, Added to Clozapine for the Treatment of Schizophrenia: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Psychiatry* 84(6): 422–432.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.12.006>
76. *Macek TA, McCue M, Dong X, Hanson E, Goldsmith P, Affinito J, Mahableshwarkar AR* (2019) A phase 2, randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of TAK-063 in subjects with an acute exacerbation of schizophrenia. *Schizophr Res* 204: 289–294.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.08.028>
77. *Strzelecki D, Urban-Kowalczyk M, Wysokiński A* (2018) Serum levels of interleukin 6 in schizophrenic patients during treatment augmentation with sarcosine (results of the PULSAR study). *Human Psychopharmacol* 33(2): e2652.  
<https://doi.org/10.1002/hup.2652>

78. *Fleischhacker WW, Podhorna J, Gröschl M, Hake S, Zhao Y, Huang S, Keefe RSE, Desch M, Brenner R, Walling DP, Mantero-Aienza E, Nakagome K, Pollentier S* (2021) Efficacy and safety of the novel glycine transporter inhibitor BI 425809 once daily in patients with schizophrenia: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Psychiatry* 8(3): 191–201.  
[https://doi.org/10.1016/s2215-0366\(20\)30513-7](https://doi.org/10.1016/s2215-0366(20)30513-7)
79. *Intson K, Geissah S, McCullumsmith RE, Ramsey AJ* (2020) A role for endothelial NMDA receptors in the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophr Res* 11: S0920-9964(20)30491-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.10.004>
80. *Kozak R, Campbell BM, Strick CA, Horner W, Hoffmann WE, Kiss T, Chapin DS, McGinnis D, Abbott AL, Roberts BM, Fonseca K, Guanowsky V, Young DA, Seymour PA, Dounay A, Hajos M, Williams GV, Castner SA* (2014) Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. *J Neurosci* 34(32): 10592–10602.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1107-14.2014>
81. *Noorbakhsh A, Hosseini-nezhadian Koushki E, Farshadfar C, Ardalan N* (2021) Designing a natural inhibitor against human kynurenine aminotransferase type II and a comparison with PF-04859989: a computational effort against schizophrenia. *J Biomol Structure Dynamics*: 1–14.  
<https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1893817>
82. *Lebois EP, Schroeder JP, Esparza TJ, Bridges TM, Lindsley CW, Conn PJ, Brody DL, Daniels JS, Levey AI* (2017) Disease-Modifying Effects of M1 Muscarinic Acetylcholine Receptor Activation in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *ACS Chem Neurosci* 8(6): 1177–1187.  
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.6b00278>
83. *Keefe RSE, Meltzer HA, Dgetluck N, Gawryl M, Koenig G, Moebius HJ, Lombardo I, Hilt DC* (2015) Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled study of encenicline, an  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor agonist, as a treatment for cognitive impairment in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 40(13): 3053–3060.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2015.176>
84. *Haig GM, Wang D, Zhao J, Othman AA, Bain EE* (2018) Efficacy and Safety of the  $\alpha 7$ -Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist ABT-126 in the Treatment of Cognitive Impairment Associated With Schizophrenia: Results From a Phase 2b Randomized Controlled Study in Smokers. *J Clin Psychiatry* 79(3): 16m11162.  
<https://doi.org/10.4088/jcp.16m11162>
85. *Kantrowitz JT, Javitt DC, Freedman R, Sehatpour P, Kegeles LS, Carlson M, Sobeih T, Wall MM, Choo TH, Vail B, Grinband J, Lieberman JA* (2020) Double blind, two dose, randomized, placebo-controlled, cross-over clinical trial of the positive allosteric modulator at the alpha7 nicotinic cholinergic receptor AVL-3288 in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology* 45(8): 1339–1345.  
<https://doi.org/10.1038/s41386-020-0628-9>
86. *Perkins KA, Roy Chengappa KN, Karelitz JL, Boldry MC, Michael V, Herb T, Gannon J, Brar J, Ford L, Rassnick S, Brunzell DH* (2018) Initial Cross-Over Test of A Positive Allosteric Modulator of Alpha-7 Nicotinic Receptors to Aid Cessation in Smokers with or Without Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 43(6): 1334–1342.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.292>
87. *Maksymetz J, Moran SP, Conn PJ* (2017) Targeting metabotropic glutamate receptors for novel treatments of schizophrenia Tim Bliss. *Mol Brain* 10(1): 15.  
<https://doi.org/10.1186/s13041-017-0293-z>
88. *Плеканчук ВС, Рязанова МА* (2021) Экспрессия генов глутаматных рецепторов в гиппокампе и лобной коре у крыс линии ГК с генетической кататонией. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 107(2): 232–242 [Plekanchuk VS, Ryzanova MA (2021) Expression of glutamate receptor genes in the hippocampus and frontal cortex in GC strain rats with genetic catatonia. *Russ J Physiol* 107(2): 232–242. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.31857/s0869813921020060>
89. *Cadinu D, Grayson B, Podda G, Harte MK, Doostdar N, Neill JC* (2018) NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. *Neuropharmacology* 142: 41–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.11.045>
90. *Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R* (2010) Glutamate receptor ion channels: Structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev* 62(3): 405–496.  
<https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>
91. *Javitt DC, Silipo G, Cienfuegos A, Shelley AM, Bark N, Park M, Lindenmayer JP, Suckow R, Zukin SR* (2001) Adjunctive high-dose glycine in the treatment of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 4(4): 385–391.  
<https://doi.org/10.1017/s1461145701002590>

92. Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K (2006) Glutamatergic drugs for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* (2): CD003730.  
<https://doi.org/10.1002/14651858.cd003730.pub2>
93. Chaves C, Marque CR, Trzesniak C, Machado de Sousa JP, Zuardi AW, Crippa JA, Dursun SM, Hallak JE (2009) Glutamate-N-methyl-D-aspartate receptor modulation and minocycline for the treatment of patients with schizophrenia: an update. *Braz J Med Biol Res* 42(11): 1002–1014.  
<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2009001100002>
94. Newport DJ, Carpenter LL, McDonald WM, Potash JB, Tohen M, Nemeroff CB (2015) Ketamine and other NMDA antagonists: Early clinical trials and possible mechanisms in depression. *Am J Psychiatry* 172(10): 950–966.  
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15040465>
95. Kjaerby C, Hovelso N, Dalby NO, Sotty F (2017) Phencyclidine administration during neurodevelopment alters network activity in prefrontal cortex and hippocampus in adult rats. *J Neurophysiol* 118(2): 1002–1011.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00081.2017>
96. Moghaddam B, Krystal JH (2012) Capturing the angel in angel dust: Twenty years of translational neuroscience studies of NMDA receptor antagonists in animals and humans. *Schizophr Bull* 38(5): 942–949.  
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbs075>
97. Суханов ИМ, Драволина ОА, Звартану ЭЭ, Беспалов АЮ (2021) Динамика эффектов неконкурентного антагониста NMDA-рецепторов МК-801 в тесте распознавания зрительного стимула. Эксперим и клин фармакол 84(2): 71–75. [Suhanov IM, Dravolina OA, Zvartanu EE, Bepalov AYU (2021) Dynamics of effects of non-competitive nmda blocker mk-801 in visual signal detection task. *Exp Clin Pharmacol* 84(2): 71–75. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.30906/0869-2092-2021-84-2-71-75>
98. Kikuchi T (2020) Is memantine effective as an NMDA-receptor antagonist in adjunctive therapy for schizophrenia? *Biomolecules* 10(8): 1134.  
<https://doi.org/10.3390/biom10081134>
99. Yadav R, Dravid SM, Yuan H, Traynelis SF (2016) AMPA receptors: Molecular biology and pharmacology. In: *The Curated Reference Collection in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier Science Ltd 311–318.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809324-5.02325-7>
100. Benesh JL, Mueller TM, Meador-Woodruff JH (2020) AMPA receptor subunit localization in schizophrenia anterior cingulate cortex. *Schizophr Res* S0920-9964(20)30041-4.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.01.025>
101. Goff DC, Leahy L, Berman I, Posever T, Herz L, Leon AC, Johnson SA, Lynch G (2001) A placebo-controlled pilot study of the ampakine CX516 added to clozapine in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 21(5): 484–487.  
<https://doi.org/10.1097/00004714-200110000-00005>
102. Goff DC, Lambert J, Leon AC, Green MF, Miller AL, Patel J, Manschreck T, Freudenreich O, Johnson SA (2008) A placebo-controlled add-on trial of the Ampakine, CX516, for cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 33(3): 465–472.  
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301444>
103. Chang PK, Prenosil GA, Verbich D, Gill R, McKinney RA (2014) Prolonged ampakine exposure prunes dendritic spines and increases presynaptic release probability for enhanced long-term potentiation in the hippocampus. *Eur J Neurosci* 40(5): 2766–2776.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.12638>
104. Mozafari N, Moghadam-Ahmadi A, Shamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M, Kaeidi A (2018). The effect of ampakine Farampator (CX691) on working memory in a rat model of Alzheimer's disease induced by Amyloid beta 1–42. *Iran J Physiol Pharmacol* 2(2): 107–100.
105. Klein C, Patte-Mensah C, Taleb O, Bourguignon JJ, Schmitt M, Bihel F, Maitre M, Mensah-Nyagan AG (2013) The neuroprotector kynurenic acid increases neuronal cell survival through neprilysin induction. *Neuropharmacology* 70: 254–260.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.02.006>
106. Desbonnet L, O'Tuathaigh CM, Waddington JL (2012) Modeling schizophrenia: uncovering novel therapeutic targets. *Expert Rev Clin Pharmacol* 5(6): 667–676.  
<https://doi.org/10.1586/ecp.12.57>
107. Faught E (2014) BGG492 (selurampanel), an AMPA/kainate receptor antagonist drug for epilepsy. *Expert Opin Investig Drugs* 23(1): 107–113.  
<https://doi.org/10.1517/13543784.2014.848854>
108. Stansley BJ, Conn PJ (2018) The therapeutic potential of metabotropic glutamate receptor modulation for schizophrenia. *Current Opinion Pharmacol* 38: 31–36.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.02.003>

109. *Balu DT, Li Y, Takagi S, Presti KT, Ramikie TS, Rook JM, Jones CK, Lindsley CW, Conn PJ, Bolshakov VY, Coyle JT* (2016) An mGlu5-Positive Allosteric Modulator Rescues the Neuroplasticity Deficits in a Genetic Model of NMDA Receptor Hypofunction in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 41(8): 2052–2061. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.2>
110. *Marszałek-Grabska M, Gibula-Bruzda E, Bodzon-Kulakowska A, Suder P, Gawel K, Talarek S, Listos J, Kedzierska E, Danysz W, Kotlinska JH* (2018) ADX-47273, a mGlu5 receptor positive allosteric modulator, attenuates deficits in cognitive flexibility induced by withdrawal from 'binge-like' ethanol exposure in rats. *Behav Brain Res* 338: 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.007>
111. *Shalleross J, Hámor P, Bechard AR, Romano M, Knackstedt L, Schwendt M* (2019) The Divergent Effects of CDPPB and Cannabidiol on Fear Extinction and Anxiety in a Predator Scent Stress Model of PTSD in Rats. *Front Behav Neurosci* 13: 91. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00091>
112. *Matosin N, Fernandez-Enright F, Lum JS, Newell KA* (2017) Shifting towards a model of mGluR5 dysregulation in schizophrenia: Consequences for future schizophrenia treatment. *Neuropharmacology* 115: 73–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.08.003>
113. *Jin DZ, Xue B, Mao LM, Wang JQ* (2015) Metabotropic glutamate receptor 5 upregulates surface NMDA receptor expression in striatal neurons via CaMKII. *Brain Res* 1624: 414–423. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.053>
114. *Terbeck S, Akkus F, Chesterman LP, Hasler G* (2015) The role of metabotropic glutamate receptor 5 in the pathogenesis of mood disorders and addiction: combining preclinical evidence with human Positron Emission Tomography (PET) studies. *Front Neurosci* 9: 86. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00086>
115. *Crupi R, Impellizzeri D, Cuzzocrea S* (2019) Role of metabotropic glutamate receptors in neurological disorders. *Front Mol Neurosci* 12: 20. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00020>
116. *Ellaihy A, Younkin J, González-Maeso J, Logothetis DE* (2015) Positive allosteric modulators of metabotropic glutamate 2 receptors in schizophrenia treatment. *Trends Neurosci* 38(8): 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.06.002>
117. *Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD* (2007) Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: A randomized Phase 2 clinical trial. *Nature Med* 13(9): 1102–1107. <https://doi.org/10.1038/nm1632>
118. *Stauffer VL, Millen BA, Andersen S, Kinon BJ, LaGrandeur L, Lindenmayer JP, Gomez JC* (2013) Pomaglumetad methionil: No significant difference as an adjunctive treatment for patients with prominent negative symptoms of schizophrenia compared to placebo. *Schizophr Res* 150(2–3): 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.08.020>
119. *Hamadjida A, Nuara S, Gourdon J, Huot P* (2019). Allosteric and orthosteric activation of mGlu2 receptors to alleviate dyskinesia and psychosis in the parkinsonian marmoset. *The FASEB J* 33(S1): lb73–lb73. [https://doi.org/10.1096/fasebj.2019.33.1\\_supplement.lb73](https://doi.org/10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.lb73)
120. *Hanna L, Ceolin L, Lucas S, Monn J, Johnson B, Collingridge G, Bortolotto Z, Lodge D* (2013) Differentiating the roles of mGlu2 and mGlu3 receptors using LY541850, an mGlu2 agonist/mGlu3 antagonist. *Neuropharmacology* 66: 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.02.023>
121. *Nuara SG, Hamadjida A, Gourdon JC, Huot P* (2020) The mGlu2/3 antagonist LY-341,495 reverses the anti-dyskinetic and anti-psychotic effects of the mGlu2 activators LY-487,379 and LY-354,740 in the MPTP-lesioned marmoset. *J Neural Transmis* 127(7): 1013–1021. <https://doi.org/10.1007/s00702-020-02196-w>
122. *Chaki S* (2019) mGlu2/3 receptor antagonists. *Adv Pharmacol* 86: 97–120. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.03.004>
123. *Gaddum JH, Hammel KA* (1954) Drugs which antagonize 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol Chemother* 9(2): 240–248. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1954.tb00848.x>
124. *Woolley DW, Shaw E* (1954) A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proc Natl Acad Sci* 40(4): 228–231. <https://doi.org/10.1073/pnas.40.4.228>
125. *Katzung BG* (2017) *Basic and clinical pharmacology* 14th edition. McGraw Hill Professional: 512.

126. *Ceglia I, Carli M, Baviera M, Renoldi G, Calcagno E, Invernizzi RW* (2004) The 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist M100,907 prevents extracellular glutamate rising in response to NMDA receptor blockade in the mPFC. *J Neurochem* 91(1): 189–199.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02704.x>
127. *Chagraoui A, Thibaut F, Skiba M, Thuillez C, Bourin M* (2016) 5-HT<sub>2C</sub> receptors in psychiatric disorders: A review. *Progr Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 66: 120–135.  
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.12.006>
128. *Eggers AE* (2012) Extending David Horrobin's membrane phospholipid theory of schizophrenia: Overactivity of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> in the brain is caused by overdrive of coupled serotonergic 5HT<sub>2A/2C</sub> receptors in response to stress. *Med Hypotheses* 79(6): 740–743.  
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2012.08.016>
129. *Eggers AE* (2013) A serotonin hypothesis of schizophrenia. *Med Hypotheses* 80(6): 791–794.  
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.03.013>
130. *Mombereau C, Arnt J, Mørk A* (2017) Involvement of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the low propensity of brexpiprazole to induce extrapyramidal side effects in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 153: 141–146.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.12.015>
131. *de Boer SF, Koolhaas JM* (2005) 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists and aggression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *Eur J Pharmacol* 526(1–3): 125–139.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.09.065>
132. *Meltzer HY, Sumiyoshi T* (2008) Does stimulation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors improve cognition in schizophrenia? *Behav Brain Res* 195(1): 98–102.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.05.016>
133. *Albert PR* (2012) Transcriptional regulation of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor: Implications for mental illness. *Philosoph Transact Royal Soc B: Biol Sci* 367(1601): 2402–2415.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0376>
134. *Hereta M, Kamińska K, Rogóż Z* (2019) Co-treatment with antidepressants and aripiprazole reversed the MK-801-induced some negative symptoms of schizophrenia in rats. *Pharmacol Rep* 71(5): 768–773.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.04.007>
135. *Khan UA, Parveen U, Hasan N, Ahmed MZ, Saad S, Ahmad FJ, Jain GK* (2020) Parenteral sustained release lipid phase-transition system of ziprasidone: Fabrication and evaluation for schizophrenia therapy. *Drug Design, Develop Therapy* 14: 2237–2247.  
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S247196>
136. *Li J, Yoshikawa A, Brennan MD, Ramsey TL, Meltzer HY* (2018) Genetic predictors of antipsychotic response to lurasidone identified in a genome wide association study and by schizophrenia risk genes. *Schizophr Res* 192: 194–204.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.04.009>
137. *Javed A, Arthur H, Curtis L, Hansen L, Pappa S* (2019) Practical Guidance on the Use of Lurasidone for the Treatment of Adults with Schizophrenia. *Neurol Therapy* 8(2): 215–230.  
<https://doi.org/10.1007/s40120-019-0138-z>
138. *Frampton JE* (2019) Brexpiprazole: A Review in Schizophrenia. *Drugs* 79(2): 189–200.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-019-1052-5>
139. *Sokoloff P, le Foll B* (2017) The dopamine D<sub>3</sub> receptor, a quarter century later. *Eur J Neurosci* 45(1): 2–19.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.13390>
140. *Bruno A, Zoccali RA, Troili GM, Scala L, Pandolfo G, Cedro C, Mento C, Santoro V, Spina E, Muscatello MRA* (2020) Vortioxetine on Cognition in Schizophrenia: A Pilot Study. *J Clin Psychopharmacol* 40(4): 381–385.  
<https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001242>
141. *Pittalà V, Siracusa MA, Salerno L, Romeo G, Modica MN, Madjid N, Ogren SO* (2015) Analysis of mechanisms for memory enhancement using novel and potent 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands. *Eur Neuropsychopharmacol* 25(8): 1314–1323.  
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.04.017>
142. *Veldman ER, Svedberg MM, Svenningsson P, Lundberg J* (2017) Distribution and levels of 5-HT<sub>1B</sub> receptors in anterior cingulate cortex of patients with bipolar disorder, major depressive disorder and schizophrenia – An autoradiography study. *Eur Neuropsychopharmacol* 27(5): 504–514.  
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.02.011>
143. *Mao QQ, Huang Z, Ip SP, Xian YF, Che CT* (2011) Role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the antidepressant-like effect of piperine in the forced swim test. *Neurosci Lett* 504(2): 181–184.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.09.038>

144. *Bartram LA, Lozano J, Coury DL* (2019) Aripiprazole for treating irritability associated with autism spectrum disorders. *Expert Opinion Pharmacother* 20(12): 1421–1427. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1626825>
145. *Miszkiel J, Przegaliński E* (2013) Effects of serotonin (5-HT)<sub>1B</sub> receptor ligands on amphetamine-seeking behavior in rats. *Pharmacol Rep* 65(4): 813–822. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71062-4](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71062-4)
146. *Aznar S, Hervig MES* (2016) The 5-HT<sub>2A</sub> serotonin receptor in executive function: Implications for neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Neurosci Biobehav Rev* 64: 63–82. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.02.008>
147. *Meltzer HY, Elkis H, Vanover K, Weiner DM, van Kammen DP, Peters P, Hacksell U* (2012) Pimavanserin, a selective serotonin (5-HT)<sub>2A</sub>-inverse agonist, enhances the efficacy and safety of risperidone, 2mg/day, but does not enhance efficacy of haloperidol, 2mg/day: Comparison with reference dose risperidone, 6mg/day. *Schizophr Res* 141(2–3): 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2012.07.029>
148. *Яковлев ДС, Науменко ЛВ, Султанова КТ, Спасов АА* (2020) Гемореологические свойства 5-нт<sub>2a</sub>-антагониста производного 2-метоксифенил-имидазобензимидазола соединения ру-31 и ципрогептадина в сравнении с пентоксифиллином. *Фармация и фармакол* 8(5): 345–353. [*Yakovlev DS, Naumenko LV, Sultanova KT, Spasov AA* (2020) Hemorheological properties of the 5-ht<sub>2a</sub>-antagonist of the 2-methoxyphenyl-imidazobenzimidazole derivative of the ru-31 compound and cyproheptadine, in comparison with pentoxifylline. *Pharmacy & Pharmacol* 8(5): 345–353. (In Russ)]. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-5-345-353>
149. *Baltzersen OB, Meltzer HY, Frokjaer VG, Raghava JM, Baandrup L, Fagerlund B, Larsson HBW, Christian Fibiger H, Glenthøj BY, Knudsen GM, Ebdrup BH* (2020) Identification of a serotonin 2a receptor subtype of schizophrenia spectrum disorders with pimavanserin: The sub-sero proof-of-concept trial protocol. *Front Pharmacol* 11: 591. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00591>
150. *Preller KH, Schilbach L, Pokorny T, Flemming J, Seifritz E, Vollenweider FX* (2018) Role of the 5-HT<sub>2A</sub> Receptor in Self- and Other-Initiated Social Interaction in Lysergic Acid Diethylamide-Induced States: A Pharmacological fMRI Study. *J Neurosci* 38(14): 3603–3611. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1939-17.2018>
151. *Rambousek L, Palenicek T, Vales K, Stuchlik A* (2014) The effect of psilocin on memory acquisition, retrieval, and consolidation in the rat. *Front Behav Neurosci* 8:180. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00180>
152. *Sakloth F, Leggett E, Moerke MJ, Townsend EA, Banks ML, Negus SS* (2019) Effects of acute and repeated treatment with serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor agonist hallucinogens on intracranial self-stimulation in rats. *Exp Clin Psychopharmacol* 27(3): 215–226. <https://doi.org/10.1037/pha0000253>
153. *Shah UH, Gaitonde SA, Moreno JL, Glennon RA, Dukat M, González-Maeso J* (2019) Revised Pharmacophore Model for 5-HT<sub>2A</sub> Receptor Antagonists Derived from the Atypical Antipsychotic Agent Risperidone. *ACS Chem Neurosci* 10(5): 2318–2331. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00637>
154. *Ebdrup BH, Rasmussen H, Arnt J, Glenthøj B* (2011) Serotonin 2A receptor antagonists for treatment of schizophrenia. *Expert Opinion Investigat Drugs* 20(9): 1211–1223. <https://doi.org/10.1517/13543784.2011.601738>
155. *Wang SM, Han C, Lee SJ, Jun TY, Patkar AA, Masand PS, Pae CU* (2017) Investigational dopamine antagonists for the treatment of schizophrenia. *Expert Opinion Investig Drugs* 26(6): 687–698. <https://doi.org/10.1080/13543784.2017.1323870>
156. *Keefe RSE, Harvey PD, Khan A, Saoud JB, Staner C, Davidson M, Luthringer R* (2018) Cognitive effects of MIN-101 in patients with schizophrenia and negative symptoms: Results from a randomized controlled trial. *J Clin Psychiatry* 79(3): 17m11753. <https://doi.org/10.4088/JCP.17m11753>
157. *Vyas P, Hwang BJ, Brašić JR* (2020) An evaluation of lumateperone tosylate for the treatment of schizophrenia. *Expert Opinion Pharmacother* 21(2): 139–145. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1695778>
158. *Султанова КТ, Яковлев ДС, Мальцев ДВ, Мирошников МВ, Морковина ЯВ, Анисимова ВА, Морковник АС* (2018) Анксиолитические свойства соединения РУ-31. *Вестн Волгоградск гос мед универ* 3(67): 28–32 [*Sultanova KT, Yakovlev DS, Mal'cev DV, Miroshnikov MV, Morkovina JaV, Anisimova VA, Morkovnik AS* (2018) Anxiolytical properties of compound ru-31. *Volgograd Med J* 3(67): 28–32. (In Russ)]. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2018-3\(67\)-28-32](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2018-3(67)-28-32)
159. *Pogorelov VM, Rodriguiz RM, Cheng J, Huang M, Schmerberg CM, Meltzer HY, Roth BL, Koziowski AP, Weisel WC* (2017) 5-HT<sub>2C</sub> Agonists Modulate Schizophrenia-Like Behaviors in

- Mice. *Neuropsychopharmacology* 42(11): 2163–2177.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.52>
160. *Rosenzweig-Lipson S, Comery TA, Marquis KL, Gross J, Dunlop J* (2012) 5-HT<sub>2C</sub> agonists as therapeutics for the treatment of schizophrenia. *Handbook Exp Pharmacol* 213: 147–165.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-642-25758-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-642-25758-2_6)
161. *Shen JH, Zhao Y, Rosenzweig-Lipson S, Popp D, Williams JB, Giller E, Detke MJ, Kane JM* (2014) A 6-week randomized, double-blind, placebo-controlled, comparator referenced trial of vabicaserin in acute schizophrenia. *J Psychiatr Res* 53:14–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.02.012>
162. *Pogorelov VM, Rodriguiz RM, Cheng J, Huang M, Schmerberg CM, Meltzer HY, Roth BL, Koziowski AP, Weisel WC* (2017) 5-HT<sub>2C</sub> Agonists Modulate Schizophrenia-Like Behaviors in Mice. *Neuropsychopharmacology* 42(11): 2163–2177.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.52>
163. *Wood MD, Heidbreder C, Reavill C, Ashby CR, Middlemiss DN* (2001) 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonists: Potential in schizophrenia. *Drug Development Res* 54(2): 88–94.  
<https://doi.org/10.1002/ddr.1208>
164. *Lo Iacono L, Ielpo D, Parisi C, Napoli G, Accoto A, Di Segni M, Babicola L, D'Addario SL, Guzzo SM, Pascucci T, Ventura R, Andolina D* (2021) MicroRNA-34a regulates 5-HT<sub>2C</sub> expression in dorsal raphe and contributes to the anti-depressant-like effect of fluoxetine. *Neuropharmacology* 190: 108559.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108559>
165. *Gravius A, Dekundy A, Vanaga A, Franke L, Danysz W* (2017) Further pharmacological characterization of eltopazine: focus on its anxiolytic, anorexic, and adverse-effect potential. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 77(1): 77–85.  
<https://doi.org/10.21307/ane-2017-038>
166. *Kishi T, Mukai T, Matsuda Y, Iwata N* (2014) Selective serotonin 3 receptor antagonist treatment for schizophrenia: Meta-analysis and systematic review. *Neuromol Med* 16(1): 61–69.  
<https://doi.org/10.1007/s12017-013-8251-0>
167. *Zheng W, Cai D bin, Zhang QE, He J, Zhong LY, Sim K, Ungvari GS, Ning YP, Xiang YT* (2019) Adjunctive ondansetron for schizophrenia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Psychiatr Res* 113: 27–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.02.024>
168. *du Jardin KG, Jensen JB, Sanchez C, Pehrson AL* (2014) Vortioxetine dose-dependently reverses 5-HT depletion-induced deficits in spatial working and object recognition memory: A potential role for 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonism and 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonism. *Eur Neuropsychopharmacol* 24(1): 160–171.  
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.07.001>
169. *Ellenbroek BA, Prinssen EPM* (2015) Can 5-HT<sub>3</sub> antagonists contribute toward the treatment of schizophrenia? *Behav Pharmacol* 26(1–2): 33–44.  
<https://doi.org/10.1097/fbp.000000000000102>
170. *Ahmadi-Mahmoodabadi N, Nasehi M, Emam Ghoreishi M, Zarrindast MR* (2016) Synergistic effect between prelimbic 5-HT<sub>3</sub> and CB1 receptors on memory consolidation deficit in adult male Sprague-Dawley rats: An isobologram analysis. *Neuroscience* 317: 173–183.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.010>
171. *Bading-Taika B, Akinyeke T, Magana AA, Choi J, Ouanesisouk M, Torres ERS, Lione LA, Maier CS, Bobe G, Raber J, Miranda CL, Stevens JF* (2018) Phytochemical characterization of Tabernanthe iboga root bark and its effects on dysfunctional metabolism and cognitive performance in high-fat-fed C57BL/6J mice. *J Food Bioact* 3: 111–123.  
<https://doi.org/10.31665/jfb.2018.3154>
172. *Sumaya IC, Bailey D, Catlett SL* (2016) Differential effects of a short-term high-fat diet in an animal model of depression in rats treated with the 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist, ondansetron, the 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist, 2-methyl-5-HT, and the SSRI, fluoxetine. *Pharmacol Biochem Behav* 144: 78–84.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.03.005>
173. *Jack T, Simonin J, Ruepp MD, Thompson AJ, Gertsch J, Lochner M* (2015) Characterizing new fluorescent tools for studying 5-HT<sub>3</sub> receptor pharmacology. *Neuropharmacology* 90: 63–73.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.11.007>
174. *Marazziti D, Baroni S, Pirone A, Giannaccini G, Betti L, Schmid L, Vatteroni E, Palego L, Borsini F, Bordi F, Piano I, Gargini C, Castagna M, Catena-Dell'Osso M, Lucacchini A* (2012) Distribution of serotonin receptor of type 6 (5-HT<sub>6</sub>) in human brain post-mortem. A pharmacology, autoradiography and immunohistochemistry study. *Neurochem Res* 37(5): 920–927.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-011-0684-y>
175. *Ochi S, Inoue S, Yoshino Y, Shimizu H, Iga JI, Ueno SI* (2019) Efficacy of asenapine in schizophrenia resistant to clozapine combined with electroconvulsive therapy: A case report. *Clin*

- Psychopharmacol Neurosci 17(4): 559–563.  
<https://doi.org/10.9758/cpn.2019.17.4.559>
176. *Morozova M, Burminskiy D, Rupchev G, Lepilkina T, Potanin S, Beniashvili A, Lavrovsky Y, Vostokova N, Ivashchenko A* (2017) 5-HT6 Receptor Antagonist as an Adjunct Treatment Targeting Residual Symptoms in Patients With Schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 37(2): 169–175.  
<https://doi.org/10.1097/jcp.0000000000000673>
177. *Rychtyk J, Partyka A, Gdula-Argasińska J, Mysłowska K, Wileczyńska N, Jastrzębska-Więsek M, Wesołowska A* (2019) 5-HT6 receptor agonist and antagonist improve memory impairments and hippocampal BDNF signaling alterations induced by MK-801. *Brain Res* 1722: 146375.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146375>
178. *Pereira M, Martynhak BJ, Andreatini R, Svenningsson P* (2015) 5-HT6 receptor agonism facilitates emotional learning. *Front Pharmacol* 6: 200.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00200>
179. *Suárez-Santiago JE, Briones-Aranda A, Espinosa-Raya J, Picazo O* (2017) Agonist E-6837 and antagonist SB-271046 of 5-HT6 receptors both reverse the depressive-like effect induced in mice by subchronic ketamine administration. *Behav Pharmacol* 28 (7): 582–585.  
<https://doi.org/10.1097/fbp.0000000000000327>
180. *Balcer OM, Seager MA, Gleason SD, Li X, Rasmussen K, Maxwell JK, Nomikos G, Degroot A, Witkin JM* (2019) Evaluation of 5-HT7 receptor antagonism for the treatment of anxiety, depression, and schizophrenia through the use of receptor-deficient mice. *Behav Brain Res* 360: 270–278.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.12.019>
181. *Maxwell J, Gleason SD, Falcone J, Svensson K, Balcer OM, Li X, Witkin JM* (2019) Effects of 5-HT7 receptor antagonists on behaviors of mice that detect drugs used in the treatment of anxiety, depression, or schizophrenia. *Behav Brain Res* 359: 467–473.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.019>
182. *Carbonaro TM, Gatch MB* (2016) Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. *Brain Res Bull* 126(Pt 1): 74–88.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.04.016>
183. *Abi-Dargham A* (2007) Alterations of Serotonin Transmission in Schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 78: 133–164.  
[https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(06\)78005-9](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(06)78005-9)
184. *Guidotti A, Auta J, Davis JM, Dong E, Grayson DR, Veldic M, Zhang X, Costa E* (2005) GABAergic dysfunction in schizophrenia: New treatment strategies on the horizon. *Psychopharmacology* 180(2): 191–205.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-005-2212-8>
185. *Cansler HL, Wright KN, Stetzik LA, Wesson DW* (2020) Neurochemical organization of the ventral striatum's olfactory tubercle. *J Neurochem* 152(4): 425–448.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.14919>
186. *Martin-Lopez E, Xu C, Liberia T, Meller SJ, Greer CA* (2019) Embryonic and postnatal development of mouse olfactory tubercle. *Mol Cell Neurosci* 98: 82–96.  
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2019.06.002>
187. *Gonzalez-Burgos G, Cho RY, Lewis DA* (2015) Alterations in cortical network oscillations and parvalbumin neurons in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 77(12): 1031–1040.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.010>
188. *Kaar SJ, Angelescu I, Marques TR, Howes OD* (2019) Pre-frontal parvalbumin interneurons in schizophrenia: a meta-analysis of post-mortem studies. *J Neural Transmis* 126(12): 1637–1651.  
<https://doi.org/10.1007/s00702-019-02080-2>
189. *Сорокина НД, Перцов СС, Селицкий ГВ* (2018) Роль биоэлектрической активности головного мозга в диапазоне гамма-ритма в обеспечении психических процессов. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 104(10): 1163–1175 [*Sorokina ND, Percov SS, Selickij GV* (2018) Role of brain bioelectric activity in the range of gamma frequencies in mental processes. *Russ J Physiol* 104(10): 1163–1175. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.7868/s0869813918100040>
190. *Antonoudiou P, Tan YL, Kontou G, Louise Upton A, Mann EO* (2020) Parvalbumin and somatostatin interneurons contribute to the generation of hippocampal gamma oscillations. *J Neurosci* 40(40): 7668–7687.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0261-20.2020>
191. *McCutcheon RA, Krystal JH, Howes OD* (2020) Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. *World Psychiatry* 19(1): 15–33.  
<https://doi.org/10.1002/wps.20693>
192. *Garbutt JC, van Kammen DP* (1983) The interaction between GABA and dopamine: Implications for schizophrenia. *Schizophr Bull* 9(3): 336–353.  
<https://doi.org/10.1093/schbul/9.3.336>

193. *Nair PC, McKinnon RA, Miners JO, Bastiampillai T* (2020) Binding of clozapine to the GABA<sub>B</sub> receptor: clinical and structural insights. *Mol Psychiatry* 25(9): 1910–1919. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0709-5>
194. *Werner FM, Coveñas R* (2017) Long-term administration of antipsychotic drugs in schizophrenia and influence of substance and drug abuse on the disease outcome. *Current Drug Abuse Rev* 10(1): 19–24. <https://doi.org/10.2174/1874473710666171020104524>
195. *John J, Kukshal P, Bhatia T, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Deshpande SN, Thelma BK* (2017) Possible role of rare variants in Trace amine associated receptor 1 in schizophrenia. *Schizophr Res* 189: 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.02.020>
196. *Schwartz MD, Canales JJ, Zucchi R, Espinoza S, Sukhanov I, Gainetdinov RR* (2018) Trace amine-associated receptor 1: a multimodal therapeutic target for neuropsychiatric diseases. *Expert Opin Therap Targets* 22(6): 513–526. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1480723>
197. *Полякова НВ, Виноградова ЕП, Александров АА, Гайнетдинов РР* (2018) Преимпульсное торможение у мышей-нокаутов по TAAR1 рецептору. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 104(9):1098–1105 [*Poljakova NV, Vinogradova EP, Aleksandrov AA, Gajnetdinov RR* (2018) Prepulse inhibition in the TAAR1 knockout mice. *Russ J Physiol* 104(9): 1098–1105. (In Russ)]. <https://doi.org/10.7868/s0869813918090083>
198. *Муртазина РЗ, Гайнетдинов РР* (2019) Трансгенные животные в экспериментальной фармакологии: фокус на рецепторах следовых аминов. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105(11): 1373–1380 [*Murtazina RZ, Gainetdinov RR* (2019) Transgenic Animal Models in Experimental Pharmacology: Focus on Trace Amine-Associated Receptors. *Russ J Physiol* 105(11): 1373–1380. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/s0869813919110098>
199. *Espinoza S, Leo D, Sotnikova TD, Shahid M, Kääriäinen TM, Gainetdinov RR* (2018) Biochemical and functional characterization of the trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) agonist RO5263397. *Front Pharmacol* 9: 645. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00645>
200. *Dodd S, F Carvalho A, Puri BK, Maes M, Bortolasci CC, Morris G, Berk M* (2021) Trace Amine-Associated Receptor 1 (TAAR1): A new drug target for psychiatry? *Neurosci Biobehav Rev* 120: 537–541. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.09.028>
201. *Espinoza S, Sukhanov I, Efimova EV, Kozlova A, Antonova KA, Illiano P, Leo D, Merkulyeva N, Kalinina D, Musienko P, Rocchi A, Mus L, Sotnikova TD, Gainetdinov RR* (2020) Trace Amine-Associated Receptor 5 Provides Olfactory Input Into Limbic Brain Areas and Modulates Emotional Behaviors and Serotonin Transmission. *Front Mol Neurosci* 13: 18. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00018>
202. *Белов ДР, Фесенко ЗС, Лакстыгал АМ, Гайнетдинов РР, Колодяжный СФ* (2018) Эффект агониста рецептора TAAR5 следовых аминов как модель шизофрении по данным электрокортикографии крыс. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 104(11): 1275–1290 [*Belov DR, Fesenko ZS, Lakstygai AM, Gainetdinov RR, Kolodyazhnyi SF* (2020) Effects of a Trace Amine-Associated Receptor TAAR5 Agonist as a Model of Schizophrenia Using Electroencephalography Data from Rats. *Russ J Physiol* 104(11): 1275–1290. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/s0869813918110023>
203. *Rutigliano G, Zucchi R* (2020) Molecular Variants in Human Trace Amine-Associated Receptors and Their Implications in Mental and Metabolic Disorders. *Cell Mol Neurobiol* 40(2): 239–255. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00743-y>
204. *Khaitak NA, Sehgal SA, Bai Y, Deng Y* (2017) Structure modeling and molecular docking studies of schizophrenia candidate genes, synapsins 2 (SYN2) and trace amino acid receptor (TAAR6). In: *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*: 291–301. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-59575-7\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59575-7_26)
205. *Johansson EM, Bouchet D, Tamouza R, Ellul P, Morr AS, Avignone E, Germi R, Leboyer M, Perron H, Groc L* (2020) Human endogenous retroviral protein triggers deficit in glutamate synapse maturation and behaviors associated with psychosis. *Sci Advanc* 6(29):eabc0708. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abc0708>
206. *Breier A, Buchanan RW, D'Souza D, Nuechterlein K, Marder S, Dunn W, Preskorn S, Macaluso M, Wurfel B, Maguire B, Kakar R, Highum D, Hoffmeyer D, Coskinas E, Litman R, Vohs JL, Radnovich A, Francis MM, Metzler E, Visco A, Mehdiyoun N, Yang Z, Zhang Y, Yolken RH, Dickerson FB* (2019) Herpes simplex virus 1 infection and valacyclovir treatment in schizophrenia:

- Results from the VISTA study. *Schizophr Res* 206: 291–299.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.11.002>
207. *Altamura AC, Buoli M, Pozzoli S* (2014): Comparison with schizophrenia. *Psychiatr Clin Neurosci* 68(1): 21–36.  
<https://doi.org/10.1111/pcn.12089>
208. *Nettis MA, Pariante CM, Mondelli V* (2020) Early-Life Adversity, Systemic Inflammation and Comorbid Physical and Psychiatric Illnesses of Adult Life. *Current Topics Behav Neurosci* 44: 207–225.  
[https://doi.org/10.1007/7854\\_2019\\_89](https://doi.org/10.1007/7854_2019_89)
209. *Trépanier MO, Hopperton KE, Mizrahi R, Mechawar N, Bazinet RP* (2016) Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: A systematic review. *Mol Psychiatry* 21(8): 1009–1026.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2016.90>
210. *Markkanen E, Meyer U, Dianov GL* (2016) Dna damage and repair in schizophrenia and autism: Implications for cancer comorbidity and beyond. *Int J Mol Sci* 17(6): 856.  
<https://doi.org/10.3390/ijms17060856>
211. *Stellet P, Cabungcal JH, Monin A, Dwir D, O'Donnell P, Cuenod M, Do KQ* (2016) Redox dysregulation, neuroinflammation, and NMDA receptor hypofunction: A “central hub” in schizophrenia pathophysiology? *Schizophr Res* 176(1): 41–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.06.021>
212. *Cabungcal JH, Stellet P, Kraftsik R, Cuenod M, Do KQ* (2013) Early-life insults impair parvalbumin interneurons via oxidative stress: Reversal by N-acetylcysteine. *Biol Psychiatry* 73(6): 574–582.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.09.020>
213. *Зубарева ОЕ, Клименко ВМ* (2011) Повышение уровня провоспалительных цитокинов в раннем возрасте как фактор риска развития нервной и психической патологии. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 97(10): 1048–1059 [*Zubareva OE, Klimenko VM* (2011) Elevation of proinflammatory cytokines level at early age as the risk factor of neurological and mental pathology development. *Russ J Physiol* 97(10): 1048–1059. (In Russ)].
214. *Pardo-de-Santayana G, Juncal-Ruiz M, Vázquez-Bourgon J, Riesco-Dávila L, Ortiz-García de la Foz V, Pelayo-Terán JM, López-Hoyos M, Crespo-Facorro B* (2021) Active psychosis and proinflammatory cytokines in first-episode of psychosis. *J Psychiatr Res* 134: 150–157.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.12.060>
215. *Rodrigues-Amorim D, Rivera-Baltanás T, Spuch C, Caruncho HJ, González-Fernández Á, Olivares JM, Agís-Balboa RC* (2018) Cytokines dysregulation in schizophrenia: A systematic review of psychoneuroimmune relationship. *Schizophr Res* 197: 19–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.11.023>
216. *Al-Asmari AK, Khan MW* (2014) Inflammation and schizophrenia: Alterations in cytokine levels and perturbation in antioxidative defense systems. *Human Exp Toxicol* 33(2): 115–122.  
<https://doi.org/10.1177/0960327113493305>
217. *Uptegrove R, Khandaker GM* (2020) Cytokines, Oxidative Stress and Cellular Markers of Inflammation in Schizophrenia. *Current Topics Behav Neurosci* 44: 49–66.  
[https://doi.org/10.1007/7854\\_2018\\_88](https://doi.org/10.1007/7854_2018_88)
218. *Piccioli P, Rubartelli A* (2013) The secretion of IL-1 $\beta$  and options for release. *Seminars Immunol* 25(6): 425–429.  
<https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.007>
219. *Трофимов АН, Зубарева ОЕ, Шварц АП, Ищенко АМ, Клименко ВМ* (2014) Экспрессия генов FGF2 и TIMP1 в мозге взрослых крыс после введения интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 100(9): 1025–1037 [*Trofimov AN, Zubareva OE, Shvarc AP, Ishhenko AM, Klimenko VM* (2014) The administration of interleukin-1 $\beta$  during early postnatal development impairs FGF2, but not TIMP1, mRNA expression in brain structures of adult rats. *Russ J Physiol* 100(9): 1025–1037. (In Russ)].
220. *Stapel B, Sieve I, Falk CS, Bleich S, Hilfiker-Kleiner D, Kahl KG* (2018) Second generation atypical antipsychotics olanzapine and aripiprazole reduce expression and secretion of inflammatory cytokines in human immune cells. *J Psychiatr Res* 105: 95–102.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.08.017>
221. *Giridharan V, Scaini G, Colpo GD, Doifode T, Pinjari OF, Teixeira AL, Petronilho F, Macêdo D, Quevedo J, Barichello T* (2020) Clozapine Prevents Poly (I:C) Induced Inflammation by Modulating NLRP3 Pathway in Microglial Cells. *Cells* 9(3): 577.  
<https://doi.org/10.3390/cells9030577>
222. *Kindler J, Lim CK, Weickert CS, Boerrigter D, Galletly C, Liu D, Jacobs KR, Balzan R, Bruggermann J, O'Donnell M, Lenroot R, Guillemin GJ, Weickert TW* (2020) Dysregulation of kynurenine metabolism is related to proinflammatory cytokines, attention, and prefrontal cortex volume in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 25(11): 2860–2872.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0401-9>

223. Hunter CA, Jones SA (2015) IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunol* 16(5): 448–457.  
<https://doi.org/10.1038/ni.3153>
224. Garcia-Rizo C, Fernandez-Egea E, Oliveira C, Justicia A, Bernardo M, Kirkpatrick B (2012) Inflammatory markers in antipsychotic-naïve patients with nonaffective psychosis and deficit vs. nondeficit features. *Psychiatr Res* 198(2): 212–215.  
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.08.014>
225. Kluge M, Schuld A, Schacht A, Himmerich H, Dalal MA, Wehmeier PM, Hinze-Selch D, Kraus T, Dittmann RW, Pollmächer T (2009) Effects of clozapine and olanzapine on cytokine systems are closely linked to weight gain and drug-induced fever. *Psychoneuroendocrinology* 34(1): 118–128.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.08.016>
226. Juncal-Ruiz M, Riesco-Dávila L, Ortiz-García de la Foz V, Martínez-García O, Ramírez-Bonilla M, Ocejó-Viñals JG, Leza JC, López-Hoyos M, Crespo-Facorro B (2018) Comparison of the anti-inflammatory effect of aripiprazole and risperidone in 75 drug-naïve first episode psychosis individuals: A 3 months randomized study. *Schizophr Res* 202: 226–233.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.06.039>
227. Seki Y, Kato TA, Monji A, Mizoguchi Y, Horikawa H, Sato-Kasai M, Yoshiga D, Kanba S (2013) Pretreatment of aripiprazole and minocycline, but not haloperidol, suppresses oligodendrocyte damage from interferon- $\gamma$ -stimulated microglia in co-culture model. *Schizophr Res* 151(1–3): 20–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.09.011>
228. Romeo B, Brunet-Lecomte M, Martelli C, Benyamina A (2018) Kinetics of cytokine levels during antipsychotic treatment in schizophrenia: A meta-Analysis. *Int J Neuropsychopharmacol* 21(9): 828–836.  
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy062>
229. Hayley S, Wall P, Anisman H (2002) Sensitization to the neuroendocrine, central monoamine and behavioural effects of murine tumor necrosis factor- $\alpha$ : Peripheral and central mechanisms. *Eur J Neurosci* 15(6): 1061–1076.  
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.01936.x>
230. Ajami A, Abedian F, Hamzeh Hosseini S, Akbarian E, Alizadeh-Navaei R, Taghipour M (2014) Serum TNF- $\alpha$ , IL-10 and IL-2 in schizophrenic patients before and after treatment with risperidone and clozapine. *Iran J Immunol: IJI* 11(3): 200–209.
231. Faisal IM, Almukhtar HM, Merkhan MM, Alobaidi RW (2019) Comparative anti-inflammatory effect of risperidone versus olanzapine in schizophrenic patients. *Indian J Publ Health Res Develop* 10(8): 964–969.  
<https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.02019.9>
232. Maurer M, von Stebut E (2004) Macrophage inflammatory protein-1. *Int J Biochem Cell Biol* 36(10): 1882–1886.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.10.019>
233. Vidal PM, Pacheco R (2020) The Cross-Talk Between the Dopaminergic and the Immune System Involved in Schizophrenia. *Front Pharmacol* 11: 394.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00394>
234. Müller N, Weidinger E, Leitner B, Schwarz MJ (2016) In: *The Neurobiology of Schizophrenia*. Eds Abel T, Nickl-Jockschat T. Acad Press: 179–193.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801829-3.00019-7>
235. Müller N (2018) Inflammation in schizophrenia: Pathogenetic aspects and therapeutic considerations. *Schizophr Bull* 44(5): 973–982.  
<https://doi.org/10.1093/schbul/sby024>
236. Костюкова АБ, Мосолов СН (2013). Нейровоспалительная гипотеза шизофрении и некоторые новые терапевтические подходы. *Совр терапия псих расстройств* (4): 8–17 [Kostyukova AB, Mosolov SN (2013) Neuroinflammatory hypothesis of schizophrenia and new therapeutical approaches. *Sovrem ter psih rasstrojstv* (Current Therapy of Mental Disorders) (4): 8–17. (In Russ)].
237. Mongan D, Ramesar M, Föcking M, Cannon M, Cotter D (2020) Role of inflammation in the pathogenesis of schizophrenia: A review of the evidence, proposed mechanisms and implications for treatment. *Early Interv Psychiatry* 14(4): 385–397.  
<https://doi.org/10.1111/eip.12859>
238. Rodríguez B, Nani JV, Almeida PGC, Brietzke E, Lee RS, Hayashi MAF (2020) Neuropeptides and oligopeptidases in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev* 108: 679–693.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.11.024>
239. Tschumi CW, Beckstead MJ (2018) Neurotensin speeds inhibition of dopamine neurons through temporal modulation of GABAA and GABAB receptor-mediated synaptic input. *Neuropharmacology* 131: 414–423.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.01.004>

240. Singh S, Khanna D, Kalra S (2020) Role of Neurochemicals in Schizophrenia. *Current Psychopharmacol* 9(2): 144–161. <https://doi.org/10.2174/2211556009666200401150756>
241. Borroto-Escuela DO, Pintsuk J, Schäfer T, Friedland K, Ferraro L, Tanganelli S, Liu F, Fuxe K (2016) Multiple D2 heteroreceptor complexes: new targets for treatment of schizophrenia. *Ther Adv Psychopharmacol* 6(2): 77–94. <https://doi.org/10.1177/2045125316637570>
242. Woodworth HL, Brown JA, Batchelor HM, Bugescu R, Leininger GM (2018) Determination of neurotensin projections to the ventral tegmental area in mice. *Neuropeptides* 68: 57–74. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.02.003>
243. Kost NV, Meshavkin VK, Khashaba EY, Sokolov OY, Voevodina ME, Zolotarev YA, Andreeva LA, Myasoedov NF (2014) Neurotensin-like peptides as potential antipsychotics: modulation of the serotonin system. *Bull Exp Biol Med* 157(6): 738–741. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2656-0>
244. Moustafa SR, Al-Rawi KF, Stoyanov D, Al-Dujaili AH, Supasitthumrong T, Al-Hakeim HK, Maes M (2020) The Endogenous Opioid System in Schizophrenia and Treatment Resistant Schizophrenia: Increased Plasma Endomorphin 2, and  $\kappa$  and  $\mu$  Opioid Receptors Are Associated with Interleukin-6. *Diagnostics (Basel)* 10(9):633. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/diagnostics10090633>
245. Hu M, Zheng P, Xie Y, Boz Z, Yu Y, Tang R, Jones A, Zheng K, Huang XF (2018) Propionate Protects Haloperidol-Induced Neurite Lesions Mediated by Neuropeptide Y. *Front Neurosci* 12: 743. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00743>
246. Gulliver D, Werry E, Reekie TA, Katte TA, Jorgensen W, Kassiou M (2019) Targeting the Oxytocin System: New Pharmacotherapeutic Approaches. *Trends Pharmacol Sci* 40(1): 22–37. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.11.001>
247. Vyas P, Hwang BJ, Brasic JR (2020) An evaluation of lumateperone tosylate for the treatment of schizophrenia. *Expert Opinion Pharmacother* 21 (2): 139–145. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1695778>

### Pharmacological Targets and the Mechanism of Action of Antipsychotic Agents in the Framework of the Neurochemical Theory of the Pathogenesis of Schizophrenia

K. Y. Kalitin<sup>a, b</sup>, A. A. Spasov<sup>a, b</sup>, O. Y. Mukha<sup>a, \*</sup>, G. V. Pridvorov<sup>a, b</sup>, and V. A. Lipatov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

<sup>b</sup>Scientific Center for Innovative Drugs, Volgograd, Russian Federation

\*e-mail: olay.myha14@gmail.com

Schizophrenia is associated with neurochemical, morphological, bioelectrical and behavioral changes that make up the system of mutually complementary pathophysiological theories. In this paper, we review the neurochemical theory of the pathogenesis of schizophrenia from the standpoint of neuropsychopharmacology in order to explain and understand the mechanism of action of antipsychotic drugs. The relationship between neurochemical, genetic and immunological factors for schizophrenia is described. The paper provides up-to-date information on ligands, receptor targets and secondary messengers that are involved in the pathogenesis of schizophrenia and psychosis with a detailed explanation of their physiological role and their connections at the neurochemical, anatomical, functional and effector levels of the brain connective organization.

**Keywords:** schizophrenia, antipsychotic drugs, neuroleptics, neuropsychopharmacology, dopamine, serotonin, glutamate, cytokines, neuropeptid

**ФОНОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЩНОСТИ ЭЭГ КАК КОРРЕЛЯТЫ  
ВЕРБАЛЬНЫХ И НЕВЕРБАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КРЕАТИВНОСТИ  
И ИНТЕЛЛЕКТА**

© 2021 г. О. М. Разумникова\*

*Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия*

*\*E-mail: razout@mail.ru*

Поступила в редакцию 17.01.2021 г.

После доработки 23.02.2021 г.

Принята к публикации 07.03.2021 г.

Интенсивные исследования нейрофизиологических коррелятов креативности последних лет выявили связь фоновой активности мозга (в том числе активности DMN – “сети в режиме по умолчанию”) и показателей креативности. Однако не ясны пока специфические компоненты такой активности, определяющие высокий уровень вербальной или невербальной креативности, и значение интеллектуальных способностей для успешного решения экспериментального творческого задания. Баланс фоновой активности фронтальных и задних отделов коры может отражать индивидуальный стиль решения проблемы, в качестве индикаторов такого баланса рассматриваются осцилляции разных частотных диапазонов. В связи с этим нами был выполнен анализ частотно-пространственной организации фоновой ЭЭГ, который выявил различия в мощности дельта-, тета-, альфа 2- и бета 2-ритмов в группах, дифференцированных по показателям оригинальности ответов при тестировании вербальной и образной креативности. Более высоким креативным способностям соответствуют большие значения мощности низкочастотных биоэлектрических потенциалов в передней части коры и снижение мощности альфа-ритма в задних отделах. “Преднастройка” активности коры к вербальной оригинальности проявляется преимущественно в височных и центрально-париетальных областях коры, а к образной – для париетально-окципитальных. Вклад зрительно-пространственного компонента интеллекта в связанные с образной креативностью изменения активности коры представлен в большей степени на частоте дельта- и альфа 2-ритма, а вклад вербального компонента интеллекта в “преднастройку” нейронных систем коры для вербальной креативности – на частоте тета- и бета 2-диапазона. Следовательно, анализ частотно-пространственной организации активности коры головного мозга может быть полезным инструментом для выявления роли интеллектуальных способностей и эмоционально-мотивационной регуляции при формировании разных стратегий достижения высокого уровня креативности.

*Ключевые слова:* креативность, интеллект, ритмы ЭЭГ, фронто-париетальная система мозга, частотно-пространственная координация ритмов ЭЭГ

**DOI:** 10.31857/S0869813921080100

Интенсивные исследования нейрофизиологических коррелятов креативности, особенно активно развернувшиеся в последние годы, показали информационное значение организации сетей покоя (или фоновой активности мозга) для успешного выполнения экспериментальных задач, требующих оригинального решения [1–5].

Особое внимание в этом направлении уделяется изучению функций фронто-париетальной системы (FPN), фронтальные отделы которой связывают с организацией исполнительного контроля при выборе оригинального ответа, а париетальные — с поиском разнообразных идей решения поставленной проблемы [1, 6–8]. Кооперация функций FPN и DMN (default mode network) рассматривается как основа индивидуального разнообразия стратегий поиска ответа при тестировании как вербальной, так и образной креативности [5, 9]. Динамичная реорганизация этих систем с включением регионарно широко представленных нейронных структур, в том числе левой средней височной извилины и слуховой системы, характерна для вербальной креативности [10]. Данные других исследований указывают, что FPN является медиатором связи вербальной креативности с активностью передней части DMN, а визуальной креативности — с ее задней частью [5] или с латеральными изменениями показателя функциональной связности в дорзолатеральной префронтальной коре [11].

Представление о доминировании правого полушария при решении экспериментальных творческих заданий (например, [12]) изменилось в ходе накопления данных о функциональной активности мозга. Показано, например, участие левой дорзолатеральной префронтальной коры [13] или левой передней сингулярной коры [14] при выборе оригинального решения в ходе тестирования невербальной креативности.

Следовательно, для понимания закономерностей формирования разных функциональных нейронных систем, обеспечивающих разные формы креативности, требуются дополнительные исследования.

Имеется множество доказательств функциональной реорганизации FPN и DMN как основы дальнейшей реализации разных когнитивных функций, в том числе и креативности, и интеллектуальных способностей [1, 15–19]. Специализация взаимодействия этих систем заключается в том, что интеллект отражает систему “легкого” достижения функционального состояния с включением правой верхней париетальной области при низких интеграционных способностях левой ретросплениальной коры, а креативность — систему “сложного” переключения связности корковых областей с центром в правой дорзолатеральной префронтальной коре при высоких интеграционных способностях сенсомоторной коры [20].

Для изучения функционального значения фонового состояния мозга используются не только его томографические, но и энцефалографические характеристики [11, 21–24]. Среди разных частотных диапазонов ЭЭГ чаще других рассматривается синхронизация/десинхронизация альфа-колебаний, отражающая процессы торможения/активации в нейронных сетях, связанные как с показателями креативности, так и интеллекта (IQ) [15, 21, 26, 27]. Показано, что вариативность флюидного IQ связана с обновлением рабочей памяти, тогда как предикторами креативности является не только этот компонент исполнительской системы, но и тормозные функции [25]. Баланс фоновой активности фронтальных и задних отделов коры может отражать индивидуальный стиль решения проблемы, в том числе предпочтение инсайтной или аналитической стратегии [25, 28, 29], причем в качестве индикаторов такого баланса рассматриваются как альфа-, так и низкочастотные дельта-, тета-, и высокочастотные бета-осцилляции [8, 23, 30–32]. Дельта-ритм представляет интерес для анализа его связи с креативностью, так как увеличение его мощности отражает подавление усвоенного доминантного поведения и указывает на эффективность нового обучения, а тета- и бета-осцилляции рассматриваются как энцефалографические корреляты функций DMN и FPC [30, 33].

Ранее нами было показано усиление взаимодействия нейронных ансамблей передних областей коры с задними отделами левого полушария у лиц, характеризующихся сравнительно высокими показателями интеллекта и креативности по

сравнению с теми, кто обладал их меньшими значениями [34]. Дальнейшее исследование фоновой активности коры головного мозга показало, что фронтальные дельта- и бета-ритмы могут служить предикторами как невербальной креативности, так и вербального интеллекта [35].

Целью настоящего исследования стало выяснение частотно-пространственной специфики паттернов нейронных осцилляций, отражающей и вербальную, и невербальную креативность, и ее потенциальной связи со значениями вербальных и зрительно-пространственных компонентов интеллекта. Учитывая изложенные выше сведения, были сформулированы следующие гипотезы:

- Вербальные и зрительно-пространственные компоненты креативности и интеллекта имеют сходные ЭЭГ корреляты активности фронтальных областей коры.
- Вербальная креативность связана с активностью преимущественно височных областей коры, а невербальная – теменно-затылочных областей.
- Высоким показателям креативности соответствует “преднастройка” синхронизации низкочастотных и высокочастотных осцилляций ЭЭГ.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании принимали участие 37 человек (практически здоровые студенты, правши  $18 \pm 1.1$  лет; 27 девушек и 10 юношей), не проходившие медикаментозного лечения. Исследование было одобрено Этическим комитетом Факультета гуманитарного образования и информированное согласие было получено у всех участников исследования в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации 2013 г.

Для определения вербального (IQv) и зрительно-пространственного (IQs) компонентов интеллекта использовали тест структуры интеллекта Амтхауэра: средние значения выполнения двух вербальных (субтесты 2 и 3) и двух невербальных заданий (субтесты 7 и 8). Для оценки образной креативности применяли субтесты Торренса “Круги” и “Незавершенные фигуры”, вербальной – методику Гилфорда “Необычное использование обычного предмета” и составление осмысленного предложения с включением трех слов-стимулов (существительных из отдаленных семантических категорий). Показатели оригинальности ответов при выполнении трех первых методик вычисляли на основе соответствующей базы данных как число, обратное количеству таких же идей [36]. Оригинальность предложений оценивали подготовленные эксперты, имеющие опыт работы с данной методикой (альфа Кронбаха для полученных оценок составила 0.82).

Регистрацию ЭЭГ в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами выполняли с помощью аппаратуры и программного обеспечения “Мицар-201” в 19-ти отведениях ( $Fp_1, Fp_2, F_7, F_3, F_z, F_4, F_8, T_3, C_3, Cz, C_4, T_4, T_5, P_3, P_z, P_4, T_6, O_1, O_2$ ), расположенных согласно системе 10/20, с объединенным референтным ушным электродом. Частота дискретизации 500 Гц, полоса пропускания 0.5–70 Гц. Для анализа активности мозга выбирали 2-секундные безартефактные отрезки ЭЭГ (с перекрытием 50%) общей длительностью 60 с. Для каждого отведения методом быстрого преобразования Фурье вычисляли спектральную плотность ЭЭГ в шести частотных диапазонах: дельта (1–4 Гц), тета (4–7 Гц), альфа1 (7–10 Гц), альфа 2 (10–13 Гц), бета 1 (13–20 Гц) и бета 2 (20–30 Гц).

Для статистического анализа был использован пакет программ Statistica 13.3 (SN: JPB912J057923CNET2ACD-K). Для нормализации показателей мощности ЭЭГ применяли натуральный логарифм их значений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ частотно-пространственной организации фоновой активности коры головного мозга выполняли на основе сравнения групп, которые были сформированы делением выборки согласно полученным средним значениям показателей креативности и интеллекта для каждого субтеста. Выделенные таким образом группы с высоким (Гр1) или (Гр0) низким значением, соответственно для вербальной ГрВК1 и ГрВК0 и невербальной ГрОК1 и ГрОК0 креативности и для вербального ГрIQv1 и ГрIQv0 и невербального ГрIQs1 и ГрIQs0 интеллекта, различались по этим классификационным параметрам ( $p < 0.01$ ) и составу индивидов в группах (табл. 1).

**Таблица 1.** Средние значения показателей оригинальности при тестировании образных и вербальных компонентов креативности и интеллекта в сформированных группах, различающихся их уровнем

Группа	Образная			Вербальная			Интеллект			
	<i>n</i>	Круги	Фигуры	<i>n</i>	НИОП	СП	<i>n</i>	IQv	<i>n</i>	IQs
Гр0	22	0.8	2.8	20	0.8	2.8	20	100.0	20	100.9
Гр1	15	1.8	4.4	17	2.0	4.8	17	109.2	17	112.4

Круги и Фигуры – субтесты Торренса, НИОП – тест “Необычное использование обычного предмета”, СП – составление предложения с использованием трех слов их отдаленных семантических категорий, IQv и IQs – вербальный и зрительно-пространственный компоненты интеллекта соответственно.

Дисперсионный анализ показателей мощности ЭЭГ в каждом из шести выделенных диапазонов выполняли с независимой переменной ГРУППА (ВК(2), ОК(2), IQv(2) и IQs(2)). Зависимыми переменными были разные регионы коры в соответствии с гипотезами исследования: для изучения вклада исполнительской системы FPN – фронтальные ( $Fp_1, Fp_2, F_3, F_4, F_7, F_8$ ), DMN – расположенные по центральной линии ( $Fz, Cz, Pz$ ) и центрально-париетальные ( $C_3, C_4, P_3, P_4$ ) области, а для анализа значения вербальной или образной природы креативности и интеллекта – темпоральные ( $T_3, T_4, T_5, T_6$ ) и париетально-окципитальные ( $P_3, P_4, O_1, O_2$ ) области левого и правого полушария (т.е. переменные ОБЛАСТЬ и ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ). Анализ ANOVA выполняли с поправкой Гринхауза–Гейсера. Для выяснения причин обнаруженных эффектов использовали плановое сравнение показателей и post-hoc анализ данных с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Обнаруженные эффекты, свидетельствующие о влиянии факторов ГРУППА или их взаимодействии (в том числе групп, различающихся по креативности и интеллекту), с переменными ОБЛАСТЬ и ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ, сведены в табл. 2. Достоверные межгрупповые различия и регионарные особенности мощности биопотенциалов в каждом из шести диапазонов ЭЭГ, характеризующие Гр1, показаны на рис. 2.

Post-hoc анализ приведенных в табл. 2 эффектов показал, что на частоте дельта-колебаний ГрОК1 (отличающаяся высокими значениями образной оригинальности) характеризуется большей фоновой мощностью дельта-ритма в передней части коры (отведения  $Fp_1, Fp_2, F_3, F_4, F_7, F_8$  и  $Fz, Cz, Pz$ ) по сравнению с ГрОК0 (пример этого эффекта для  $Fz, Cz, Pz$  показан на рис. 1а).

Для ГрВК1 обнаружено, напротив, снижение мощности дельта-ритма по оси  $Fz, Cz, Pz$ . Взаимодействие ГрВК × ОБЛ для височных и центрально-париетальных об-

**Таблица 2.** Результаты анализа ANOVA с факторами ГРУППА, ОБЛАСТЬ, ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ для разных частотных диапазонов

Параметры	<i>F</i>	<i>df</i>	<i>p</i>	$\eta$	Эффект
<b>Диапазон Дельта</b>					
<b>Область коры Фронтальные (<i>Fp</i><sub>1</sub>, <i>Fp</i><sub>2</sub>, <i>F</i><sub>3</sub>, <i>F</i><sub>4</sub>, <i>F</i><sub>7</sub>, <i>F</i><sub>8</sub>)</b>					
ГрОК	5.35	1.33	0.027	0.14	ГрОК1 > ГрОК0 (1.24 ± 0.03 и 1.14 ± 0.03)
ГрIQv	4.36	1.33	0.045	0.12	ГрIQv1 < ГрIQv0 (1.13 ± 0.03 и 1.22 ± 0.03)
<b>Центральные (<i>Fz</i>, <i>Cz</i>, <i>Pz</i>)</b>					
ГрВК	3.82	2.66	0.034	0.10	ГрВК1: <i>Fz</i> < <i>Pz</i> . ГрВК0: <i>Fz</i> > <i>Pz</i> (рис. 1а)
ГрОК	4.86	1.33	0.035	0.13	ГрОК1 > ГрОК0 (1.26 ± 0.04 и 1.16 ± 0.03)
ГрОК × ГрIQs × ОБЛ	4.05	2.66	0.022	0.11	ГрОК0: <i>Fz</i> > <i>Cz</i> = <i>Pz</i> в ГрIQs1, но <i>Fz</i> < <i>Cz</i> < <i>Pz</i> в ГрIQs0; в ГрОК1 <i>Fz</i> = <i>Cz</i> = <i>Pz</i> независимо от IQs (рис. 1б)
<b>Височные (<i>T</i><sub>3</sub>, <i>T</i><sub>4</sub>, <i>T</i><sub>5</sub>, <i>T</i><sub>6</sub>)</b>					
ГрВК × ОБЛ	6.67	1.33	0.014	0.17	ГрВК0: <i>T</i> <sub>3</sub> , <i>T</i> <sub>4</sub> < <i>T</i> <sub>5</sub> , <i>T</i> <sub>6</sub> (0.83 ± 0.06 и 1.00 ± 0.07); ГрВК1: <i>T</i> <sub>3</sub> , <i>T</i> <sub>4</sub> = <i>T</i> <sub>5</sub> , <i>T</i> <sub>6</sub> (0.91 ± 0.07 и 0.92 ± 0.08)
<b>Центрально-париетальные (<i>C</i><sub>3</sub>, <i>C</i><sub>4</sub>, <i>P</i><sub>3</sub>, <i>P</i><sub>4</sub>)</b>					
ГрВК × ОБЛ	6.36	1.33	0.017	0.16	ГрВК0: <i>C</i> <sub>3</sub> , <i>C</i> <sub>4</sub> < <i>P</i> <sub>3</sub> , <i>P</i> <sub>4</sub> (1.06 ± 0.05 и 1.16 ± 0.06); ГрВК1: <i>C</i> <sub>3</sub> , <i>C</i> <sub>4</sub> = <i>P</i> <sub>3</sub> , <i>P</i> <sub>4</sub> (1.09 ± 0.06 и 1.11 ± 0.06)
ГрОК × ГрIQs × ОБЛ	9.89	1.33	0.004	0.23	ГрIQs0: <i>P</i> <sub>3</sub> , <i>P</i> <sub>4</sub> > <i>C</i> <sub>3</sub> , <i>C</i> <sub>4</sub> в ГрОК0; ГрIQs1: <i>P</i> <sub>3</sub> , <i>P</i> <sub>4</sub> > <i>C</i> <sub>3</sub> , <i>C</i> <sub>4</sub> в ГрОК1 (рис. 2)
ГрIQs × ОБЛ × ЛАТ	4.39	1.33	0.044	0.12	ГрIQs0: <i>P</i> <sub>4</sub> > <i>P</i> <sub>3</sub> (1.18 ± 0.04 и 1.06 ± 0.04) и <i>C</i> <sub>4</sub> < <i>C</i> <sub>3</sub> (1.09 ± 0.04 и 1.13 ± 0.04); ГрIQs1: <i>P</i> <sub>4</sub> = <i>P</i> <sub>3</sub> и <i>C</i> <sub>4</sub> = <i>C</i> <sub>3</sub> (1.13 ± 0.04 и 1.11 ± 0.04 и 1.08 ± 0.04 и 1.06 ± 0.04 соответственно)
<b>Тета</b>					
<b>Фронтальные (<i>Fp</i><sub>1</sub>, <i>Fp</i><sub>2</sub>, <i>F</i><sub>3</sub>, <i>F</i><sub>4</sub>, <i>F</i><sub>7</sub>, <i>F</i><sub>8</sub>)</b>					
ГрОК	4.18	1.33	0.049	0.11	ГрОК1 > ГрОК0 (0.70 ± 0.05 и 0.56 ± 0.04)
ГрВК × IQv × ОБЛ × ЛАТ	3.99	2.66	0.023	0.11	ГрIQv0: ГрВК1 > ГрВК0; IQv1: ГрВК1 < ГрВК0 во всех отведениях, за исключением F8 (рис. 2)
<b>Центральные (<i>Fz</i>, <i>Cz</i>, <i>Pz</i>)</b>					
ГрОК	6.10	1.33	0.019	0.16	ГрОК1 > ГрОК0 (0.94 ± 0.05 и 0.76 ± 0.05)
ГрВК × ОБЛ	3.25	2.66	0.050	0.09	ГрВК1: <i>Cz</i> > <i>Pz</i> . ГрВК0: <i>Cz</i> = <i>Pz</i>

Таблица 2. Продолжение

Параметры	$F$	$df$	$p$	$\eta$	Эффект
ГрIQv × ОБЛ	3.07	2.66	0.050	0.09	ГрIQv0: $P_z < C_z = F_z$ . ГрIQv1 $F_z = C_z = P_z$
Височные ( $T_3, T_4, T_5, T_6$ )					
ГрВК × ОБЛ	4.52	1.33	0.041	0.12	ГрВК0: $T_3, T_4 < T_5, T_6$ ; ГрВК1: $T_3, T_4 = T_5, T_6$ (рис. 2)
Центрально-париетальные ( $C_3, C_4, P_3, P_4$ )					
ГрОК	4.31	1.33	0.046	0.12	ГрОК1 > ГрОК0 ( $0.80 \pm 0.06$ и $0.63 \pm 0.05$ )
ГрВК × ОБЛ	8.35	2.66	0.007	0.20	ГрВК0: $C_3, C_4 < P_3, P_4$ ; ГрВК1: $C_3, C_4 > P_3, P_4$
ГрВК × ГрIQv × ОБЛ	7.00	2.66	0.012	0.17	ГрIQv0: $C_3, C_4 > P_3, P_4$ в ГрВК0 и $C_3, C_4 < P_3, P_4$ в ГрВК1; ГрIQv1: $C_3, C_4 = P_3, P_4$ в ГрВК1 и $C_3,$ $C_4 < P_3, P_4$ в ГрВК0
Париетально-окипитальные ( $P_3, P_4, O_1, O_2$ )					
ГрОК × ОБЛ × ЛАТ	6.51	1.33	0.016	0.16	ГрОК1: $O_1 > O_2$ . ГрОК0: $O_1 < O_2$
<b>Альфа 1</b>					
Височные ( $T_3, T_4, T_5, T_6$ )					
ГрВК × ОБЛ	7.14	1.33	0.011	0.18	ГрВК1 < ГрВК0 в $T_5, T_6$ (рис. 2); ГрВК0 = ГрВК1 в $T_3, T_4$
Центрально-париетальные ( $C_3, C_4, P_3, P_4$ )					
ГрВК × ОБЛ	5.05	1.33	0.031	0.13	ГрВК1 < ГрВК0 в $P_3, P_4$ (рис. 2); ГрВК0: $C_3, C_4 < P_3, P_4$
Париетально-окипитальные ( $P_3, P_4, O_1, O_2$ )					
ГрОК × ЛАТ	4.45	1.33	0.043	0.12	ГрОК1: $P_3, O_1 > P_4, O_1$ (рис. 2); ГрОК0: $P_3, O_1 < P_4, O_1$
ГрОК × ОБЛ × ЛАТ	4.71	1.33	0.037	0.12	ГрОК1: $O_1 > O_2$ ; ГрОК0: $O_1 < O_2$
<b>Альфа 2</b>					
Фронтальные ( $Fp_1, Fp_2, F_3, F_4, F_7, F_8$ )					
ГрОК	4.10	1.33	0.050	0.11	ГрОК1 > ГрОК0 ( $0.73 \pm 0.07$ и $0.55 \pm 0.06$ )
Центральные ( $F_z, C_z, P_z$ )					
ГрОК	4.77	1.33	0.036	0.13	ГрОК1 > ГрОК0 ( $1.16 \pm 0.08$ и $0.93 \pm 0.07$ )
Височные ( $T_3, T_4, T_5, T_6$ )					
ГрВК × ОБЛ	4.67	1.33	0.038	0.12	ГрВК1 > ГрВК0 в $T_3, T_4$ ; ГрВК1 < ГрВК0 в $T_5, T_6$
Центрально-париетальные ( $C_3, C_4, P_3, P_4$ )					
ГрОК	3.98	1.33	0.050	0.11	ГрОК1 > ГрОК0 ( $1.21 \pm 0.08$ и $0.98 \pm 0.07$ )
ГрОК × ГрIQs × ЛАТ	5.55	1.33	0.025	0.14	ГрОК1: $C_3, P_3 < C_4, P_4$ в ГрIQs0 и $C_3, P_3 > C_4, P_4$ в ГрIQs1

Таблица 2. Окончание

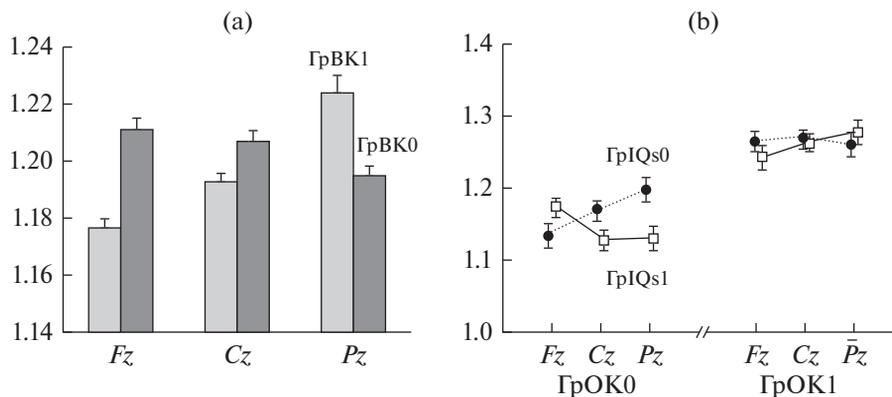
Параметры	<i>F</i>	<i>df</i>	<i>p</i>	$\eta$	Эффект
ГрВК × ОБЛ	4.03	1.33	0.050	0.11	ГрВК1 > ГрВК0 в $C_3, C_4$ , ГрВК1 = ГрВК0 в $P_3, P_4$
Париетально-окипитальные ( $P_3, P_4, O_1, O_2$ )					
ГрОК × ГрIQs × ЛАТ	4.26	1.33	0.047	0.11	ГрОК1: $O_1, P_3 < O_2, P_4$ в ГрIQs0 и $O_1, P_3 > O_2, P_4$ в ГрIQs1
ГрОК × ОБЛ × ЛАТ	6.39	1.33	0.016	0.16	ГрОК1: $O_1 > O_2$ , ГрОК0: $O_1 < O_2$
<b>Бета 1</b>					
Центральные ( $F_z, C_z, P_z$ )					
ГрВК × ОБЛ	6.97	2.66	0.002	0.17	ГрВК0: $P_z > C_z > F_z$ , ГрВК1: $P_z > C_z = F_z$
<b>Бета 2</b>					
Височные ( $T_3, T_4, T_5, T_6$ )					
ГрОК × ЛАТ	4.26	1.33	0.047	0.11	ГрОК1: $T_3, T_5 > T_4, T_6$ ГрОК0: $T_3,$ $T_5 < T_4, T_6$
Центрально-париетальные ( $C_3, C_4, P_3, P_4$ )					
ГрВК × IQv × ЛАТ	9.04	1.33	0.005	0.22	ГрВК1: $C_3, P_3 < C_4, P_4$ в ГрIQv0 и $C_3, P_3 > C_4, P_4$ в ГрIQv1
ГрВК × ОБЛ × ЛАТ	4.33	1.33	0.045	0.12	ГрВК0: $C_3 > C_4, P_3 < P_4$ ; ГрВК1: $C_3 = C_4$ и $P_3 = P_4$
Париетально-окипитальные ( $P_3, P_4, O_1, O_2$ )					
ГрОК × ЛАТ	10.55	1.33	0.003	0.24	ГрОК1: $P_3, O_1 > P_4, O_2$ ; ГрОК0: $P_3, O_1 < P_4, O_2$
ГрОК × ОБЛ × ЛАТ	8.49	1.33	0.006	0.20	ГрОК1: $O_1 > O_2$ , ГрОК0: $O_1 < O_2$

ГрВК и ГрОК – группы с высоким или низким уровнем вербальной и образной оригинальности соответственно, ГрIQv и ГрIQs – высокого и низкого вербального и зрительно-пространственного интеллекта; ОБЛ и ЛАТ – зависимые переменные область коры и латеральность для мощности биопотенциалов в шести частотных диапазонах. В правом столбце таблицы представлено описание полученных эффектов.

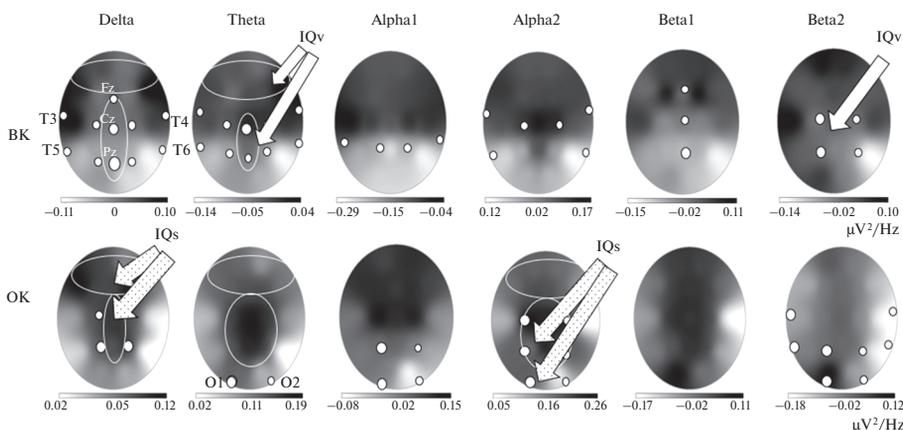
ластей коры было связано с большей мощностью дельта-ритма в задневисочных и париетальных отведениях по сравнению с передне-височными и центральными в ГрВК0 при отсутствии достоверных различий для ГрВК1 (см. табл. 2).

Взаимодействие ГрОК × ГрIQs × ОБЛ для отведений  $F_z, C_z, P_z$  обусловлено разнонаправленными градиентами мощности дельта-ритма в ГрОК0: с его повышением в заднем направлении при низком интеллекте (ГрIQs0), но снижении при высоком (рис. 1b); при этом эффект большей мощности дельта-колебаний в ГрОК1 не зависел от уровня IQ. Взаимодействие ГрОК × ГрIQs × ОБЛ для центрально-париетальных областей было связано с тем, что ГрОК1 характеризовалась большими значениями дельта-ритма в париетальных по сравнению с центральными отведениями при высоких значениях IQs, сопровождающихся отсутствием асимметрии показателей мощности (рис. 2), которая отмечалась у лиц из ГрIQs0 (взаимодействие IQs × ОБЛ × ЛАТ).

В тета-диапазоне для ГрОК1 сохраняется эффект больших значений мощности биопотенциалов в сравнении с ГрОК0 для передних, центральных и центрально-теменных регионов коры (табл. 2, рис. 2). Латеральный эффект для ГрОК был



**Рис. 1.** Регионарные изменения мощности дельта-ритма, связанные с уровнем креативности (а) и интеллекта (б). ГрВК1, ГрВК0, ГрОК1 и ГрОК0 – группы с высоким или низким уровнем вербальной и образной оригинальности соответственно, и ГрIQs1 и ГрIQs0 – высокого и низкого зрительно-пространственного интеллекта.



**Рис. 2.** Карты разности мощности биопотенциалов при сравнении групп с высокой и низкой вербальной (ВК) и образной (ОК) креативностью в шести частотных диапазонах (delta–beta2). Белыми овалами отмечены области для общих эффектов ВК и ОК, кружками – отведения, для которых обнаружены регионарные различия в группах (в том числе регионарные эффекты для ГрВК1 и ГрОК1), стрелки указывают на области коры, для которых получен эффект взаимодействия креативности и соответствующего компонента интеллекта.

представлен в затылочной коре: ГрОК1 характеризовалась большей левополушарной мощностью тета-ритма, а ГрОК0 – правополушарной.

На этой частоте выявлены регионарные эффекты фоновой активности коры для ГрВК в височных и центрально-париетальных областях коры: ГрВК1 характеризовалась большим уровнем тета-осцилляций в Cz, чем в Pz, а ГрВК0 – в передне-височных, чем в задневисочных отведениях. Связанные с вербальной креативностью регионарные особенности тета-ритма зависимы от уровня IQv во фронтальных и центрально-париетальных областях коры с более выраженным градиентом в ГрIQv0 (см. табл. 2). На рис. 2 стрелками указаны эти области, и отмечены отведе-

ния, для которых обнаружены различия между ГрВК1 и ГрВК0, регионарные особенности показателей мощности приведены для ГрВК1.

По альфа 1-активности ГрВК различались в височной и центрально-париетальной коре с меньшими значениями мощности в ГрВК1, чем ГрВК0, а ГрОК – асимметрией мощности альфа-биопотенциалов в парието-окципитальных областях при больших левополушарных значениях мощности в ГрОК1, но правополушарных для ГрОК0 (табл. 2, указаны отведения, для которых обнаружены межгрупповые различия для ГрВК1 и ГрВК0, и эффект полушарной асимметрии для ГрОК1).

В альфа 2-диапазоне ГрОК1 характеризовалась большим уровнем мощности биопотенциалов в передних областях коры, а в центральных, париетальных и окципитальных связанная с образной креативностью фоновая активация коры менялась зависимым от IQs образом: характеризующая ГрОК1 мощность альфа 2-ритма для ГрIQs0 была ниже в левом, чем в правом полушарии, а для ГрIQs1 – наоборот, в правом (на рис. 2 показана карта мощности с асимметрией альфа 2 для лиц, принадлежащих к ГрIQs1 из ГрОК1). ГрВК1 отличалась от ГрВК0 большим уровнем альфа 2-ритма в центральных и передне-височных отведениях, а в задневисочных – напротив, меньшим (на рис. 2 отмечены эти отведения, интенсивность темного цвета указывает на большие значения альфа в Гр1, чем в Гр0; светлого – наоборот, большие значения мощности биопотенциалов в Гр0).

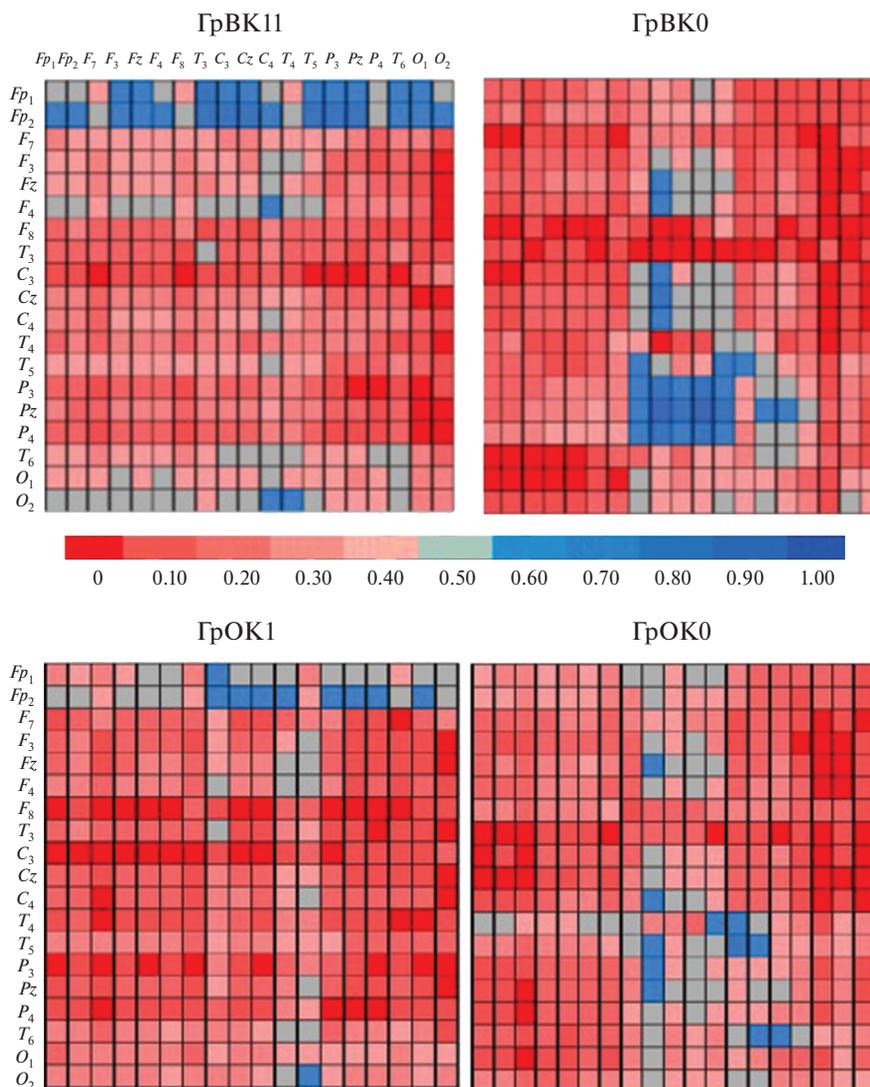
В бета 1-диапазоне взаимодействие ГрВК × ОБЛ обусловлено более выраженным градиентом мощности биопотенциалов в ГрВК0 с большими значениями в  $Pz$ , чем  $Fz$ .

Обнаруженные эффекты для бета 2-диапазона связаны с фактором ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ: для ГрОК – в височных и парието-окципитальных областях, а для ГрВК – в центрально-париетальных (табл. 2). ГрОК1 отличается большими значениями мощности левополушарного бета 2-ритма (рис. 2), а ГрОК0 – правополушарного; в ГрВК1 полушарная специфика латерального эффекта связана с уровнем IQv: доминирование левого полушария согласно большей мощности высокочастотных бета-биопотенциалов в ГрВК1 наблюдается при условии принадлежности к ГрIQv1 (рис. 2), а правого – к ГрIQv0. Взаимодействие ГрВК × ОБЛ × ЛАТ обусловлено разнонаправленным латеральным эффектом в мощности бета 2-колебаний в центральных и париетальных отведениях для ГрВК0 при отсутствии асимметрии в ГрВК1 (табл. 2).

Таким образом, полученные данные указывают, что большая часть различий в фоновой активности коры для групп, сформированных на основе разного уровня показателя оригинальности при тестировании креативности, представлена в низкочастотных дельта- и тета-диапазонах и высокочастотных альфа 2- и бета 2-диапазонах. Регионарная специфика фоновой ЭЭГ подтверждает гипотезу исследования: “преднастройка” к вербальной оригинальности преимущественно касается височных и центрально-париетальных областей коры, а к образной – париетально-окципитальных (см. рис. 2). Что касается градиента активности нейронных сетей в передне-заднем направлении, то можно заключить, что более высоким креативным способностям соответствуют большие значения низкочастотных биопотенциалов в передней части коры при относительно большей активации задних отделов на альфа-частоте.

Вклад IQs в связанные с образной креативностью изменения частотно-пространственной активности представлен на частоте дельта- и альфа 2-ритма, а вклад IQv в “преднастройку” нейронных систем коры для вербальной креативности – в тета- и бета 2-диапазонах.

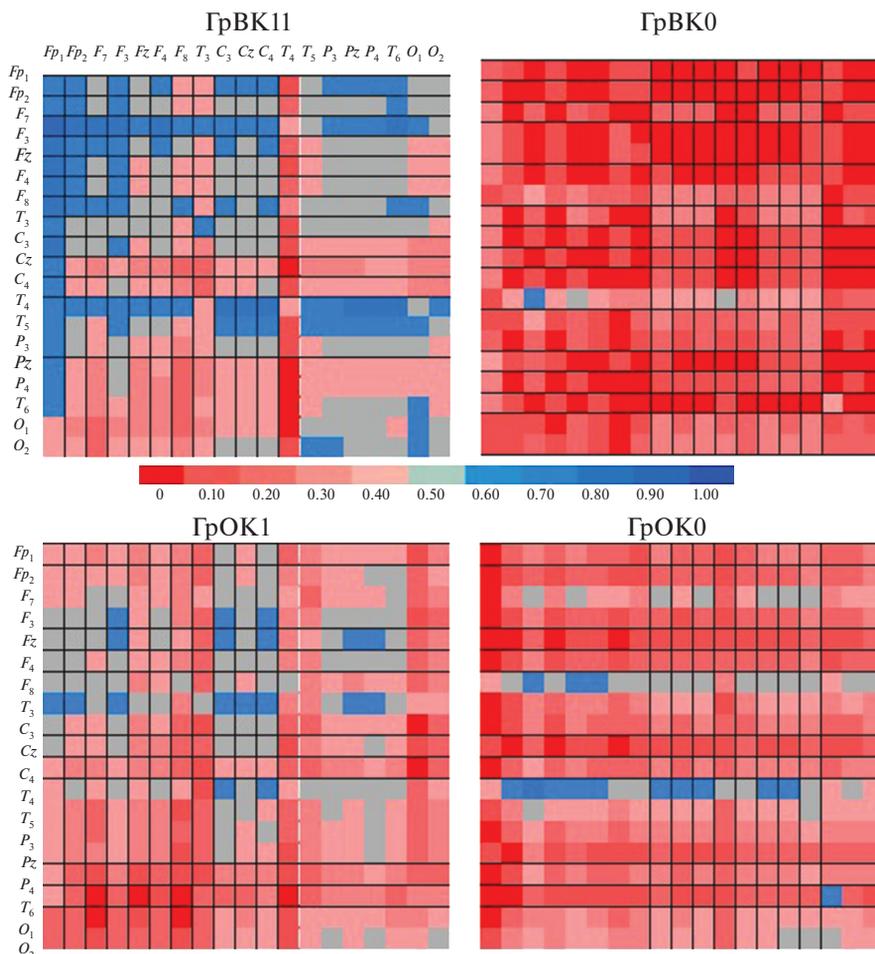
Учитывая выявленную информативность дельта- и альфа2-биопотенциалов в дифференциации высокой и сравнительно низкой оригинальности ответов при тестировании креативности, нами выполнен корреляционный анализ показателей



**Рис. 3.** Карты корреляций между дельта- (отведения по вертикали) и альфа 2- (отведения по горизонтали) ритмами для групп, различающихся более высокой (ГрВК1-вербальной, ГрОК1-образной) или низкой (ГрВК0, ГрОК0) оригинальностью ответов.

мощности этих ритмов для всех отведений биопотенциалов. Его результаты показаны на рис. 3.

Приведенные на рис. 3 карты корреляций указывают на разные формы организации взаимосвязи мощности дельта и альфа 2 в группах, различающихся уровнем вербальной или образной креативности (достоверные связи на приведенных картах начинаются для  $r > 0.45$  при  $p < 0.05$ ). Результаты межгруппового сравнения регионарных особенностей средних значений показателей корреляции свидетельствуют, что ГрВК1 отличается более выраженной положительной связью мощности дельта-колебаний в переднефронтальных отведениях и генерализованно



**Рис. 4.** Карты корреляций между тета- (отведения по вертикали) и бета 2- (отведения по горизонтали) ритмами для групп, различающихся более высокой (ГрВК1-вербальной, ГрОК1-образной) или низкой (ГрВК1, ГрОК0) оригинальностью ответов.

представленного альфа 2 по сравнению с ГрВК0 ( $r = 0.62$  и  $0.24, p = 0.03$ ), тогда как в ГрВК0 связь этих ритмов представлена в задних областях коры. Сравнительный анализ коэффициентов корреляции в отведениях  $C_3, Cz, C_4, P_3, Pz, P_4$  показывает большие значения в ГрВК0, чем ГрВК1 ( $r = 0.55$  и  $0.23, p = 0.05$ ). Такая же закономерность, но менее выраженная, прослеживается при сравнении корреляционных карт для ГрОК1 и ГрОК0 ( $r = 0.57$  и  $0.33, p = 0.10$  и  $r = 0.44$  и  $0.22, p = 0.20$  соответственно).

Аналогично выполненный корреляционный анализ тета- и бета 2-мощности выявил их тесную связь для ГрВК1: мощность тета-ритма в передней части коры, преимущественно в отведениях  $Fp_1, F_7$ , а также в  $T_4$  и  $T_5$ , положительно связана с широко представленными по коре бета 2-осцилляциями (рис. 4, корреляции значимы при  $r > 0.50, p < 0.05$ ). В ГрОК1 корреляции тета и бета 2 не такие высокие, в большей степени они представлены в центрально-париетальных отведениях. В ГрВК0 отмечены единичные связи показателей мощности этих ритмов, а в

ГрОК0 – только корреляция тета- в Т4 и Р3 с диффузно представленной по коре мощностью бета 2-колебаний.

Таким образом, фоновая активность мозга по-разному представлена в группах с высокой или низкой оригинальностью ответов при тестировании вербальной или образной креативности и связана с уровнем IQ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в результате межгруппового сравнения различия в фоновой мощности ЭЭГ указывают на более широко частотно- и регионарно представленные эффекты, связанные с уровнем креативности, чем IQ. Действительно, данные многочисленных исследований креативности последних лет отражают необходимость интеграции широко распределенных нейронных сетей, охватывающих не только корковые области, но и подкорковые структуры [3, 6, 9, 37]. При формировании ГрОК и ГрВК были использованы показатели оригинальности дивергентного мышления в разных условиях тестирования креативности: требующих в первую очередь отказа от стереотипного ответа (Круги и НИОП), либо скорее способностей к формированию отдаленных ассоциаций (Фигуры и СП). Следовательно, сформированные группы различаются не только средним уровнем оригинальности ответов, но и стратегиями его поиска вследствие разных условий тестирования, влияние которых было показано нами ранее при исследовании возрастных особенностей креативности [38].

Взаимодействие нейронных ансамблей распределенной системы FPN и DMN как основы для генерации концептуально нового решения при тестировании креативности показано ранее с применением томографических методов [39]. Эффективную координацию таких ансамблей может обеспечивать синхронизация медленноволновой активности в дельта- и тета-диапазонах согласно нашим данным, а также результатам другого исследования, в котором отмечена положительная связь дельта-колебаний и оригинальности дивергентного мышления [40]. Имеются, однако, данные о противоположном эффекте: десинхронизации дельта-осцилляций при создании уникального образа [41]. Такие противоречия могут быть связаны с различиями в субъективно оцениваемой сложности задачи и соответствующих изменениях в балансе активационных и тормозных процессов в коре [34, 42].

Сравнительно более локально регионарно и частотно представленную связь фоновой ЭЭГ и IQ можно объяснить в соответствии с гипотезой нейронной эффективности [43], то есть точно скоординированной и соответственно экономно функционирующей нейронной сетью для извлечения логически верного ответа при тестировании IQ. Другой причиной может быть менее выраженная по сравнению с креативностью разница по IQ в Гр0 и Гр1 (по уровню IQ группы различаются примерно на 10%, тогда как по показателю оригинальности – в 1.5–2 раза).

Обнаруженные эффекты взаимодействия креативности и IQ (ГрОК × ГрIQs × ОБЛ, ГрВК × ГрIQv × ОБЛ, ГрВК × IQv × ОБЛ × ЛАТ или ГрВК × IQv × ЛАТ) были представлены в передней части коры для низкочастотных дельта- и тета-диапазонов, функциональное значение которых связывают с процессами мотивации и эмоциональной регуляции когнитивной деятельности [44–46], и в задних участках коры для высокочастотных альфа 2 и бета 2, которые ассоциируются с семантической обработкой информации [47–50]. Можно предположить, что связь интеллекта и креативности опирается на два разных процесса: исполнительный контроль деятельности со стремлением к ее лучшему результату (функции FPN) и способности к поиску отдаленных ассоциаций с вовлечением обширных информационных ресурсов (функции DMN и париетальной системы внимания).

Разнонаправленные в ГрОК и ГрВК эффекты для дельта-колебаний в отведениих  $Fz$ ,  $Cz$ ,  $Pz$  (проекция DMN) можно объяснить большим вкладом вербальных интеллектуальных способностей в “преднастройку” нейронных сетей коры для организации дальнейшей когнитивной деятельности, сопровождающейся снижением активности DMN при ее повышении в FPN [51, 52]. В свою очередь обнаруженный разнонаправленный градиент мощности дельта-колебаний по оси  $Fz-Cz-Pz$ : с увеличением в заднем направлении для ГрВК1, но снижением для ГрВК0 (рис. 1А) с учетом регионарных особенностей взаимосвязи мощности дельта- и альфа2-ритмов (рис. 3) может отражать “преднастройку” к успешной креативной деятельности в ГрВК1 за счет ее мотивационного и исполнительного компонентов и соответствующей синхронизации дельта-биопотенциалов фронтальной коры и генерализованного по коре альфа 2-ритма (взаимосвязь систем FPN и DMN), тогда как в ГрВК0 такой эффект характерен для центрально-париетальных областей, что представляет, по-видимому, “автономное” состояние DMN. Подобие корреляционных карт для ГрВК1 и ГрОК1 как на частотах дельта–альфа 2, так и тета–бета 2 (рис. 3 и 4) можно рассматривать как подтверждение общего эффекта взаимодействия FPN и DMN, необходимого для поиска оригинального решения поставленной проблемы [1, 8, 9, 39].

ГрВК1 характеризуется более широко представленными и устойчивыми по сравнению с ГрОК1 паттернами корреляций низкочастотных и высокочастотных ритмов со сравнительно большим вовлечением височных отделов коры как специализированной основы вербальной креативности, тогда как анализ групп, различающихся образной креативностью, указывает на информативное значение функций задних отделов коры (см. рис. 2–4).

Обнаруженная на альфа 1,2-частоте большая синхронизация биопотенциалов в передней части коры для Гр1 по сравнению с Гр0 отражает, по-видимому, “преднастройку” фонового состояния мозга [29], ведущую к успешным процессам интернального внимания и торможения нерелевантной информации при дивергентном мышлении [26]. А эффект большей десинхронизации альфа-биопотенциалов в задних отделах коры применительно к вербальной или образной природе задания также подтверждает гипотезу исследования: вербальная креативность связана с изменениями активации преимущественно височных областей коры, а невербальная – теменно-затылочных областей (рис. 2).

Что касается эффекта ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ, то на низких частотах тета- и альфа 1-диапазона он указывает на большую активацию правого полушария как предпосылку к образной креативности (табл. 2, рис. 2). В более высокочастотных альфа 2 и бета 2 выраженность полушарной асимметрии связана с IQ: для лиц из ГрВК1 и ГрIQv1 фоновая активность центрально-париетальных отделов коры характеризуется большими значениями бета 2-ритма в левом полушарии, а для представителей ГрОК1 и IQs1 – это левополушарное доминирование отмечается не только согласно показателю бета 2-, но и альфа 2-ритма. Следовательно, спорный вопрос о связанном с креативностью полушарном доминировании [12–14] можно решить, учитывая вклад разных компонентов интеллекта.

Таким образом, анализ частотно-пространственной организации активности коры головного мозга может быть полезным инструментом для выявления вклада интеллектуальных способностей и эмоционально-мотивационной регуляции стратегий достижения высокого уровня креативности. Обнаруженное в нашей работе информативное значение альфа- и бета 2-осцилляций при сравнении лиц, различающихся уровнем креативности, согласуется с данными классификации вербальной креативности на основе машинного обучения [53]. Оценка фоновой активности мозга и психометрических показателей разных компонентов интеллекта и креативности представляет особый интерес при выборе режима транскраниальной

стимуляции для тренировки креативных способностей. В последнее время появилось множество таких работ (например, [54–56]), согласно результатам которых констатируется положительный эффект тренировки, однако механизм его достижения остается неясным [57], так как используются не только разные участки коры (чаще префронтальные области левого или правого полушария), но и совершенно разные частотные параметры воздействия на мозг.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Связанные с креативностью особенности частотно-пространственной организации фоновой ЭЭГ в максимальной степени представлены в диапазоне дельта-, тета-, альфа 2-ритмов и бета 2-ритмов. Более высоким креативным способностям соответствуют большие значения низкочастотных биопотенциалов в передней части коры при относительно большей активации задних отделов на альфа-частоте. Связанная с дифференциацией креативности фоновая активность коры на частоте бета 2-диапазона отражается изменениями в доминировании активности левого или правого полушария. “Преднастройка” активности коры к вербальной оригинальности проявляется преимущественно в височных и центрально-париетальных областях коры, а к образной – в париетально-окципитальных.

Взаимодействие зрительно-пространственного компонента интеллекта и образной креативности представлено в большей степени в фоновой активности коры на частоте дельта- и альфа-ритма, а вербального компонента интеллекта и вербальной креативности – на частоте тета- и бета 2-диапазона.

Следовательно, определение индивидуальных характеристик фоновой частотно-пространственной организации активности коры головного мозга может быть полезно для выяснения ресурсов креативности и оптимальных стратегий инновационной деятельности.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность А.А. Яшаниной, Е.А. Хорошавцевой и К.Д. Кривоноговой, принимавших участие в регистрации и первичной обработке ЭЭГ.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 19-015-00412 “Возрастные особенности активации фронто-париетальной системы и полушарная специфика нейрофизиологических характеристик, соотносимых с образной творческой деятельностью”.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Beatty RE, Benedek M, Wilkins RW, Jauk E* (2014) Creativity and the default network: A functional connectivity analysis of the creative brain at rest. *Neuropsychologia* 64: 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2014.09.019>
2. *Schuler A-L, Tik M, Sladky R, Luft CDB, Hoffmann A, Woletz M, Zioga I, Bhattacharya J, Windischberger C* (2019) Modulations in resting state networks of subcortical structures linked to creativity. *Neuroimage* 195: 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.03.017>
3. *Shi L, Sun J, Xia Y, Ren Z, Chen Q, Wei D, Yang W, Qiu J* (2018) Large-scale brain network connectivity underlying creativity in resting-state and task fMRI: Cooperation between default net-

- work and frontal-parietal network. *Biol Psychol* 135: 102–111.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2018.03.005>
4. *Sun J, Liu Z, Rolls ET, Chen Q, Yao Y, Yang W, Wei D, Zhang Q, Zhang J, Feng J* (2019) Verbal creativity correlates with the temporal variability of brain networks during the resting state. *Cerebr Cortex* 29 (3): 1047–1058.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00894>
  5. *Zhu W, Chen Q, Xia L, Beaty RE, Yang W, Tian F, Sun J, Cao G, Zhang Q, Chen X, Qiu J* (2017) Common and distinct brain networks underlying verbal and visual creativity. *Hum Brain Mapp* 38(4): 2094–2111.  
<https://doi.org/10.1002/hbm.23507>
  6. *Beaty RE, Seli P, Schacter DL* (2019) Network neuroscience of creative cognition: Mapping cognitive mechanisms and individual differences in the creative brain. *Curr Opin Behav Sci* 27: 22–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.08.013>
  7. *Gulbinaitė R, van Rijn H, Cohen MX* (2014) Fronto-parietal network oscillations reveal relationship between working memory capacity and cognitive control. *Front Human Neurosci* 8: 761.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00761>
  8. *Heinonen J, Numminen J, Hlushchuk Y, Antell H, Taatila V, Suomala J* (2016) Default Mode and Executive Networks areas: Association with the serial order in divergent thinking. *PLoS ONE* 11(9): e0162234.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162234>
  9. *Beaty RE, Kenett YN., Christensen AP, Rosenberg MD, Benedek M, Chen Q, Fink A, Qiu J, Kwapil TR, Kane MJ., Silvia PJ* (2018) Robust prediction of individual creative ability from brain functional connectivity. *Proc Nat Acad Sci* 115(5): 1087–1092.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1713532115>
  10. *Feng Q, He L, Yang W, Zhang Y, Wu X, Qiu J* (2019) Verbal creativity is correlated with the dynamic reconfiguration of brain networks in the resting state. *Front Psychol* 10: 894.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00894>
  11. *Li W, Yang J, Zhang Q, Li G, Qiu J* (2016) The association between resting functional connectivity and visual creativity. *Sci Rep* 6: 25395.  
<https://doi.org/10.1038/srep25395>
  12. *Mihov KM, Denzler M, Förster J* (2010) Hemispheric specialization and creative thinking: a meta-analytic review of lateralization of creativity. *Brain Cogn* 72(3): 442–448.  
<https://doi.org/10.1016/j.bandc.2009.12.007>
  13. *Aziz-Zadeh L, Liew SL, Dandekar F* (2013) Exploring the neural correlates of visual creativity. *Soc Cognitiv Affective Neurosci* 8: 475–480.  
<https://doi.org/10.1093/scan/nss021>
  14. *Hahm J, Kim KK, Park SH, Lee HM* (2017) Brain areas subserving torrance tests of creative thinking: an functional magnetic resonance imaging study. *Dementia and Neurocognitiv Disord* 16(2): 48–53.  
<https://doi.org/10.12779/dnd.2017.16.2.48>
  15. *Benedek M, Jung RE, Vartanian O* (2018) The neural bases of creativity and intelligence: Common ground and differences. *Neuropsychologia* 118 (Part A): 1–3.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2018.09.006>
  16. *Frith E, Elbich DB, Christensen AP, Rosenberg MD, Chen Q, Kane MJ, Silvia PJ, Seli P, Beaty RE* (2020) Intelligence and creativity share a common cognitive and neural basis. *J Exp Psychol Gen*.  
<https://doi.org/10.1037/xge0000958>
  17. *Jung RE, Haier RJ* (2007) The Parieto-Frontal Integration Theory (P-FIT) of intelligence: converging neuroimaging evidence. *Behav Brain Sci* 30(2): 135–154.  
<https://doi.org/10.1017/S0140525X07001185>
  18. *Lee KH, Choi YY, Gray JR, Cho SH, Chae JH, Lee S, Kim K* (2006) Neural correlates of superior intelligence: Stronger recruitment of posterior parietal cortex. *NeuroImage* 29: 578–586.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2005.07.036>
  19. *Pamplona GSP, Neto GSS, Rosset SRE, Rogers BP, Salmon CEG* (2015) Analyzing the association between functional connectivity of the brain and intellectual performance. *Front Human Neurosci* 9: 1–11.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00061>
  20. *Kenett YN, Medaglia JD, Beaty RE, Chen Q, Betzel RF, Thompson-Schill SL, Qiu J* (2018) Driving the brain towards creativity and intelligence: A network control theory analysis. *Neuropsychologia* 118 (PtA): 79–90.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2018.01.001>
  21. *Разумникова ОМ* (2009) Связь частотно-пространственных параметров фоновой ЭЭГ с уровнем интеллекта и креативности. *Журн высш нервн деятельн* 59(6): 686–695. [Ra-

- zumnikova OM (2009) Svyaz chastotno-prostranstvennyh parametrov fonovoi EEG s urovnem intellekta b kreativnosti. *Zurn Vysshei Nervn Deyatel'osti* 59(6): 686–695 (In Russ)].
22. Herrmann CS, Strüber D, Helfrich RF, Engel AK (2016) EEG oscillations: From correlation to causality. *Internat J Psychophysiol* 103: 12–21.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.003>
  23. Stevens CEJ, Zabelina DL (2019) Creativity comes in waves: An EEG-focused exploration of the creative brain. *Curr Opinion Behav Sci* 27: 154–162.  
<https://doi.org/10.31234/osf.io/ke6wq>
  24. Takeshi O, Aihara T, Shimokawa T, Yamashita O (2018) Large-scale brain network associated with creative insight: combined voxel-based morphometry and resting-state functional connectivity analyses. *Scient Rep* 8: 6477.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-24981-0>
  25. Benedek M, Jauk E, Sommer M, Arendasy M, Neubauer AC (2014) Intelligence, creativity, and cognitive control: The common and differential involvement of executive functions in intelligence and creativity. *Intelligence* 46: 73–83.  
<https://doi.org/10.1016/j.intell.2014.05.007>
  26. Benedek M, Bergner S, Könen T, Fink A, Neubauer AC (2011) EEG alpha synchronization is related to top-down processing in convergent and divergent thinking. *Neuropsychologia* 49: 3505–3511.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2011.09.004>
  27. Lustenberger C, Boyle MR, Foulser AA, Mellin JM, Fröhlich F (2015) Functional role of frontal alpha oscillations in creativity. *Cortex* 67: 74–82.  
<https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.03.012>
  28. Erickson B, Truelove-Hill M, Oh Y, Anderson J, Zhang FZ, Kounios J (2018) Resting-state brain oscillations predict trait-like cognitive styles. *Neuropsychologia* 120: 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2018.09.014>
  29. Kounios J, Fleck JI, Green DL, Payne L, Stevenson JL, Bowden EM, Jung-Beeman M (2008) The origins of insight in resting-state brain activity. *Neuropsychologia* 46: 281–291.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.07.013>
  30. Briley PM, Liddle EB, Groom MJ, Smith HJF, Morris PG, Colclough GL, Liddle PF (2018) Development of human electrophysiological brain networks. *J Neurophysiol* 120(6): 3122–3130.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00293.2018>
  31. Costa V (2014) The EEG as an index of neuromodulator balance in memory and mental illness. *Front Neurosci* 8: 63.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00063>
  32. Solomon EA, Kragel JE, Sperling MR, Sharan A, Worrell G, Kucewicz M, Inman CS, Lega B, Davis KA, Stein JM, Jobst BC, Zaghoul KA, Sheth SA, Rizzuto DS, Kahana MJ (2017) Widespread theta synchrony and high-frequency desynchronization underlies enhanced cognition. *Nat Communicat* 8: 1704.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-01763-2>
  33. Hacker CD, Snyder AZ, Pahwa M, Corbetta M, Leuthardt EC (2017) Frequency-specific electrophysiologic correlates of resting state fMRI networks. *Neuroimage* 149: 446–457.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.054>
  34. Разумникова OM (2009) Особенности селекции информации при креативном мышлении. *Психология. Журн Высшей школы экономики* 6(3): 134–161. [Разумникова OM (2009) Osobennosti selekcii infoemacii pri kreativnom myshlenii. *Zurn vysshei shkoly ekonomiki* 6(3): 134–161 (In Russ)].
  35. Razumnikova OM, Krivonogova KD (2019) Electroencephalographic correlates of the activity of the frontoparietal system as predictors of verbal intelligence and non-verbal creativity. *Rus Psychol J* 16 (2/1): 45–59.  
<https://doi.org/10.21702/rpj.2019.2.1.4>
  36. Разумникова OM (2002) Способы определения креативности. Новосибирск: НГТУ. [Разумникова OM (2002) Sposoby opredeleniya kreativnosti. Novosibirsk: NGTU (In Russ)].
  37. Sunavsky A, Poppenk J (2020) Neuroimaging predictors of creativity in healthy adults. *NeuroImage* 206: 116292.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116292>
  38. Разумникова OM, Казан ВА, Панова НВ (2020) Возрастная динамика показателей вербальной и образной креативности школьников. Комплексные исследования детства 2 (2): 72–79. [Razumnikova OM, Kagan VA, Panova NV (2020) Vozrastnaya dinamika pokazatelei verbalnoi i obraznoi kreativnosti. *Kompleksnyye issledovaniya detstva* 2 (2): 72–79 (In Russ)].  
<https://doi.org/10.33910/2687-0223-2020-2-2-72-79>
  39. Christensen AP, Benedek M, Silvia P, Beaty R (2019) Executive and default network connectivity reflects conceptual interference during creative imagery generation. *PsyArXiv Preprints*.  
<https://doi.org/10.31234/osf.io/n438d>

40. *Boot N, Baas M, Mühlfeld E, de Dreu CKW, van Gaal S* (2017) Widespread neural oscillations in the delta band dissociate rule convergence from rule divergence during creative idea generation. *Neuropsychologia* 104: 8–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2017.07.033>
41. *Foster PS, Williamson JB, Harrison DW* (2005) The ruff figural fluency test: heightened right frontal lobe delta activity as a function of performance. *Arch Clin Neuropsychol* 20: 427–434.  
<https://doi.org/10.1016/j.acn.2004.09.010>
42. *Dunst B, Benedek M, Jauk E, Bergner S, Koschutnig K, Sommer M, Ischebeck A, Spinath B, Arendasy M, Bühner M, Freudenthaler H, Neubauer AC* (2014) Neural efficiency as a function of task demands. *Intelligence* 42 (100): 22–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.intell.2013.09.005>
43. *Haier RJ, Siegel BV, Nuechterlein KH, Hazlett E, Wu JC, Paek J* (1988) Cortical glucose metabolic rate correlates of abstract reasoning and attention studied with positron emission tomography. *Intelligence* 12: 199–217.
44. *Knyazev GG* (2007) Motivation, emotion, and their inhibitory control mirrored in brain oscillations. *Neurosci Biobehav Rev* 31 (3): 377–395.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.10.004>
45. *Kropotov JD* (2009) Frontal midline theta rhythm. In: *Quantitative EEG, Event-Related Potentials and Neurotherapy* 77–95.
46. *Luo Q, Cheng X, Holroyd T, Xu D, Carver F, Blair J* (2014) Theta band activity in response to emotional expressions and its relationship with gamma band activity as revealed by MEG and advanced beamformer source imaging. *Front Human Neurosci* 7: 940.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00940>
47. *Doppelmayr M, Klimesch W, Hödlmoser K, Sauseng P, Gruber W* (2005) Intelligence related upper alpha desynchronization in a semantic memory task. *Brain Res Bull* 66(2): 171–177.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.04.007>
48. *Fellinger R, Grube W, Zaune A, Freunberge R, Klimesch W* (2012) Evoked traveling alpha waves predict visual-semantic categorization-speed. *NeuroImage* 59(4): 3379–3388.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.11.010>
49. *Drijvers L, Özyürek A, Jensen O* (2018) Alpha and beta oscillations index semantic congruency between speech and gestures in clear and degraded speech. *J Cognitive Neurosci* 30 (8): 1086–1097.  
[https://doi.org/10.1162/jocn\\_a\\_01301](https://doi.org/10.1162/jocn_a_01301)
50. *Terporten R, Schoffelen J-M, Dai B, Hagoort P, Kosem A* (2019) The relation between alpha/beta oscillations and the encoding of sentence induced contextual information. *Sci Rep* 9: 20255.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-56600-x>
51. *Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME* (2005) The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(27): 9673–9678.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0504136102>
52. *Riemer F, Grüner R, Beresniewicz J, Kazimierzczak K, Ersland L, Hugdahl K* (2020) Dynamic switching between intrinsic and extrinsic mode networks as demands change from passive to active processing. *Sci Rep* 10(1): 21463.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78579-6>
53. *Stevens CE Jr, Zabelina DL* (2020) Classifying creativity: Applying machine learning techniques to divergent thinking EEG data. *Neuroimage* 219: 116990.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116990>
54. *Khalil R, Karim AA, Kondinska A, Godde B* (2020) Effects of transcranial direct current stimulation of left and right inferior frontal gyrus on creative divergent thinking are moderated by changes in inhibition control. *Brain Structure & Function* 225(6): 1691–1704.  
<https://doi.org/10.1007/s00429-020-02081-y>
55. *Hertenstein E, Waibel E, Frase L, Riemann D, Feige B, Nitsche MA, Kaller CP, Nissen C* (2019) Modulation of creativity by transcranial direct current stimulation. *Brain Stimul* 12(5): 1213–1221.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.06.004>
56. *Ivanovsky T, Kurman J, Morio H, Shamay-Tsoory S* (2019) Transcranial direct current stimulation (tDCS) targeting the left inferior frontal gyrus: Effects on creativity across cultures. *Soc Neurosci* 14(3): 277–285.  
<https://doi.org/10.1080/17470919.2018.1464505>
57. *Lucchiari C, Sala PM, Vanutelli ME* (2018) Promoting creativity through transcranial direct current stimulation (tDCS). A critical review. *Front Behav Neurosci* 2 (12): 167.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00167>

## EEG Correlates of Verbal and Non-Verbal Components of Creativity and Intelligence

O. M. Razumnikova\*

*Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia*

*\*e-mail: razoum@mail.ru*

Intensive studies of neurophysiological correlates of creativity in recent years have revealed the association between resting brain activity (including DMN activity – “default mode network”) and indicators of creativity. However, the specific components of such activity, which determine high scores of verbal or non-verbal creativity, and the importance of intellectual abilities for the successful solution of experimental creative tasks are not yet clear. The balance of the resting activity in the frontal and parietal cortex may reflect the individual styles of problem solving; cortical oscillations in different frequency are considered as indicators of this balance. In this regard, we carried out an analysis of the frequency-spatial organization of the EEG at rest, which revealed differences in the power of delta, theta, alpha 2 and beta 2 rhythms in the groups differentiated by the originality of responses when testing verbal and figurative creativity. Higher creative abilities correspond to higher values of power of the low-frequency biopotentials in the anterior cortex together with a decrease of the alpha power in the posterior cortex. The “pre-tuning” of the activity of the cortex to verbal originality is manifested mainly in the temporal and central-parietal areas of the cortex, and to the figurative – for the parietal-occipital. The contribution of the visual-spatial component of intelligence to the changes in cortical activity associated with figurative creativity is presented to a greater extent at the frequency of the delta and alpha 2 rhythms, and the contribution of the verbal component of intelligence to the “pre-tuning” of the neural systems of the cortex for verbal creativity – at the frequency of the theta and beta 2 ranges. Consequently, the analysis of the frequency-spatial organization of the activity of the cerebral cortex can be a useful tool for identifying the effects of intellectual abilities and emotional-motivational regulation in forming different strategies for achieving a high level of creativity.

*Keywords:* creativity, intelligence, EEG rhythms, frontal-parietal system of the brain, frequency-spatial coordination of EEG rhythms

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО ПЛАВАТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ  
И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНОГО  
ПИРАЗОЛО[С]ПИРИДИНА ГИЖ-72 И ДИАЗЕПАМА  
У МЫШЕЙ BALB/C И C57BL/6**

© 2021 г. Н. В. Кудряшов<sup>1,2,\*</sup>, П. Л. Наплёкова<sup>1</sup>, А. В. Волкова<sup>1</sup>, К. А. Касабов<sup>1</sup>,  
В. Б. Наркевич<sup>1</sup>, В. С. Кудрин<sup>1</sup>, Т. С. Калинина<sup>1</sup>, Т. А. Воронина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет),  
Москва, Россия

\*E-mail: kunvi@mail.ru

Поступила в редакцию 20.02.2021 г.

После доработки 23.03.2021 г.

Принята к публикации 28.04.2021 г.

Изучено влияние острого плавательного стресса (ОПС) на поведенческие и нейрохимические эффекты производного пиразоло[С]пиридина ГИЖ-72 (20 мг/кг, в/б) и диазепам (1 мг/кг, в/б). Установлено, что через 1 ч после ОПС происходило усиление тревожных реакций в тесте “открытое поле” у мышей линии BALB/c и в тесте “закапывание шариков” у мышей линии C57BL/6. Через 24 ч наблюдалось ослабление тревожных реакций мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “открытое поле” и C57BL/6 в тесте “закапывание шариков”. Через 1 ч после ОПС происходило повышение уровня серотонина и снижение норадrenalина в гипоталамусе мышей BALB/c и C57BL/6, а в префронтальной коре – повышение норадrenalина, 3,4-диоксифенилуксусной кислоты и соотношения 3,4-диоксифенилуксусная кислота/дофамин у мышей линии BALB/c. Эти изменения коррелировали с усилением тревожных реакций, а их ослабление под действием ГИЖ-72, диазепам или через 24 ч после ОПС совпадало с ослаблением тревожных реакций мышей. Диазепам и ГИЖ-72 ослабляли тревожные реакции мышей BALB/c и C57BL/6 в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” при отсутствии стресса. Через 1 ч после ОПС эффекты ГИЖ-72 сохранялись в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6, в то время как эффекты диазепам сохранились у C57BL/6 и усиливались у BALB/c в тесте “открытое поле”. Через 24 ч эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” усиливались у мышей BALB/c, но ослаблялись и сопровождалась тенденцией к седативному эффекту у C57BL/6. Эффекты диазепам в “открытом поле” усиливались только у C57BL/6 и отсутствовали у BALB/c. Эффекты ГИЖ-72 и диазепам в тесте “закапывание шариков” через 24 ч после ОПС сохранялись у BALB/c, но не C57BL/6.

**Ключевые слова:** стресс, BALB/c, C57BL/6, диазепам, ГИЖ-72, анксиолитические средства, моноамины

**DOI:** 10.31857/S0869813921080082

Различные виды острых стрессовых воздействий, таких как хэндлинг, электрошок, принудительное плавание, воздействие углекислого газа и других, могут приводить к уменьшению плотности и аффинности ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов [1, 2]. Эти из-

менения обусловлены десенситизацией последних [3, 4], снижением синтеза и эксоцитоза ГАМК [2], нарушением биосинтеза эндогенных нейроактивных стероидов [5]. В ряде экспериментальных работ было обнаружено, что процедура “принудительное плавание” изменяет противосудорожный и анксиолитический эффекты бензодиазепинов, повышает судорожный порог у грызунов при применении антагонистов ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов [6–8]. Известно, что процедура “принудительное плавание” приводит к повышению уровней прогестерона и прегнановых нейроактивных стероидов (аллопрегнанолон и аллотетрагидродезоксикортикостерона) в тканях головного мозга и плазме крыс в течение часа после стрессовой экспозиции [5, 9, 10]. Кроме того, острый плавательный стресс (ОПС) продолжительностью не более 10 мин приводит к увеличению плотности митохондриального транслокационного белка 18 кДа (TSPO) через 24 ч после данной процедуры, который, как полагают, играет важную роль в регуляции биосинтеза эндогенных нейроактивных стероидов [11].

Известно, что фенотип эмоционально-стрессовой реакции играет важную роль в реализации анксиолитического эффекта производных бензодиазепина. В частности, у мышей линии C57BL/6, характеризующейся активной реакцией на стресс, бензодиазепины в малых дозах оказывают седативный эффект. В то же время у мышей линии BALB/c, характеризующейся фризинг-реакцией на стресс, наблюдают активирующее действие бензодиазепинов. При увеличении дозы седативный эффект развивается вне зависимости от линии мышей [12, 13].

В настоящее время накоплено большое количество данных о том, что различные виды острого стресса сопровождаются изменениями в моноаминергических системах головного мозга грызунов [14–16]. В то же время поведенческие и нейрохимические эффекты анксиолитических средств различной химической структуры в условиях ОПС остаются слабо изученными, что делает актуальным изучение свойств этих средств в условиях данной модели на мышцах с различными фенотипами эмоциональной реакции на стресс.

ГИЖ-72 (4,6-диметил-2-(4-хлорфенил)-2,3-дигидро-1H-пиразоло[4,3-С]пиридин-3-он, хлоралгидрат) – синтезированное в ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова производное пиразоло[С]пиридина, обладающее анксиолитическим и антидепрессивным эффектами, а также низкой токсичностью. Анксиолитический эффект ГИЖ-72 не только сохраняется, но и усиливается в условиях непредсказуемого хронического умеренного стресса и зависит от функциональной активности 5 $\alpha$ -редуктазы – одного из ключевых ферментов биосинтеза эндогенных нейростероидов [17].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния ОПС на поведенческие и нейрохимические эффекты производного пиразоло[С]пиридина ГИЖ-72 и диазепама у мышей с различными фенотипами эмоциональной реакции на стресс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Животные*

Опыты были проведены на 189 самцах мышей инбредной линии BALB/c и 189 самцах инбредной линии C57BL/6 массой 20–25 г (Питомник “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене освещенности день/ночь, свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводились в соответствии с Директивой Совета Европейского сообщества 2010/63/ЕЕС и решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств”.

### *Вещества*

В настоящей работе были использованы: 4,6-диметил-2-(4-хлорфенил)-2,3-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-С]пиридин-3-она хлоралгидрат (ГИЖ-72, 20 мг/кг) (ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова), диазепам (1 мг/кг; Sigma Aldrich). В качестве контроля использовали эквивалентный объем (0.1 мл на 10 г массы тела животного) 0.9%-ного раствора натрия хлорида с добавлением Tween-80 (Sigma Aldrich). Все вещества вводили в/б за 30 мин до поведенческих процедур.

### *Схема эксперимента*

Мыши инбредных линий BALB/с и С57BL/6 были разделены на две большие группы каждая: животные первой были подвергнуты процедуре “принудительное плавание”, второй – не были подвержены стрессовому воздействию. Животные каждой из этих групп были разделены на 6 подгрупп (по 8–9 животных в каждой), которым через 30 мин (3 группы) или 23.5 ч (3 группы) после “принудительного плавания” вводили следующие вещества: (1) 0.9%-ный изотонический раствор NaCl (контроль); (2) ГИЖ-72; (3) диазепам. Через 30 мин после введения веществ оценивали ориентировочно-исследовательскую активность и компульсивно-подобное поведение в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” соответственно. После окончания поведенческих тестов мышей декапитировали, выделяли структуры головного мозга и проводили оценку содержания моноаминов и их метаболитов.

### *Процедура “принудительное плавание”*

Для моделирования острого стресса мышей на 10 мин помещали в пластиковые цилиндры (высотой 30 см, диаметром 10 см), которые на 20 см заполняли водой при температуре 22°C, затем бережно высушивали и возвращали в боксы [18].

### *Тест “открытое поле”*

Для оценки тревожных реакций использовали установку “открытое поле” квадратной формы со сторонами 40 см и стенками высотой 22 см. Площадка установки была разделена на 25 одинаковых квадратов, в 9 центральных располагались 16 отверстий диаметром 2 см. Освещенность площадки составляла 300 лк, перед помещением на площадку мыши находились в темноте в течение 30 мин – в помещении с освещением 5 лк. В ходе теста регистрировали следующие параметры: периферическую горизонтальную двигательную активность у стенок установки, центральную горизонтальную двигательную активность, вертикальную активность и число обследованных отверстий в полу установки в течение 2 мин. При суммировании перечисленных параметров определяли *коэффициент ориентировочно-исследовательской реакции* ( $K_{OИР}$ ), по сумме горизонтальной периферической и центральной двигательной активности определяли *общую двигательную активность*, *индекс тревожности* определяли по соотношению центральной активности к сумме центральной и периферической активности, умноженному на 100%. Увеличение индекса тревожности являлось коррелятом ослабления тревожных реакций [19].

### *Тест “закапывание шариков”*

В качестве экспериментальной установки использовали индивидуальные поликарбонатные боксы для грызунов (31.5 × 23 × 15.7 см), которые на 5 см заполняли плотно утрамбованными опилками. Предварительно животных помещали в индивидуальные боксы с подстилкой на 30 мин с целью ознакомления. После предварительной посадки опилки вновь утрамбовывали и помещали на них 9 стеклянных

шариков диаметром 1.5 см. Мышей помещали в индивидуальные боксы с шариками на 30 мин, по истечению которых подсчитывали количество зарытых шариков (зарытыми считались шарики, погруженные в подстилку на 2/3 объема). В экспериментальной комнате поддерживали минимальный уровень шума и освещение в 100 лк [20].

#### *Определение содержания моноаминов и их метаболитов в ткани мозга*

Мышей декапитировали и извлекали на холоде (4°C) следующие структуры мозга: префронтальную кору, гиппокамп, полосатое тело и гипоталамус. Образцы ткани мозга хранились в жидком азоте в течение 2–3 недель до анализа. Структуры мозга гомогенизировали в 0.1 моль/л растворе  $\text{HClO}_4$  с добавлением в качестве внутреннего стандарта 0.5 нмоль/л дигидроксibenзиламина и центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин при температуре 4°C (центрифуга Eppendorf, Германия). Надосадочную жидкость отбирали и определяли в ней содержание моноаминов и их метаболитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией. Норадреналин (НА), дофамин (ДА) и его метаболиты – 3,4-диоксифенилуксусную кислоту (ДОФУК), гомованилиновую кислоту (ГВК) и 3-метокситирамин (3-МТ), серотонин (5-НТ) и его метаболит 5-оксииндолуксусную кислоту (5-ОИУК) разделяли на обращенно-фазной колонке (С18, 4 мкм, 150 × 4.6 мм, Phenomenex, Германия). Подвижная фаза содержала 0.1 моль/л цитратно-фосфатного буфера (рН 2.9), 1.85 ммоль/л 1-октансульфоновой кислоты, 0.27 ммоль/л этилендиаминтетраацетата натрия и 8% ацетонитрила. Скорость элюции подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин при давлении 200 атм. Измерение проводили с помощью электрохимического детектора (BAS LC-4В, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl [21].

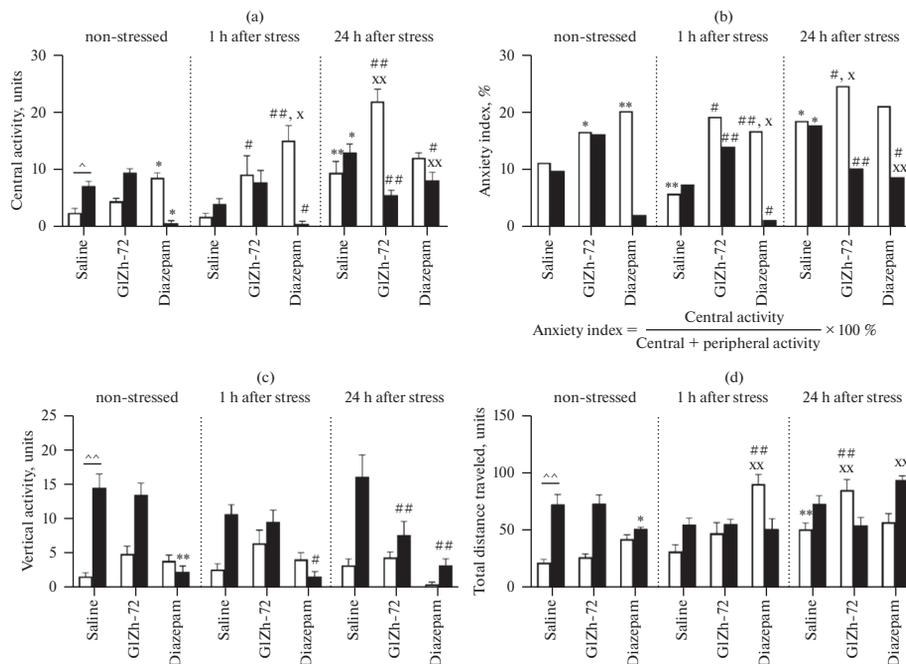
#### *Статистический анализ*

Обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., США). Проверка результатов на нормальность распределения осуществляли по критерию Шапиро–Уилка, после чего данные были представлены в виде средних значений по группе с указанием стандартной ошибки среднего. Отличия между группами определяли по методу трехфакторного дисперсионного анализа с последующим *post-hoc* анализом по критерию Ньюмана–Кейлса. В качестве факторов были выделены: стресс, линия мышей и вводимые вещества. Данные, представленные в процентах, обрабатывали в соответствии с критерием Фишера. Результаты считали значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Тест “открытое поле”*

Было установлено, что при отсутствии стресса двигательная и исследовательская активности были выше у мышей линии C57BL/6 по сравнению с мышами линии BALB/c (рис. 1), что согласуется с ранее полученными данными о межлинейных различиях в тесте “открытое поле” [13]. Введение ГИЖ-72 (20 мг/кг, в/б) приводило к увеличению индекса тревожности в 1.5 раза у мышей BALB/c ( $p < 0.05$ ) и 1.3 раза у животных C57BL/6 по сравнению с контролем, что соответствует анксиолитическому эффекту и согласуется с ранее полученными результатами [17]. Диазепам (1 мг/кг, в/б) у мышей линии BALB/c увеличивал периферическую горизонтальную активность в 1.7 раза ( $p < 0.01$ ), центральную – в 3.3 раза ( $p < 0.05$ ), индекс тревожности – в 1.8 раза ( $p < 0.05$ ) по сравнению с контролем, что также



**Рис. 1.** Влияние острого плавательного стресса (ОПС) на эффекты ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) в тесте “открытое поле” у мышей BALB/c и C57BL/6.

(a) – центральная активность; (b) – индекс тревожности; (c) – вертикальная активность; (d) – общая двигательная активность. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; ^, ^^ –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с тем же веществом без стресса.

соответствует анксиолитическому эффекту. Однако у мышей линии C57BL/6 введение диазепама приводило к уменьшению активности в центральной части установки в 9 раз ( $p < 0.05$ ), индекса тревожности в 6.6 раза ( $p < 0.01$ ), вертикальной активности в 1.6 раза ( $p < 0.01$ ),  $K_{OIP}$  в 1.7 раза ( $p < 0.01$ ) и тенденции к уменьшению периферической активности, что в совокупности с уменьшением общей двигательной активности в 1.4 раза ( $p < 0.05$ ) свидетельствует о седативном эффекте диазепама и согласуется с особенностью эффектов бензодиазепинов у мышей линии C57BL/6 [13, 22].

Через 1 ч после ОПС у мышей линии BALB/c регистрировали уменьшение индекса тревожности в 1.9 раза ( $p < 0.01$ ) и тенденцию к уменьшению центральной активности по сравнению с контролем, что соответствует повышению уровня тревожности. У мышей линии C57BL/6 не было выявлено значимых изменений в аналогичных условиях, но была отмечена тенденция к уменьшению периферической, центральной и общей двигательной активности, а также индекса тревожности. ГИЖ-72 через 1 ч после ОПС повышал активность в центральной части установки в 4.8 раза ( $p < 0.05$ ), а индекс тревожности в 3.3 раза ( $p < 0.01$ ) у мышей BALB/c по сравнению с группой животных, подвергнутых стрессу. У мышей C57BL/6 введение ГИЖ-72 в тех же условиях приводило к увеличению индекса тревожности в

1.9 раза ( $p < 0.01$ ). Диазепам не только сохранял, но и усиливал анксиолитический эффект у мышей BALB/c через 1 ч после ОПС. В частности, увеличение периферической активности было выше в 2.2 раза ( $p < 0.01$ ), центральной в 1.7 раза ( $p < 0.05$ ),  $K_{OИР}$  и общей двигательной активности в 2.8 раза ( $p < 0.01$ ) по сравнению с введением диазепама без предварительной процедуры острого стресса. У мышей C57BL/6 эффекты диазепама не зависели от ОПС.

Через 24 ч после ОПС поведенческий паттерн мышей BALB/c и C57BL/6 отличался. Так, у BALB/c регистрировали усиление: периферической активности в 2.1 раза ( $p < 0.05$ ), центральной в 3.7 раза ( $p < 0.01$ ), индекса тревожности в 1.6 раза ( $p < 0.05$ ), общей двигательной активности в 2.3 раза ( $p < 0.05$ ),  $K_{OИР}$  в 2.1 раза ( $p < 0.05$ ) по сравнению с контролем. В то же время у C57BL/6 отмечали увеличение центральной активности и индекса тревожности в 1.8 раза ( $p < 0.05$ ). У BALB/c введение ГИЖ-72 через 24 ч после ОПС приводило к увеличению всех видов активности кроме вертикальной: периферической в 1.6 раза ( $p < 0.01$ ), центральной в 2.3 ( $p < 0.01$ ), индекса тревожности в 1.3 ( $p < 0.05$ ), общей двигательной в 1.7 ( $p < 0.01$ ),  $K_{OИР}$  в 1.7 раза ( $p < 0.05$ ). В противоположность этому введение ГИЖ-72 мышам C57BL/6 через 24 ч после ОПС, приводило к уменьшению центральной активности в 1.7 раза ( $p < 0.01$ ), индекса тревожности в 1.7 ( $p < 0.05$ ), вертикальной активности в 2.1 ( $p < 0.01$ ),  $K_{OИР}$  в 1.4 раза ( $p < 0.05$ ) и тенденции к уменьшению общей двигательной активности по сравнению со стрессированным контролем. Эффекты диазепама, вводимого через 24 ч после стресса, характеризовались только тенденцией к увеличению центральной активности и индекса тревожности у BALB/c и увеличением периферической активности в 1.4 раза ( $p < 0.05$ ), уменьшением центральной активности в 1.6 ( $p < 0.05$ ), индекса тревожности в 2 ( $p < 0.05$ ), вертикальной в 4.7 раза ( $p < 0.01$ ) у C57BL/6.

Таким образом, эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” через 24 ч после ОПС по своему паттерну напоминали эффекты диазепама при отсутствии стрессовых воздействий у мышей BALB/c и C57BL/6.

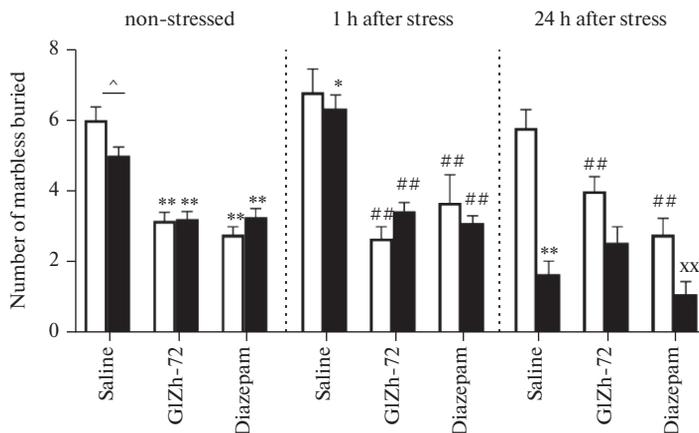
#### *Тест “закапывание шариков”*

Мыши контрольной группы C57BL/6 закапывали в 1.2 раз меньше шариков по сравнению с BALB/c ( $p < 0.05$ ) (рис. 2). ГИЖ-72 ослаблял компульсивно-подобное поведение мышей BALB/c и C57BL/6 в 1.9 ( $p < 0.01$ ) и 1.6 ( $p < 0.01$ ) раз соответственно. Аналогичным образом действовал и диазепам, уменьшая количество зарытых шариков в 2.1 и 1.5 раза ( $p < 0.01$ ) у мышей BALB/c и C57BL/6 соответственно.

Через 1 ч после ОПС было отмечено усиление компульсивно-подобного поведения мышей C57BL/6 в 1.3 раза ( $p < 0.05$ ) по сравнению с животными контрольной группы. ГИЖ-72 и диазепам, вводимые через 1 ч после ОПС, сохраняли свои эффекты у мышей BALB/c и C57BL/6.

Через 24 ч после ОПС регистрировали ослабление компульсивно-подобного поведения у мышей C57BL/6, но не BALB/c, в 2.9 раза ( $p < 0.01$ ) по сравнению с контролем. Эффекты ГИЖ-72 и диазепама, вводимых через 24 ч после стресса, сохранились у мышей BALB/c. В то же время эффект диазепама усиливался у мышей C57BL/6 в 3 раза ( $p < 0.01$ ) по сравнению с аналогичным эффектом при отсутствии стресса.

Таким образом, компульсивно-подобное поведение мышей линии C57BL/6, но не BALB/c, зависело от времени, прошедшего после ОПС. Анти-компульсивные эффекты диазепама и ГИЖ-72 сохранялись через 1 ч после ОПС у мышей обеих линий, а через 24 ч – только у мышей линии BALB/c.



**Рис. 2.** Влияние острого плавательного стресса на эффекты ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) в тесте “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6.

\*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; ^, ^^ –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с тем же веществом без стресса.

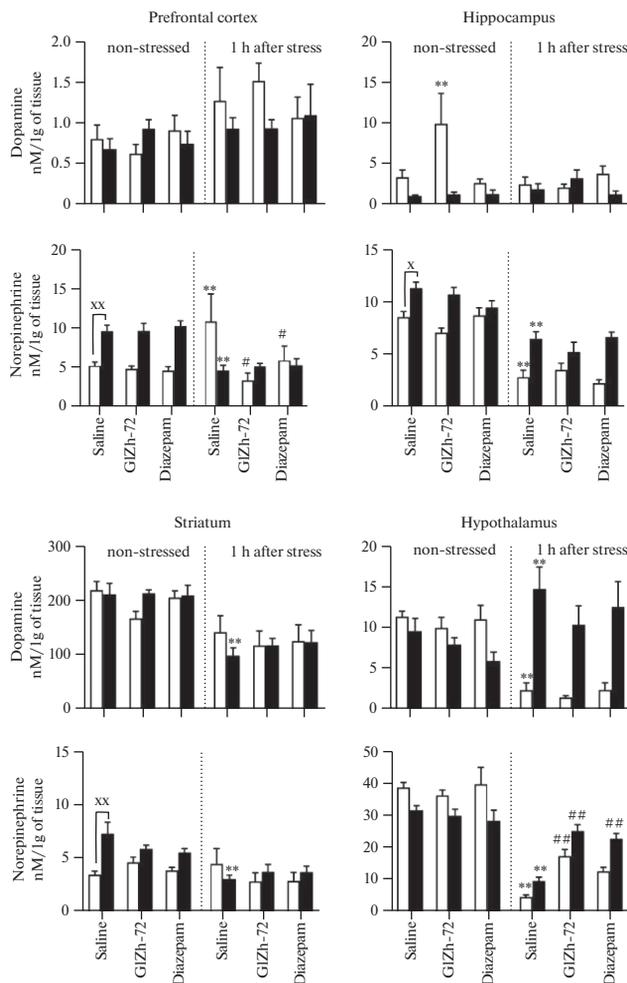
#### Нейрохимические изменения

Наиболее значимые изменения в содержании моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, полосатом теле, гипоталамусе и гиппокампе представлены на рис. 3–8.

При отсутствии стресса у мышей линии C57BL/6 наблюдались различия в содержании моноаминов по сравнению с мышами BALB/c. В префронтальной коре уровни НА и ГВК у мышей C57BL/6 превосходили таковые у мышей BALB/c в 1.8 ( $p < 0.01$ ) и 1.7 ( $p < 0.01$ ) раз соответственно (рис. 3 и 7). В гиппокампе мышей C57BL/6 наблюдались более высокие концентрации НА (в 1.3 раза,  $p < 0.01$ ), 5-ОИУК (в 2.2 раза,  $p < 0.05$ ), 5-НТ (в 2.1 раза,  $p < 0.01$ ), (рис. 5) и соотношения ГВК/ДА в 5.8 раз ( $p < 0.01$ ). В полосатом теле мышей C57BL/6 отмечены более высокие уровни НА (в 2.1 раза,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 1.9 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2.7 раз,  $p < 0.01$ ) (рис. 4), содержание 5-НТ, напротив, было меньше (в 1.9 раз,  $p < 0.01$ ), чем у мышей BALB/c. В гипоталамусе обнаружен более низкий уровень ДОФУК (в 1.4 раза,  $p < 0.01$ ) у мышей C57BL/6, чем у линии BALB/c.

Влияние ГИЖ-72 и диазепама на содержание и оборот моноаминов в отсутствие стресса было более выражено у мышей линии C57BL/6. Так, в гиппокампе диазепам приводил к увеличению 5-ОИУК (в 1.5 раза,  $p < 0.01$ ), а ГИЖ-72 к увеличению 5-НТ (в 1.5 раза,  $p < 0.05$ ). В полосатом теле наблюдалось снижение ДОФУК под действием ГИЖ-72 (в 1.3 раза,  $p < 0.05$ ) и диазепама (в 1.4 раза,  $p < 0.01$ ); снижение соотношения ДОФУК/ДА после введения ГИЖ-72 в 2 раза ( $p < 0.01$ ) и диазепам – в 1.6 раз ( $p < 0.01$ ). У мышей BALB/c ГИЖ-72 увеличивал ДА (в 2.9 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношение 5-ОИУК/5-НТ (в 3.1 раз,  $p < 0.01$ ) в гиппокампе.

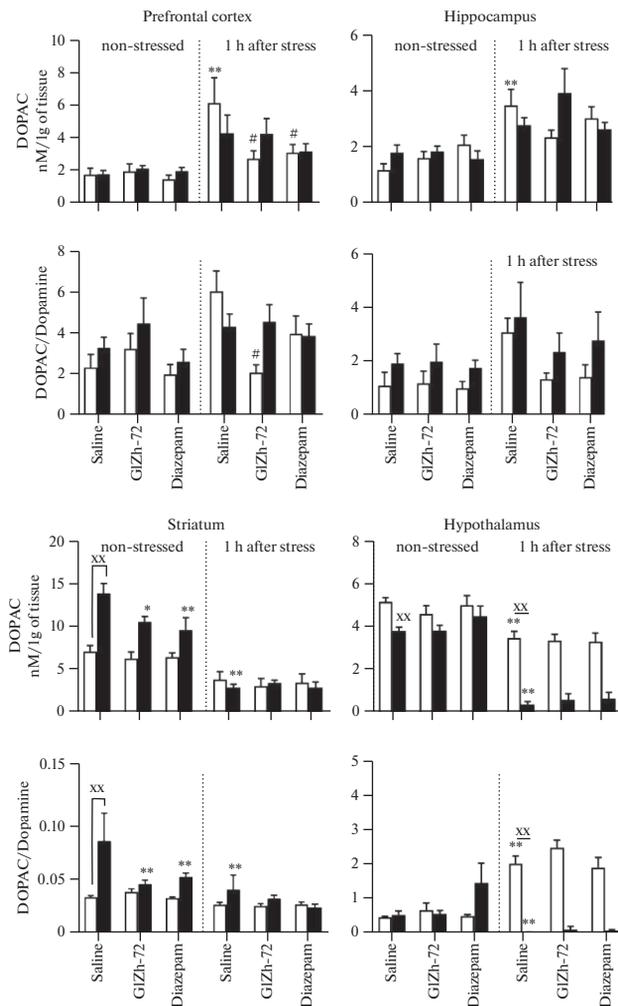
Через 1 ч после ОПС наблюдались значимые изменения в содержании моноаминов во всех структурах мозга обеих линий мышей по сравнению с контролем, не подвергавшимся стрессу. В префронтальной коре мышей BALB/c наблюдалось увеличение НА (в 2.1 раза,  $p < 0.05$ ) (рис. 3), ДОФУК (в 3.4 раза,  $p < 0.01$ ) и соотно-



**Рис. 3.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДА и НА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

шения ДОФУК/ДА (в 2.6 раз,  $p < 0.05$ ) (рис. 4), в то время как у мышей C57BL/6 обнаружено снижение НА (в 2.1 раза,  $p < 0.05$ ), ГВК (в 5.5 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ГВК/ДА (в 10.4 раз,  $p < 0.01$ ). В гиппокампе мышей BALB/c выявлено снижение НА (в 3 раза,  $p < 0.01$ ), увеличение ДОФУК (в 2.9 раз,  $p < 0.01$ ) и 3-МТ (в 8.9 раз,  $p < 0.01$ ). У мышей C57BL/6 в гиппокампе наблюдалось снижение НА (в 1.7 раз,  $p < 0.01$ ), 5-ОИУК (в 4.3 раза,  $p < 0.01$ ), 5-НТ (в 3.5 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ГВК/ДА (в 2.6 раз,  $p < 0.01$ ). В полосатом теле мышей BALB/c обнаружено снижение 5-НТ (в 3.6 раз,  $p < 0.01$ ) и 5-ОИУК (в 2.6 раз,  $p < 0.01$ ) (рис. 5). У мышей C57BL/6 в данной структуре было выявлено снижение НА (в 2.3 раза,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 4.7 раз,  $p < 0.01$ ), ДА (в 2.1 раз,  $p < 0.01$ ), соотношения ДОФУК/ДА (в 2 раза,  $p < 0.01$ ). В гипоталамусе

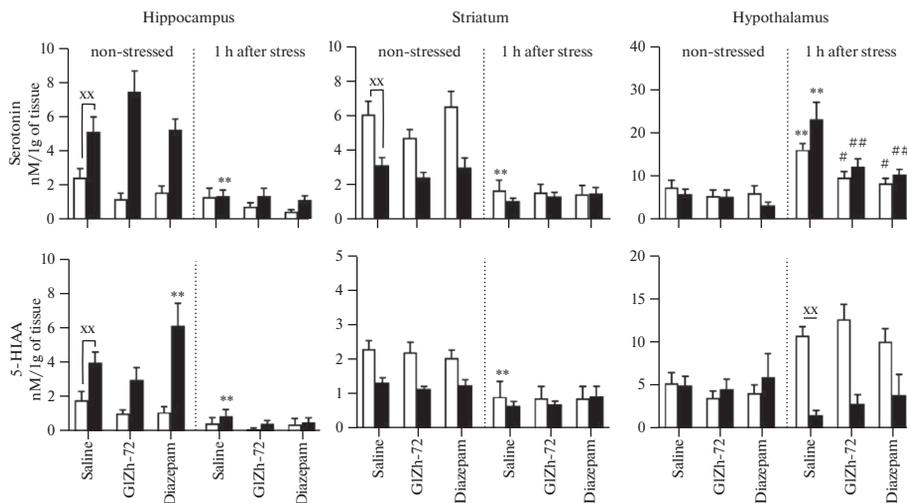


**Рис. 4.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

мышей BALB/c регистрировали снижение НА (в 8 раз,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 1.5 раз,  $p < 0.01$ ), ДА (в 4.7 раз,  $p < 0.01$ ), увеличение 3-МТ (в 3.1 раз,  $p < 0.01$ ), 5-НТ (в 2.1 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ДОФУК/ДА (в 4 раза,  $p < 0.01$ ). У мышей C57BL/6 в гипоталамусе было обнаружено снижение НА (в 3.2 раза,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 10.1 раз,  $p < 0.01$ ), соотношения ДОФУК/ДА (в 26.5 раз,  $p < 0.05$ ), также выявлено увеличение ДА (в 1.5 раз,  $p < 0.01$ ), 3-МТ (в 3.3 раза,  $p < 0.01$ ) и 5-НТ (в 3.8 раз,  $p < 0.01$ ).

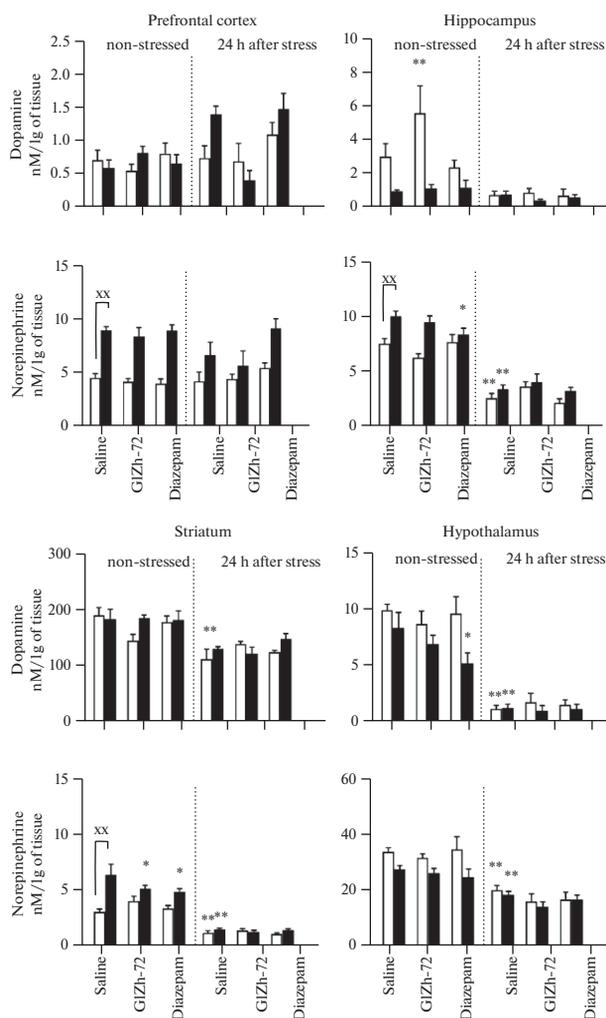
Влияние ГИЖ-72 и диазепама через 1 ч после ОПС на содержание и оборот моноаминов было наиболее выражено в префронтальной коре и гипоталамусе по



**Рис. 5.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание 5-НТ и 5-ОИУК в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

сравнению с контрольными группами, подвергнутыми стрессу. Так, в префронтальной коре мышей BALB/c после введения ГИЖ-72 было обнаружено снижение НА (в 3.2 раза,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 2.2 раза,  $p < 0.01$ ) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2.9 раз,  $p < 0.05$ ). Диазепам также уменьшал НА (в 1.8 раз,  $p < 0.05$ ), ДОФУК (в 2.2 раза,  $p < 0.01$ ) и 3-МТ (в 1.8 раз,  $p < 0.05$ ). В гипоталамусе мышей BALB/c ГИЖ-72 повышал НА (в 3.6 раз,  $p < 0.01$ ) и уменьшал 5-НТ (в 1.6 раз,  $p < 0.05$ ), диазепам уменьшал 5-НТ (в 1.9 раз,  $p < 0.05$ ). У мышей C57BL/6 в гипоталамусе оба препарата повышали НА (ГИЖ-72 – в 2.6 раз, диазепам – в 2.4 раза,  $p < 0.01$ ) (рис. 6), и снижали 5-НТ (ГИЖ-72 – в 1.9 раз, диазепам – в 2.2 раза,  $p < 0.01$ ).

Через 24 ч после ОПС наблюдались значимые изменения в содержании моноаминов во всех структурах мозга обеих линий мышей по сравнению с контролем, не подвергавшимся стрессу. У мышей BALB/c во фронтальной коре наблюдалось снижение ДОФУК (в 9.1 раз,  $p < 0.01$ ), ГВК (в 5.7 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ДОФУК/ДА (в 5.8 раз,  $p < 0.05$ ) (рис. 7). У мышей линии C57BL/6 также выявлено снижение ДОФУК (в 4 раза,  $p < 0.05$ ), ГВК (в 9 раз,  $p < 0.01$ ), соотношений ДОФУК/ДА и ГВК/ДА (в 4.4 и 5.2 раза соответственно,  $p < 0.05$ ), а также увеличение 5-ОИУК (в 5.6 раз,  $p < 0.05$ ) (рис. 8). В гиппокампе изменения были наиболее выражены у мышей линии C57BL/6: снижение НА (в 2.9 раз,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 5.7 раз,  $p < 0.01$ ), 5-ОИУК (в 10.1 раз,  $p < 0.01$ ), 5-НТ (в 13 раз,  $p < 0.01$ ) и увеличение 3-МТ (в 14.1 раз,  $p < 0.01$ ). У мышей BALB/c наблюдалось только снижение НА (в 2.9 раз,  $p < 0.01$ ) в гиппокампе. В полосатом теле мышей BALB/c регистрировали снижение НА (в 2.5 раза,  $p < 0.05$ ), ДА (в 1.7 раз,  $p < 0.01$ ), увеличение 5-ОИУК (в 1.7 раз,  $p < 0.01$ ) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2 раза,  $p < 0.01$ ). У мышей C57BL/6 в полосатом теле обнаружено снижение НА (в 4 раза,  $p < 0.01$ ), ДОФУК (в 1.8 раз,  $p < 0.01$ ) и ГВК (в 2 раза,  $p < 0.01$ ). В гипоталамусе у обеих линий наблюдались похожие изменения: снижение НА (BALB/c – в 1.7 раз, C57BL/6 – в 1.5 раз,  $p < 0.05$ ),

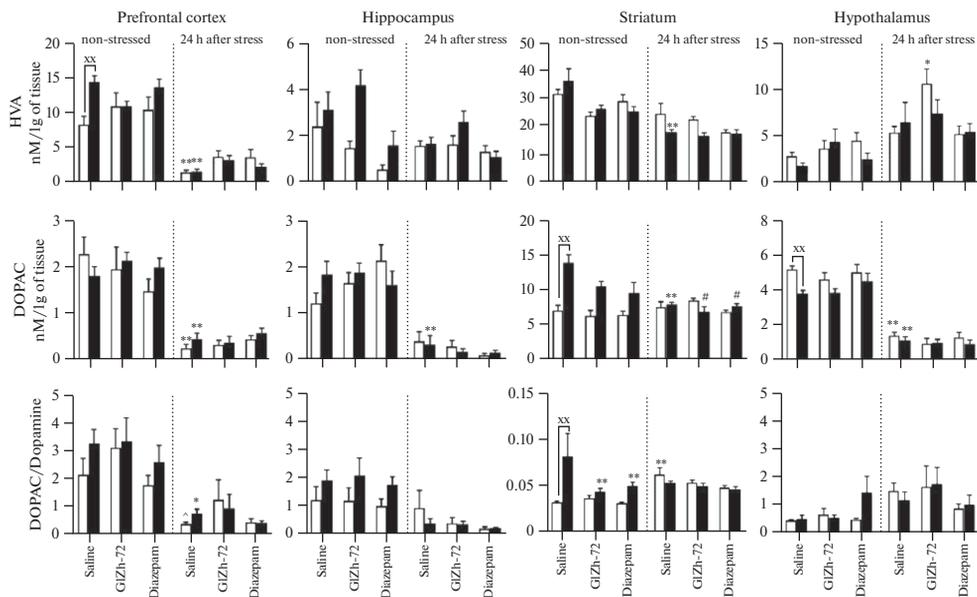


**Рис. 6.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДА и НА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

ДОФУК (BALB/c – в 3.7 раз, C57BL/6 – в 3.5 раз,  $p < 0.01$ ) и ДА (BALB/c – в 8.7 раз, C57BL/6 – в 6.4 раза,  $p < 0.01$ ).

Влияние ГИЖ-72 и диазепама через 24 ч после ОПС на содержание и оборот моноаминов было наиболее выражено в префронтальной коре и гипоталамусе по сравнению с контрольными группами, подвергнутыми стрессу. ГИЖ-72 снижал уровень ДА до контрольных значений в префронтальной коре у мышей C57BL/6 (в 3.2 раза,  $p < 0.05$ ) и повышал ГВК в гипоталамусе у мышей BALB/c (в 2.9 раз,  $p < 0.05$ ). Диазепам повышал 5-НТ у обеих линий (BALB/c – в 4.1 раз, C57BL/6 – в 1.9 раз,  $p < 0.01$ ) и 5-ОИУК у мышей BALB/c (в 3.4 раза,  $p < 0.01$ ) в префронтальной коре.



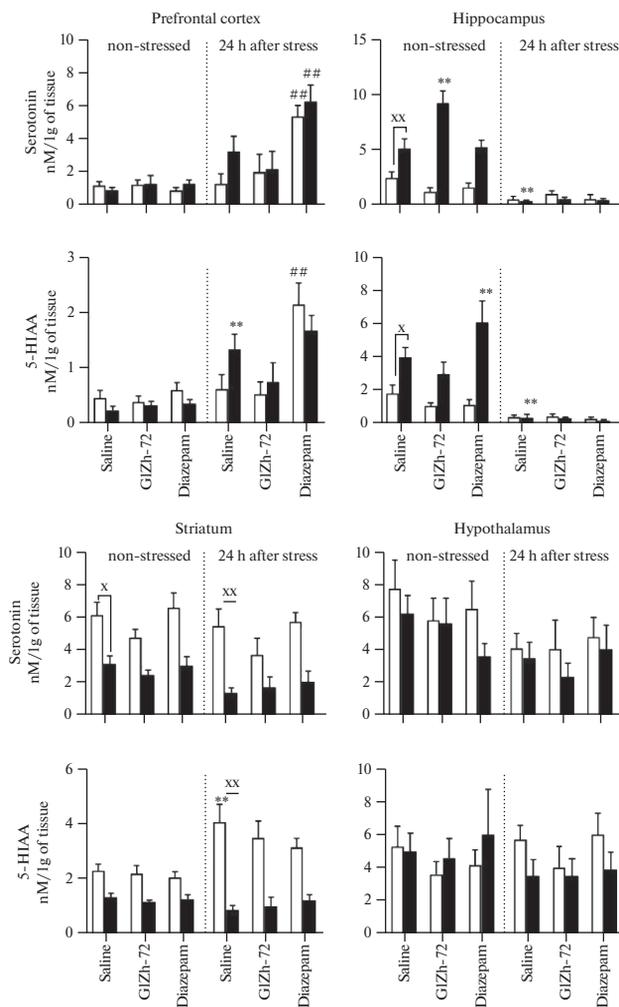
**Рис. 7.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ГВК, ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

Таким образом, наиболее значимыми нейрохимическими эффектами ОПС были: (1) повышение уровня 5-НТ и снижение НА в гипоталамусе мышей обеих линий; (2) повышение уровней НА, ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в префронтальной коре мышей линии BALB/c. Перечисленные эффекты ослаблялись после введения изучаемых веществ или через 24 ч после ОПС. Уменьшение соотношения ДОФУК/ДА с одновременной тенденцией к уменьшению уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле мышей C57BL/6, в отличие от предыдущих эффектов, сохранялись через 24 ч после ОПС.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В тесте “открытое поле” через 1 ч после ОПС наблюдали повышение тревожности у мышей BALB/c и тенденцию к подобным изменениям у C57BL/6, через 24 ч – противоположный эффект, который выражался в увеличении всех регистрируемых параметров, кроме вертикальной активности, у мышей BALB/c и избирательным увеличением центральной активности у C57BL/6. Этот эффект можно охарактеризовать как “парадоксальный анксиолитический”, поскольку наряду с увеличением  $K_{OИР}$  и общей двигательной активности мышей BALB/c наблюдали повышение индекса тревожности (процентного соотношения горизонтальной активности в центральной части установки и суммарной горизонтальной активности) у мышей обеих линий, что расценивают как коррелят анксиолитического эффекта [19]. Подобная динамика поведенческих реакций может быть обусловлена адаптивными



**Рис. 8.** Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание 5-НТ и 5-ОИУК в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. \*, \*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

изменениями в системе эндогенных нейроактивных стероидов. Известно, что ОПС приводит к изменению плотности митохондриального TSPO, играющего важную роль в биосинтезе эндогенных ГАМК<sub>A</sub>-модулирующих нейроактивных стероидов [11]. В частности, через 30–60 мин после ОПС плотность TSPO в головном мозге грызунов уменьшается, а через 24 ч – увеличивается в 2 раза [23]. Кроме того, введение РК1195, избирательного блокатора TSPO, приводит к уменьшению ОИР мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “открытое поле” [19], что согласуется с эффектами, наблюдаемыми через 1 ч после ОПС. С другой стороны, в тесте “закапывание шариков” аналогичная динамика была выявлена только у C57BL/6. Однако

эти эффекты могут быть обусловлены иными механизмами, поскольку РК11195 не оказывает значимого влияния на поведение мышей в данном тесте [17].

Эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” зависели от времени, прошедшего после стрессовой экспозиции, диазепам демонстрировал подобную зависимость в тесте “закапывание шариков”. По-видимому, анксиолитический эффект ГИЖ-72 опосредован активностью в отношении биосинтеза ГАМК<sub>A</sub>-модулирующих нейроактивных стероидов, что косвенно подтверждается двумя фактами. Во-первых, ранее было показано, что анксиолитический эффект ГИЖ-72 дозозависимо устраняется финастеридом [17], это может свидетельствовать о способности ГИЖ-72 модулировать активность 5 $\alpha$ -редуктазы – одного из ключевых ферментов биосинтеза аллопрегнанолонна – позитивного аллостерического модулятора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов. Во-вторых, эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” через 24 ч после ОПС по своему поведенческому паттерну сходны с эффектами диазепама при отсутствии стрессового воздействия. Такие результаты можно было бы объяснить усилением биосинтеза ГАМК<sub>A</sub>-модулирующих нейроактивных стероидов под действием ГИЖ-72 на фоне увеличения плотности TSPO, которую наблюдают в эти временные рамки [23]. Аллопрегнанолон и диазепам способны замещать прегнаполон на оперантной модели лекарственной дифференцировки у крыс [24], что подтверждает схожесть эффектов этих веществ.

При изучении нейрохимических эффектов ОПС, а также влияния ГИЖ-72 и диазепама на вызванные стрессом изменения было установлено, что наибольшее их количество затрагивало DA- и NA-системы всех изучаемых структур головного мозга мышей. В то же время значимые стресс-индуцированные изменения в 5-HT-системе наблюдали, главным образом, в гипоталамусе и гиппокампе.

Повышение уровня ДОФУК через 1 ч после ОПС и увеличение оборота ДОФУК/ДА в префронтальной коре может быть следствием активации дофаминергических нейронов кортикостероном. Глюкокортикоидные рецепторы в избытке экспрессируются на дофаминергических нейронах вентральной области покрышки, формирующих восходящие мезокортикальные проекции, а их стимуляция необходима для поведенческой адаптации в условиях стресса – переключения между активной и пассивной стратегией поведения в тесте “принудительное плавание” [25]. В частности, было установлено, что стимуляция D<sub>1</sub>-рецепторов возбуждающих нейронов медиальной префронтальной коры на фоне острого стресса приводит к нейропластическим изменениям, которые опосредуют снижение чувствительности к повторным стрессовым воздействиям [26, 27]. По-видимому, уменьшение повышенного на фоне стресса уровня ДОФУК в префронтальной коре после введения диазепама и ГИЖ-72 – следствие угнетающего влияния изучаемых веществ на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [28]. Через 24 ч после стресса уровни ДОФУК, ГVK и обороты ДОФУК/ДА и ГVK/ДА в префронтальной коре были снижены, что может свидетельствовать об уменьшении активности дофаминергической системы после устранения стрессового фактора [29], это совпадало во времени с ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”.

Уровень ДОФУК у контрольной группы мышей C57BL/6 при отсутствии стресса в гипоталамусе был ниже, чем у BALB/c, что, по-видимому, обусловлено особенностью DA-системы мышей C57BL/6 – более высокими уровнями тирозингидроксилазы [30]. Уменьшение уровня DA в гипоталамусе мышей BALB/c через 1 ч после ОПС согласуется с подобными изменениями у BALB/c при предъявлении хищника – повышением оборота ДОФУК/ДА [31]. Повышение концентрации DA в гипоталамусе мышей C57BL/6 также согласуется с подобными изменениями после электрошока, психологического стресса и условно-рефлекторного страха [15].

В целом, изменения концентрации ДА и его оборота в гипоталамусе после острого стресса, по-видимому, являются следствием изменения секреции АКТГ, тиреотропного гормона, пролактина и соматотропного гормона [32].

Увеличение соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе мышей обеих линий через 1 ч после ОПС согласуется с результатами, полученными на модели иммобилизационного стресса – увеличением уровня ДОФУК [33, 34]. Подобные изменения характеризуют увеличение внутриклеточного метаболизма ДА и увеличение активности ДА-ергической системы. В свою очередь, это может указывать на регуляторную роль ДА в процессах нейропластичности: известно, что ДА стимулирует пролиферацию нейрональных клеток-предшественников и способствует выживаемости вновь образованных клеток гиппокампа [35]. Это предположение может быть подкреплено несколькими фактами. Во-первых, острый стресс способен оказывать стимулирующее влияние на процессы нейрогенеза в гиппокампе грызунов [36]. Во-вторых, хронический стресс приводит к уменьшению соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе грызунов [37], что сопровождается угнетением гиппокампального нейрогенеза [38, 39], в то время как антидепрессанты, известные своей способностью увеличивать количество митозов в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа [40, 41], восстанавливают соотношение ДОФУК/ДА до контрольных значений в условиях хронического стресса [42]. Во-вторых, подобные изменения также наблюдают после воздействия нейротоксинов, в частности, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). Так, однократное введение МФТП приводило к увеличению соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе мышей C57BL/6 [43], а через несколько недель после МФТП-индуцированного повреждения регистрировали увеличение бромдезоксисуридин-положительных клеток в черной субстанции и гиппокампе мышей [44, 45].

В полосатом теле было обнаружено более высокое содержание ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА у контрольной группы мышей C57BL/6 по сравнению с BALB/c, что может быть связано не только с ферментом тирозингидроксилаза, но и межлинейными различиями в уровнях стероидных гормонов. В частности, у C57BL/6 отмечают более высокие уровни андростендиола в плазме крови и тканях мозга [46], который участвует в синтезе тестостерона [47]. Известно, что хроническое, но не однократное введение тестостерона крысам приводит к увеличению уровней ДОФУК и ГВК, а также оборотов ДА по этим метаболитам [48], что согласуется с полученными результатами.

ОПС приводил к уменьшению оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле у C57BL/6 через 1 ч после стрессовой экспозиции, в то время как у BALB/c была отмечена лишь тенденция к подобным изменениям. Согласно данным литературы, после теста “принудительное плавание” происходит увеличение уровня ДА в полосатом теле мышей BALB/c [14]. Расхождение полученных результатов с данными литературы можно объяснить различными временными интервалами между ОПС и декапитацией мышей. В представленном исследовании выделение изучаемых структур головного мозга проводили через 1 ч после ОПС, а в работе Miura и соавт. [14] через 40 мин после этой процедуры. По-видимому, уменьшение оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле отражает истощение ДА в нигростриарной системе из-за интенсивной двигательной активности во время процедуры “принудительное плавание”, что подтверждается тенденцией к уменьшению общей двигательной активности мышей C57BL/6 в тесте “открытое поле” через 1 ч после ОПС. Через 24 ч данный показатель восстанавливался до контрольных значений у C57BL/6 и повышался у BALB/c, что совпадало с увеличением общей двигательной активности мышей BALB/c в тесте “открытое поле”.

С другой стороны, изменения активности ДА-ергической системы полосатого тела может отражать активность кортико-стриато-таламо-кортикальных нейронных

сетей, дисфункция которых может лежать в основе патогенеза обсессивно-компульсивного расстройства [49, 50]. Установлено, что повышение оборотов ДОФУК/ДА, 3-МТ/ДА и ГВК/ДА в полосатом теле мышей с мутацией в дофаминовом транспортере (ДАТ) сопровождалось увеличением двигательной активности и уменьшением компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков” по сравнению с интактными животными [51]. Таким образом, более высокий уровень ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле C57BL/6 может отчасти обуславливать межлинейные различия в тесте “закапывание шариков”.

Диазепам и ГИЖ-72 снижали уровни ДОФУК и оборот ДОФУК/ДА в полосатом теле C57BL/6 при отсутствии стресса, а через 24 ч после стресса данный эффект не только сохранялся, но и усиливался, совпадая по вектору действия с эффектами самого стресса и ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”, что, по-видимому, может быть одним из нейрохимических маркеров анксиолитического эффекта изучаемых веществ.

Другим важным нейрохимическим показателем компульсивно-подобного поведения мышей в тесте “закапывание шариков” может являться уровень и оборот 5-НТ в полосатом теле. В работе Saadat и соавт. [52] было показано, что резкое повышение уровня 5-НТ, равно как и длительное снижение с одновременным уменьшением концентрации ДА, в полосатом теле мышей приводит к подавлению компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков”. В нашей работе ОПС приводил к изменению компульсивно-подобного поведения только у мышей C57BL/6: через 1 ч после стрессовой экспозиции регистрировали повышение количества закопанных шариков, а через 24 ч – уменьшение. Это можно объяснить специфическими нейрохимическими изменениями в ДА- и 5-НТ-ергических системах полосатого тела. В частности, у мышей C57BL/6 отмечали снижение ДОФУК, ДА, оборота ДОФУК/ДА, а также уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле, в то время как у BALB/c регистрировали только снижение 5-НТ и 5-ОИУК через 1 ч после ОПС. Через 24 ч после ОПС тенденция к подобным изменениям сохранялась только у мышей C57BL/6, что может объяснять уменьшение компульсивно-подобного поведения и потенцирование эффекта диазепама.

Как правило, ОПС [53] и электрошок [16] приводят к повышению уровня 5-НТ в гиппокампе мышей, однако в нашей работе был получен противоположный результат – снижение уровней 5-НТ и 5-ОИУК. Как и при рассмотрении других нейрохимических изменений, в данном случае важно учитывать временной интервал от ОПС до извлечения изучаемых структур. Fujino и соавт. [53] было показано, что уровень 5-НТ в гиппокампе мышей резко повышается во время процедуры “принудительное плавание”, после чего постепенно возвращается к базальным значениям. Полученные в представленной работе результаты могут быть обусловлены истощением запасов нейромедиатора, о чем свидетельствует одновременное уменьшение концентрации 5-НТ и его основного метаболита – 5-ОИУК. Эти изменения сохранялись через 24 ч после ОПС.

Увеличение уровня 5-НТ в гипоталамусе через 1 ч после ОПС может свидетельствовать об активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В частности, 5-НТ может активировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему через стимуляцию 5-НТ<sub>2C</sub>-рецепторов паравентрикулярного ядра гипоталамуса [54]. Подобные нейрохимические изменения у мышей наблюдают как после ОПС [14], так и при электрошоке [16]. ГИЖ-72 и диазепам уменьшали концентрацию 5-НТ в гипоталамусе до базальных значений, что, по-видимому, связано с угнетающим действием изучаемых веществ на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [28]. Повышение уровня 5-НТ в гипоталамусе не наблюдалось через 24 ч после ОПС, что сопровождалось ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”.

В случае с НА-ергической системой наблюдались определенные сходства с вектором изменений, происходящих в ДА-ергической: (1) увеличение уровня НА в префронтальной коре через 1 ч после ОПС только у VALB/c, которое полностью устранялось ГИЖ-72 и диазепамом – аналогичные тенденции были отмечены и в случае уровня ДОФУК; (2) уменьшение концентрации НА в полосатом теле через 1 ч после ОПС только у C57BL/6 и усиление этой тенденции через 24 ч после острого стресса – аналогично уровню ДОФУК.

Известно, что взаимодействие НА- и ДА-ергической систем в префронтальной коре имеет свои характерные особенности. Так, в этой структуре головного мозга плотность ДАТ низкая, поэтому функцию обратного захвата ДА выполняет норадреналиновые транспортеры (НАТ), а сродство ДА к НАТ превышает таковое к ДАТ [55–57]. Кроме того, ДА- и НА-ергическая системы префронтальной коры объединяют общие внутриклеточные сигнальные пути, сопряженные с дофаминовыми и адренорецепторами, а также совместное высвобождение ДА и НА в ответ на различные стимулы [58]. Несмотря на то, что кортикальные области имеют более плотные НА-ергические проекции из голубого пятна, чем полосатое тело, это может компенсироваться высокой плотностью адренорецепторов в последнем [59]. Связь между ДА- и НА-ергической системами полосатого тела прослеживается в локализации адренорецепторов на ДА-терминалях [60, 61], а также цАМФ-зависимыми внутриклеточными путями, сопряженными одновременно с ДА- и адренорецепторами [62]. Большое совпадение в экспрессии ДА- и адренорецепторов, а также сопряженных с ними внутриклеточных сигнальных путей, могут опосредовать сходные физиологические функции этих систем в префронтальной коре и полосатом теле. Снижение уровня НА в гиппокампе мышей (за счет усиления метаболизма НА) также наблюдают при предъявлении хищника [63] и после иммобилизационного стресса [64]. По-видимому, уменьшение данного параметра отражает динамику изменения концентрации и функцию гиппокампального НА во время острого стресса. Непосредственно во время острого стресса регистрируют увеличение НА в гиппокампе с одновременным повышением внеклеточной концентрации глюкозы [65, 66]. НА модулирует метаболизм глюкозы за счет стимуляции  $\beta$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторов [67, 68]: усиливает гликогенолиз астроцитов, нейрональный гликолиз и повышает плотность транспортеров глюкозы на поверхности нейронов и астроцитов [66]. Как полагают, это необходимо для обеспечения энергетических потребностей формирования памяти, связанной со стрессом [66]. Важно отметить, что этот эффект является быстрым и реализуется, главным образом, во время фаз приобретения и консолидации памяти [66], что, по-видимому, и объясняет уменьшение его концентрации в гиппокампе, когда нейрохимические измерения проводили после, а не непосредственно во время стрессовой экспозиции.

В нашей работе, как и в других, посвященных изучению нейрохимических эффектов различных видов острого стресса, таких как электрошок [16, 69], иммобилизация [64] и ОПС [14], регистрировали снижение концентрации НА в гипоталамусе через 1 ч после ОПС, в то время как ГИЖ-72 и диазепам оказывали противоположное влияние. По-видимому, это объясняется увеличением высвобождения НА в гипоталамусе во время острого стресса [70] с последующим усилением метаболизма, что, по-видимому, и опосредует его конечное уменьшение. НА, в свою очередь, в условиях острого стресса стимулирует секрецию кортикотропин-рилизинг-гормона, который опосредует эндокринные эффекты стресса [70]. ГИЖ-72 и диазепам препятствовали снижению НА в гипоталамусе, что, по-видимому, отражает снижение вызванного стрессом высвобождения НА и его метаболизма и является одним из нейрохимических маркеров анксиолитического эффекта [71].

Таким образом, можно выделить четыре важных нейрохимических изменения, наблюдаемых через 1 ч после ОПС, которые коррелировали с усилением тревож-

ных реакций, а их изменение после введения изучаемых веществ или через 24 ч после стресса совпадало с анксиолитическим эффектом. Два эффекта были общими для мышей BALB/c и C57BL/6 – это (1) повышение уровня 5-НТ и (2) снижение НА в гипоталамусе. Два других – были характерны только для мышей BALB/c: (3) повышение уровня НА, (4) ДОФУК и увеличение оборота ДОФУК/ДА в префронтальной коре. Еще один эффект был характерен только для мышей C57BL/6 – снижение оборота ДОФУК/ДА с одновременной тенденцией к уменьшению уровня 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле. Данный эффект, в отличие от предыдущих, сохранялся через 24 ч после ОПС. По-видимому, он является нейрохимическим маркером ослабления компульсивно-подобного поведения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Особенности поведенческих и нейрохимических эффектов ОПС зависели от времени, прошедшего с момента стрессовой экспозиции. Через 1 ч после ОПС отмечали усиление тревожных реакций мышей BALB/c и тенденцию к подобным изменениям у C57BL/6 в тесте “открытое поле”. В противоположность этому усиление компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков” через 1 ч после ОПС наблюдали только у мышей C57BL/6. Через 24 ч после ОПС отмечали ослабление тревожных реакций мышей обеих линий в тесте “открытое поле” и у C57BL/6 в тесте “закапывание шариков”. Изменения в содержании и обороте моноаминов через 1 ч после ОПС включали: повышение уровня 5-НТ и снижение НА в гипоталамусе у мышей обеих линий и повышение уровня НА, ДОФУК, соотношения ДОФУК/ДА в префронтальной коре у BALB/c. Эти изменения коррелировали с тревожными реакциями, а их ослабление под действием ГИЖ-72, диазепама или через 24 ч после стресса совпадало с ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”. В то же время снижение ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА с тенденцией к уменьшению уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле мышей C57BL/6, которые сохранялись через 24 ч после стресса, могут быть нейрохимическим коррелятом ослабления компульсивно-подобного поведения.

Диазепам и ГИЖ-72 ослабляли тревожные реакции мышей линий BALB/c и C57BL/6, при этом у мышей C57BL/6 в тесте “открытое поле” диазепам вызывал выраженный седативный эффект. Перечисленные эффекты изучаемых соединений сопровождалась одним общим нейрохимическим эффектом – снижением ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в полосатом теле мышей C57BL/6. Этот нейрохимический эффект не только сохранялся, но и усиливался через 24 ч после ОПС. Через 1 ч после ОПС эффекты ГИЖ-72 сохранялись в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6, в то время как эффекты диазепама усиливались у мышей BALB/c и сохранялись у C57BL/6 в тесте “открытое поле”. Через 24 ч после стресса эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” сохранялись у мышей BALB/c, но ослаблялись и сопровождалась тенденцией к седативному эффекту у C57BL/6. Эффекты диазепама в “открытом поле”, напротив, усиливались только у C57BL/6 и отсутствовали у BALB/c. Эффекты ГИЖ-72 и диазепама в тесте “закапывание шариков” через 24 ч после стресса сохранялись у BALB/c, но не C57BL/6.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” по теме № 0521-2019-0007.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Н.В.К., Т.С.К., Т.А.В., проведение поведенческих экспериментов – Н.В.К., А.В.В., нейрохимическое исследование – Н.В.К., П.Л.Н., В.Б.Н., В.С.К., К.А.К., обработка результатов – Н.В.К., П.Л.Н., написание и редактирование рукописи – Н.В.К., П.Л.Н., В.Б.Н., Т.А.В.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Biggio G, Concas A, Serra M, Salis M, Corda MG, Nurchi V, Crisponi C, Gessa GL* (1984) Stress and beta-carbolines decrease the density of low affinity GABA binding sites; an effect reversed by diazepam. *Brain Res* 305: 13–18.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)91114-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)91114-4)
2. *File SE* (1993) The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behav Brain Res* 58: 199–202.  
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90103-w](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90103-w)
3. *McDonald BJ, Amato A, Connolly CN, Benke D, Moss SJ, Smart TG* (1998) Adjacent phosphorylation sites on GABAA receptor beta subunits determine regulation by cAMP-dependent protein kinase. *Nat Neurosci* 1: 23–28.  
<https://doi.org/10.1038/223>
4. *Nusser Z* (1999) A new approach to estimate the number, density and variability of receptors at central synapses. *Eur J Neurosci* 11: 745–752.  
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00535.x>
5. *Purdy RH, Morrow AL, Moore PH, Jr., Paul SM* (1991) Stress-induced elevations of gamma-aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 4553–4557.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.88.10.4553>
6. *Park CH, Hitri A, Lukacs LG, Deutsch SI* (1993) Swim stress selectively alters the specific binding of a benzodiazepine antagonist in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 45: 299–304.  
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90242-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90242-1)
7. *Deutsch SI, Rosse RB, Huntzinger JA, Novitzki MR, Mastropaolo J* (1990) Profound stress-induced alterations in flurazepam's antiseizure efficacy can be attenuated. *Brain Res* 520: 272–276.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91715-s](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91715-s)
8. *Briiones-Aranda A, Rocha L, Picazo O* (2005) Alterations in GABAergic function following forced swimming stress. *Pharmacol Biochem Behav* 80: 463–470.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.01.002>
9. *Vallee M, Rivera JD, Koob GF, Purdy RH, Fitzgerald RL* (2000) Quantification of neurosteroids in rat plasma and brain following swim stress and allopregnanolone administration using negative chemical ionization gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Biochem* 287: 153–166.  
<https://doi.org/10.1006/abio.2000.4841>
10. *Reddy DS, Rogawski MA* (2002) Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. *J Neurosci* 22: 3795–3805.  
<https://doi.org/20026274>
11. *Batarseh A, Papadopoulos V* (2010) Regulation of translocator protein 18 kDa (TSPO) expression in health and disease states. *Mol Cell Endocrinol* 327: 1–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.06.013>
12. *Середенин СБ* (2003) Фармакологическая регуляция эмоционально-стрессовых реакций. *Вестник Рос акад мед наук* 35–37. [*Seredenin SB* (2003) Pharmacological regulation of emotional stress reactions. *Vestn Ross Akad Med Nauk* 35–37 (In Russ)].
13. *Seredenin SB, Nadorova AV, Kolik LG, Yarkova MA* (2013) Effects of phenazepam on the behavior of C57BL/6 and BALB/c mice in the open field test after naloxone pretreatment. *Bull Exp Biol Med* 155: 346–349.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-013-2150-0>
14. *Miura H, Naoi M, Nakahara D, Ohta T, Nagatsu T* (1993) Changes in monoamine levels in mouse brain elicited by forced-swimming stress, and the protective effect of a new monoamine oxidase inhibitor, RS-8359. *J Neural Transm Gen Sect* 94: 175–187.  
<https://doi.org/10.1007/BF01277023>
15. *Sasaki K, Suzuki K, Ueno M, Takako K, Yoshizaki F* (1998) Increase in monoamine levels caused by emotional stress in mice brain regions is attenuated by Saiko-ka-ryukotsu-borei-to. *Methods*

- Find Exp Clin Pharmacol 20: 27–30.  
<https://doi.org/10.1358/mf.1998.20.1.485628>
16. *Shanks N, Zalcan S, Zacharko RM, Anisman H* (1991) Alterations of central norepinephrine, dopamine and serotonin in several strains of mice following acute stressor exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 38: 69–75.  
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90591-o](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90591-o)
  17. *Кудряшов НВ, Калинина ТС, Касабов КА, Шимширт АА, Волкова АВ, Жмуренко ЛА, Воронина ТА* (2018) Роль метаболизма нейростероидов в антикомпульсивном эффекте производного пиразоло[с]пиридина – ГИЖ-72. *Экспер и клин фармакол* 81: 7–11. [*Kudryashov NV, Kalinina TS, Kasabov KA, Shimshirt AA, Volkova AV, Zhmurenko LA, Voronina TA* (2018) The role of neurosteroids metabolism in anticompulsive effect of pyrazole[c]pyridine derivative GIZH-72. *Ekspert i Klin Farmakol* 81: 7–11 (In Russ)].
  18. *Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M* (1977) Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229: 327–336.
  19. *Калинина ТС, Шимширт АА, Кудряшов НВ, Воронина ТА, Середенин СБ* (2014) Нейростероидогенез и ориентировочно-исследовательское поведение грызунов. *Экспер и клин фармакол* 77: 3–7. [*Kalinina TS, Shimshirt AA, Kudryashov NV, Voronina TA, Seredenin SB* (2014) Neurosteroidogenesis and exploratory responses in rodents. *Ekspert i Klin Farmakol* 77: 3–7 (In Russ)].  
<https://doi.org/10.30906/0869-2092-2014-77-2-3-7>
  20. *Witkin JM* (2008) Animal models of obsessive-compulsive disorder. *Curr Protoc Neurosci Chapter 9: Unit 9 30*.  
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0930s45>
  21. *Anderzhanova EA, Bachli H, Buneeva OA, Narkevich VB, Medvedev AE, Thoeringer CK, Wotjak CT, Kudrin VS* (2013) Strain differences in profiles of dopaminergic neurotransmission in the prefrontal cortex of the BALB/C vs. C57Bl/6 mice: consequences of stress and afobazole. *Eur J Pharmacol* 708: 95–104.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.03.015>
  22. *Garrett KM, Niekrasz I, Haque D, Parker KM, Seale TW* (1998) Genotypic differences between C57Bl/6 and A inbred mice in anxiolytic and sedative actions of diazepam. *Behav Genet* 28: 125–136.  
<https://doi.org/10.1023/a:1021424108213>
  23. *Avital A, Richter-Levin G, Leschiner S, Spanier I, Veenman L, Weizman A, Gavish M* (2001) Acute and repeated swim stress effects on peripheral benzodiazepine receptors in the rat hippocampus, adrenal, and kidney. *Neuropsychopharmacology* 25: 669–678.  
[https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00286-X](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00286-X)
  24. *Vanover KE* (1997) Discriminative stimulus effects of the endogenous neuroactive steroid pregnanolone. *Eur J Pharmacol* 327: 97–101.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(97\)89647-1](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(97)89647-1)
  25. *de Kloet ER, Molendijk ML* (2016) Coping with the Forced Swim Stressor: Towards Understanding an Adaptive Mechanism. *Neural Plast* 2016: 6503162.  
<https://doi.org/10.1155/2016/6503162>
  26. *Shinohara R, Taniguchi M, Ehrlich AT, Yokogawa K, Deguchi Y, Cherasse Y, Lazarus M, Urade Y, Ogasawa A, Kitaoka S, Sawa A, Narumiya S, Furuyashiki T* (2018) Dopamine D1 receptor subtype mediates acute stress-induced dendritic growth in excitatory neurons of the medial prefrontal cortex and contributes to suppression of stress susceptibility in mice. *Mol Psychiatry* 23: 1717–1730.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2017.177>
  27. *Anderson EM, Gomez D, Caccamise A, McPhail D, Hearing M* (2019) Chronic unpredictable stress promotes cell-specific plasticity in prefrontal cortex D1 and D2 pyramidal neurons. *Neurobiol Stress* 10: 100152.  
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100152>
  28. *Mikkelsen JD, Soderman A, Kiss A, Mirza N* (2005) Effects of benzodiazepines receptor agonists on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Eur J Pharmacol* 519: 223–230.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.06.049>
  29. *Belujon P, Grace AA* (2015) Regulation of dopamine system responsivity and its adaptive and pathological response to stress. *Proc Biol Sci* 282  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2516>
  30. *Ginovart N, Marcel D, Bezjn L, Gagne C, Pujol JF, Weissmann D* (1996) Tyrosine hydroxylase expression within Balb/C and C57black/6 mouse locus coeruleus. II. Quantitative study of the enzyme level. *Brain Res* 719: 45–55.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00075-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00075-3)
  31. *Belzung C, El Hage W, Moindrot N, Griebel G* (2001) Behavioral and neurochemical changes following predatory stress in mice. *Neuropharmacology* 41: 400–408.  
[https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(01\)00072-7](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(01)00072-7)
  32. *Konstandi M, Johnson E, Lang MA, Malamas M, Marselos M* (2000) Noradrenaline, dopamine, serotonin: different effects of psychological stress on brain biogenic amines in mice and rats.

- Pharmacol Res 41: 341–346.  
<https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0597>
33. *Nadaoka I, Yasue M, Sami M, Kitagawa Y* (2012) Oral administration of *Cimicifuga racemosa* extract affects immobilization stress-induced changes in murine cerebral monoamine metabolism. *Biomed Res* 33: 133–137.  
<https://doi.org/10.2220/biomedres.33.133>
  34. *Rowland NE, Dunn AJ* (1995) Effect of dexfenfluramine on metabolic and neurochemical measures in restraint-stressed ob/ob mice. *Physiol Behav* 58: 749–754.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)00105-r](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)00105-r)
  35. *Takamura N, Nakaigawa S, Masuda T, Boku S, Kato A, Song N, An Y, Kitaichi Y, Inoue T, Koyama T, Kusumi I* (2014) The effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 50: 116–124.  
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.12.011>
  36. *Kirby ED, Muroy SE, Sun WG, Covarrubias D, Leong MJ, Barchas LA, Kaufer D* (2013) Acute stress enhances adult rat hippocampal neurogenesis and activation of newborn neurons via secreted astrocytic FGF2. *Elife* 2:e00362.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.00362>
  37. *Gemmel M, Rayen I, Lotus T, van Donkelaar E, Steinbusch HW, De Lacalle S, Kokras N, Dalla C, Pawluski JL* (2016) Developmental fluoxetine and prenatal stress effects on serotonin, dopamine, and synaptophysin density in the PFC and hippocampus of offspring at weaning. *Dev Psychobiol* 58: 315–327.  
<https://doi.org/10.1002/dev.21372>
  38. *de Andrade JS, Cespedes IC, Abrao RO, Dos Santos TB, Diniz L, Britto LR, Spadari-Bratfisch RC, Ortolani D, Melo-Thomas L, da Silva RC, Viana MB* (2013) Chronic unpredictable mild stress alters an anxiety-related defensive response, Fos immunoreactivity and hippocampal adult neurogenesis. *Behav Brain Res* 250: 81–90.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.04.031>
  39. *Mineur YS, Belzung C, Crusio WE* (2007) Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* 150: 251–259.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.09.045>
  40. *Alenina N, Klempin F* (2015) The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res* 277: 49–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.038>
  41. *Anacker C, Zunszain PA, Cattaneo A, Carvalho LA, Garabedian MJ, Thuret S, Price J, Pariante CM* (2011) Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol Psychiatry* 16: 738–750.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2011.26>
  42. *Kudryashov NV, Kalinina TS, Shimshirt AA, Volkova AV, Narkevich VB, Naplekova PL, Kasabov KA, Kudrin VS, Voronina TA, Fisenko VP* (2020) The Behavioral and Neurochemical Aspects of the Interaction between Antidepressants and Unpredictable Chronic Mild Stress. *Acta Naturae* 12: 63–72.  
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.10942>
  43. *Kapitza IG, Kalinina TS, Nerobkova LN, Voronina TA, Klodt PM, Narkevich VB, Kudrin VS* (2008) Relationship between the severity of hypokinesia induced by neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and neurochemical changes in brain structures of C57Bl/6 mice. *Bull Exp Biol Med* 146: 52–55.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-008-0204-5>
  44. *Zhao M, Momma S, Delfani K, Carlen M, Cassidy RM, Johansson CB, Brismar H, Shupliakov O, Finsen J, Janson AM* (2003) Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 7925–7930.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1131955100>
  45. *Shan X, Chi L, Bishop M, Luo C, Lien L, Zhang Z, Liu R* (2006) Enhanced de novo neurogenesis and dopaminergic neurogenesis in the substantia nigra of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease-like mice. *Stem Cells* 24: 1280–1287.  
<https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0487>
  46. *Tagawa N, Sugimoto Y, Yamada J, Kobayashi Y* (2006) Strain differences of neurosteroid levels in mouse brain. *Steroids* 71: 776–784.  
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.05.008>
  47. *Miller WL, Auchus RJ* (2019) The “backdoor pathway” of androgen synthesis in human male sexual development. *PLoS Biol* 17: e3000198.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000198>
  48. *Sanchez MG, Bourque M, Morissette M, Di Paolo T* (2010) Steroids-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci Ther* 16:e43-71.  
<https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00163.x>
  49. *Schneier FR, Martinez D, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Simpson HB, Liebowitz MR, Laruelle M* (2008) Striatal dopamine D(2) receptor availability in OCD with and without comorbid social

- anxiety disorder: preliminary findings. *Depress Anxiety* 25: 1–7.  
<https://doi.org/10.1002/da.20268>
50. Zhang H, Wang B, Li K, Wang X, Li X, Zhu J, Zhao Q, Yang Y, Lv L, Zhang M, Zhang H (2019) Altered Functional Connectivity Between the Cerebellum and the Cortico-Striato-Thalamo-Cortical Circuit in Obsessive-Compulsive Disorder. *Front Psychiatry* 10: 522.  
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00522>
  51. DiCarlo GE, Aguilar JJ, Matthies HJ, Harrison FE, Bundschuh KE, West A, Hashemi P, Herborg F, Rickhag M, Chen H, Gether U, Wallace MT, Galli A (2019) Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. *J Clin Invest* 129: 3407–3419.  
<https://doi.org/10.1172/JCI127411>
  52. Saadat KS, Elliott JM, Colado MI, Green AR (2006) The acute and long-term neurotoxic effects of MDMA on marble burying behaviour in mice. *J Psychopharmacol* 20: 264–271.  
<https://doi.org/10.1177/0269881106058022>
  53. Fujino K, Yoshitake T, Inoue O, Ibi N, Kehr J, Ishida J, Nohta H, Yamaguchi M (2002) Increased serotonin release in mice frontal cortex and hippocampus induced by acute physiological stressors. *Neurosci Lett* 320: 91–95.  
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)00029-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)00029-0)
  54. Heisler LK, Pronchuk N, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GS, O'Rahilly S, Colmers WF, Elmquist JK, Tecott LH (2007) Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. *J Neurosci* 27: 6956–6964.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2584-06.2007>
  55. Sesack SR, Hawrylak VA, Matus C, Guido MA, Levey AI (1998) Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *J Neurosci* 18: 2697–2708.
  56. Giros B, Wang YM, Suter S, McLeskey SB, Piffl C, Caron MG (1994) Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J Biol Chem* 269: 15985–15988.
  57. Gu H, Wall SC, Rudnick G (1994) Stable expression of biogenic amine transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion dependence. *J Biol Chem* 269: 7124–7130.
  58. Xing B, Li YC, Gao WJ (2016) Norepinephrine versus dopamine and their interaction in modulating synaptic function in the prefrontal cortex. *Brain Res* 1641: 217–233.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.005>
  59. Ranjbar-Slamloo Y, Fazlali Z (2019) Dopamine and Noradrenaline in the Brain; Overlapping or Dissociate Functions? *Front Mol Neurosci* 12: 334.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00334>
  60. Paschalis A, Churchill L, Marina N, Kasymov V, Gourine A, Ackland G (2009) beta1-Adrenoceptor distribution in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett* 458: 84–88.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.04.023>
  61. Hara M, Fukui R, Hieda E, Kuroiwa M, Bateup HS, Kano T, Greengard P, Nishi A (2010) Role of adrenoceptors in the regulation of dopamine/DARPP-32 signaling in neostriatal neurons. *J Neurochem* 113: 1046–1059.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06668.x>
  62. Nomura S, Bouhadana M, Morel C, Faure P, Cauli B, Lambolez B, Hepp R (2014) Noradrenalin and dopamine receptors both control cAMP-PKA signaling throughout the cerebral cortex. *Front Cell Neurosci* 8: 247.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00247>
  63. Hayley S, Borowski T, Merali Z, Anisman H (2001) Central monoamine activity in genetically distinct strains of mice following a psychogenic stressor: effects of predator exposure. *Brain Res* 892: 293–300.  
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03262-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03262-5)
  64. Кондаурова ЕМ, Антонов ЮВ, Баженова ЕЮ, Базовкина ДВ, Науменко ВС (2020) Эффекты острого стресса у мышей, различающихся чувствительностью 5-HT1A-рецепторов к хронической активации с помощью 8-OH-DPAT. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106(9): 1069–1084. [Kondaurova EM, Antonov YV, Bazhenova EY, Bazovkina DV, Naumenko VS (2020) Acute Stress Effects on Mice Differing by Sensivity of 5-HT1A-Receptor to Chronic Activation with 8-OH-DPAT. *Russ J Physiol* 106(9): 1069–1084 (In Russ)].  
<https://doi.org/10.31857/S0869813920090010>
  65. Tajima T, Endo H, Suzuki Y, Ikari H, Gotoh M, Iguchi A (1996) Immobilization stress-induced increase of hippocampal acetylcholine and of plasma epinephrine, norepinephrine and glucose in rats. *Brain Res* 720: 155–158.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00046-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00046-7)
  66. Osborne DM, Pearson-Leary J, McNay EC (2015) The neuroenergetics of stress hormones in the hippocampus and implications for memory. *Front Neurosci* 9: 164.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00164>

67. *Subbarao KV, Hertz L* (1990) Effect of adrenergic agonists on glycogenolysis in primary cultures of astrocytes. *Brain Res* 536: 220–226.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90028-a](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90028-a)
68. *Gibbs ME, Hutchinson DS, Summers RJ* (2008) Role of beta-adrenoceptors in memory consolidation: beta3-adrenoceptors act on glucose uptake and beta2-adrenoceptors on glycogenolysis. *Neuropsychopharmacology* 33: 2384–2397.  
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301629>
69. *Irwin J, Ahluwalia P, Anisman H* (1986) Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic footshock. *Brain Res* 379: 98–103.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90260-x](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90260-x)
70. *Pacak K, Palkovits M, Kopin IJ, Goldstein DS* (1995) Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympathoadrenal activity: in vivo microdialysis studies. *Front Neuroendocrinol* 16: 89–150.  
<https://doi.org/10.1006/frne.1995.1004>
71. *Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H* (2000) Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *Eur J Pharmacol* 405: 397–406.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00569-0](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00569-0)

### **The Influence of Acute Swimming Stress on the Behavioral and Neurochemical Effects of Pyrazole[C]pyridine Derivative GIZh-72 and Diazepam in BALB/c and C57BL/6 Mice**

**N. V. Kudryashov<sup>a, b, \*</sup>, P. L. Naplekova<sup>a</sup>, A. V. Volkova<sup>a</sup>, K. A. Kasabov<sup>a</sup>, V. B. Narkevich<sup>a</sup>, V. S. Kudrin<sup>a</sup>, T. S. Kalinina<sup>a</sup>, and T. A. Voronina<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia*

\**e-mail: kunvi@mail.ru*

We have studied the impact of acute swimming stress on the behavioral and neurochemical effects of the pyrazole[c]pyridine derivative GIZh-72 (20 mg/kg, i.p.) and diazepam (1 mg/kg, i.p.). It was shown that anxiety-like behavior in open field test in BALB/c mice and marble burying test in C57BL/6 mice increased 1 hour after acute swimming stress. Decreasing of anxiety-like behavior in marble burying test was occurred in C57BL/6 mice and in open field test in both BALB/c and C57BL/6 mice 24 hours after acute stress. An increase of serotonin and a decrease of norepinephrine levels were registered in the hypothalamus in BALB/c and C57BL/6 mice, while an increase of norepinephrine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid levels and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid/dopamine ratio were occurred in the prefrontal cortex in BALB/c. These changes correlated with increasing of anxiety-like behavior, but reversal of these neurochemical changes after treatment with GIZh-72 or diazepam or 24 hours after the stress was coincident with attenuation of anxiety-like behavior. Treatment with GIZh-72 or diazepam without the stress led to a decrease of anxiety-like behavior in open field test and marble burying test in BALB/c and C57BL/6 mice. The effects of GIZh-72 in open field test and marble burying test persisted, while the effects of diazepam in open field test persisted in C57BL/6 and increased in BALB/c mice 1 hour after the stress. Anxiolytic-like effect of GIZh-72 in open field test increased in BALB/c mice, but attenuated in C57BL/6 mice that accompanied the tendency to sedative effect 24 hours after the stress. Diazepam effects in open field test increased in C57BL/6, but absence in BALB/c mice 24 hours after the stress. The effects of GIZh-72 and diazepam in marble burying test persisted in C57BL/6, but not BALB/c mice 24 hours after the stress.

*Keywords:* stress, BALB/c, C57BL/6, diazepam, GIZh-72, anxiolytic drugs, monoamines

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОСНОВНЫХ МЕДИАТОРОВ ОСТРОФАЗОВОГО ОТВЕТА (ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ и ИЛ-6) НА ПАТТЕРН ДЫХАНИЯ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ НАРАСТАЮЩЕЙ ГИПОКСИИ

© 2021 г. Ж. А. Дони́на<sup>1, \*</sup>, Е. В. Баранова<sup>1</sup>, Н. П. Александрова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: zdonina@mail.ru

Поступила в редакцию 27.04.2021 г.

После доработки 27.05.2021 г.

Принята к публикации 06.06.2021 г.

Актуальной проблемой современной медицины является выявление терапевтических мишеней для подавления “цитокинового шторма” при коронавирусной болезни (COVID-19), осложненной острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) с сопутствующей гипоксемией. Однако ключевой цитокин и его относительный вклад в патогенез ОРДС, приводящий к высокой смертности, до сих пор не определен. В работе проведена сравнительная оценка влияния повышенного системного уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО-1 $\alpha$  и ИЛ-6 на основные компоненты дыхательного цикла (паттерн дыхания) и выживаемость крыс в условиях прогрессивно нарастающей острой гипоксии. Нарастание гипоксии воспроизводили методом “возвратного дыхания” (от нормоксии до апноэ), регистрировали дыхательный объем, частоту дыхания, минутный объем дыхания, оксигенацию крови (SpO<sub>2</sub>), время наступления апноэ, процент выживаемости в постгипоксический период. Сравнительный анализ проводили при легкой, умеренной и тяжелой степени гипоксии (F<sub>I</sub>O<sub>2</sub> = 15, 12 и 8%). Показано, что нарастающая гипоксия сопровождается резким угнетением компенсаторного роста вентилизации легких у крыс с повышенным системным уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . Внутривенное введение ИЛ-6, напротив, вызывает интенсивное повышение вентилизации легких по мере нарастания гипоксии. Острая гипоксия (F<sub>I</sub>O<sub>2</sub> < 8%) у всех крыс сопровождалась нарушением ритмичного дыхания, переходящего в апноэ. Постгипоксическое восстановление дыхания (выживание) у групп с ИЛ-1 $\beta$  и ФНО-1 $\alpha$  составляло 50%, а с введением ИЛ-6 только 10% по сравнению с контролем. Результаты свидетельствуют, что повышенный уровень ИЛ-6, несмотря на отсутствие дисфункции дыхания на начальном этапе развития патологического процесса, приводит к большей смертности крыс, чем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО-1 $\alpha$ , что позволяет считать ИЛ-6 ранним прогностическим биомаркером высокого риска летального исхода при тяжелой степени гипоксии.

*Ключевые слова:* “цитокиновый шторм”, острый респираторный дистресс-синдром, нарастающая гипоксемия, паттерн дыхания, апноэ

DOI: 10.31857/S0869813921080045

Известно, что неспецифическим универсальным ответом организма на действие повреждающих экзо- и эндогенных факторов, вызванных внедрением вирусной или бактериальной инфекции, является системная воспалительная реакция [1]. Развитие системной воспалительной реакции обусловлено неконтролируемой массивной продукцией медиаторов острофазового ответа, включая провоспалительные

тельные цитокины – интерлейкин-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ) и многие другие биологически активные вещества [2]. Выработка большого количества медиаторов воспаления приводит к активации иммунных клеток и высвобождению последними новой порции медиаторов вследствие наличия неконтролируемой положительной обратной связи между этими процессами [3]. Возникает порочный круг, который вызывает разрушение тканей очага воспаления, распространение реакции на соседние ткани, выход провоспалительных цитокинов в кровеносное русло. В результате воспаление приобретает системный, генерализованный характер, охватывая весь организм в целом.

В настоящее время доказано, что каскадное высвобождение цитокинов, именуемое “цитокиновым штормом”, ассоциируется с полиорганной недостаточностью [4, 5], где в большинстве случаев органом-мишенью являются легкие [6]. Гиперактивация иммунного ответа может вызвать развитие острого респираторного дистресс-синдрома, характеризующегося пневмонией, экссудативным поражением, снижением эластических свойств легких, тромбоэмболией легочной артерии, нарушением вентиляционно-перфузионных отношений в легких и ухудшением газообмена, что в конечном итоге грозит остановкой дыхания и летальным исходом [7]. Имеются данные, что тяжесть протекания заболевания и внутрибольничная смертность пациентов усугубляются основным проявлением острого респираторного дистресс-синдрома – быстро нарастающей гипоксемией [8, 9], вызывающей дополнительную экспрессию провоспалительных цитокинов в крови, таких как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 [10]. Клинические наблюдения обнаружили наличие тесной связи между степенью и продолжительностью гипоксемии и смертностью у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом [11].

Имеются доказательства, что среди множества высвобождающихся цитокинов при системной воспалительной реакции одним из основных медиаторов вирусной пневмонии является ИЛ-1 $\beta$ , используемый в качестве биомаркера при классификации тяжести заболевания [7]. ИЛ-1 $\beta$  – наиболее изученный плеiotропный цитокин, эффекты действия которого сходны с ФНО- $\alpha$ , также относящегося к основным провоспалительным цитокинам, который в свою очередь способствует выработке других цитокинов, в том числе и ИЛ-6 [12]. Этот цитокин, обладающий как провоспалительными, так и противовоспалительными свойствами, экспрессируется стромальными и иммунными клетками, а его высвобождение регулируется, в частности, ИЛ-1 $\beta$  и фактором некроза опухолей ФНО- $\alpha$  [13]. Кроме того, любой воспалительный стимул увеличивает экспрессию ИЛ-6, что также может служить триггером для ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . Масштабные клинические исследования, проведенные на госпитализированных пациентах с диагнозом COVID-19, установили, что в отличие от легкой формы тяжелое и критическое течение заболевания отличается высокой экспрессией ИЛ-6, что коррелирует с дыхательной недостаточностью, вторичными инфекциями и смертностью. Повышенный уровень ИЛ-6 был связан с риском летального исхода также у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом без COVID-19 [6, 14].

В настоящее время в условиях пандемии коронавирусной болезни COVID-19, интенсивно разрабатываются новые подходы к терапии системного воспаления, такие как торможение продукции и активности провоспалительных цитокинов, стимуляция синтеза противовоспалительных цитокинов, поиск терапевтических мишеней для подавления цитокинового шторма. Кроме того, учитывая высокий уровень внутрибольничной смертности, существует необходимость выявления ранних прогностических биомаркеров, позволяющих стратифицировать госпитализированных пациентов в соответствии с вероятностью риска летального исхода.

Важным критерием для диагноза, расшифровки патогенеза, определения прогноза и терапевтической тактики лечения является совокупность отдельных ком-

понентов дыхательного цикла: глубина, частота дыхания, минутная вентиляция легких и др. (паттерн дыхания), который изменяется с началом и прогрессированием респираторных заболеваний. Однако относительный вклад ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в изменение паттерна дыхания на фоне прогрессивной гипоксемии практически не изучен.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилась сравнительная оценка влияния ключевых провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  на паттерн дыхания, оксигенацию крови и уровень летальности при нарастающей гипоксии.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на животных из биокolleкции “Colleкция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций России. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ – Приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики” (Зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016 № 43232), принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Исследование выполнено в острых экспериментах на 58 крысах Вистар массой 280–300 г, наркотизированных уретаном (1000 мг/кг, внутривентрикулярно). Глубина анестезии контролировалась по степени выраженности корнеального рефлекса. Крысы были разделены на 5 групп: 1-я – интактная (виварный контроль), 2-ой группе (контроль) вводили 1 мл физиологического раствора (0.9%-ный раствор NaCl), 3-ей – интерлейкин-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ , 500 нг в 1 мл физиологического раствора, рекомбинантный ИЛ-1 $\beta$  человека, ФГУП Гос. НИИ ОЧБ ФМБА, Россия); 4-ой – фактор некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ , 40 мг/кг, Sigma, США), 5-ой – интерлейкин-6 (ИЛ-6, 50 мкг/кг, Sigma, США).

После регистрации фоновых значений в условиях нормоксии в бедренную вену вводили исследуемые препараты, и через 70 мин крыс переключали на дыхание гипоксической смесью с прогрессивным снижением кислорода (от нормоксии до полной остановки дыхания), используя метод “возвратного дыхания” [15]. Фиксировали время наступления и длительность гипоксического апноэ, фракционное содержание O<sub>2</sub> во вдыхаемой газовой смеси (F<sub>1</sub>O<sub>2</sub>), выживаемость (летальность) в постгипоксическом периоде в % по отношению к контрольной группе. Прекращение дыхательной активности в течение 1 мин приравнивали к гибели животных. В ходе эксперимента изучаемые показатели регистрировали непрерывно на каждой минуте, сравнительную оценку проводили при F<sub>1</sub>O<sub>2</sub> = 15, 12 и 8%.

Основные показатели внешнего дыхания – объемную скорость инспираторного потока (Vi), дыхательный объем (ДО), частоту дыхания (ЧД), регистрировали пневмотахографическим методом. Минутный объем дыхания (МОД) рассчитывали как произведение ЧД и ДО. Для измерения внутригрудного (внутриплеврального) давления (ВГД) использовали баллонографический метод. Оксигенацию крови (SpO<sub>2</sub>%) определяли методом пульсоксиметрии, используя ветеринарный пульсоксиметр типа UT (Zoomed, Россия). F<sub>1</sub>O<sub>2</sub> во вдыхаемой смеси измеряли анализатором кислорода ПГК-06 (Инсовт, Санкт-Петербург), диоксида углерода (F<sub>1</sub>CO<sub>2</sub>) – многокомпонентным газоанализатором МАГ-6П (Эквис, Москва). Эвтаназию животных после эксперимента осуществляли передозировкой уретана.

Сигналы пневмотахограммы и внутригрудного давления оцифровывались и сохранялись на твердом диске персонального компьютера при помощи аппаратно-

**Таблица 1.** Средние значения показателей внешнего дыхания и оксигенация крови у крыс после введения NaCl, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в условиях нормоксии

Показатели	Интактные ( <i>n</i> = 10)	Через 70 мин после введения препаратов			
		NaCl (контроль) ( <i>n</i> = 12)	ИЛ-1 $\beta$ ( <i>n</i> = 12)	ФНО- $\alpha$ ( <i>n</i> = 12)	ИЛ-6 ( <i>n</i> = 12)
Дыхательный объем, мл	0.9 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.4*	1.4 $\pm$ 0.2*	1.2 $\pm$ 0.1
Частота дыхания, мин <sup>-1</sup>	80 $\pm$ 5	83 $\pm$ 4	93 $\pm$ 5*	78 $\pm$ 1	79 $\pm$ 0.1
Минутный объем дыхания, мл/мин	90.2 $\pm$ 7.1	92.3 $\pm$ 6.5	214.9 $\pm$ 7.0**	120.5 $\pm$ 5.4*	95.2 $\pm$ 4.3
Внутригрудное давление, см водн. ст.	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.2*	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1
Насыщение артериальной крови кислородом, %	96 $\pm$ 1	95 $\pm$ 1	88 $\pm$ 3*	95 $\pm$ 2	84 $\pm$ 4*

Данные представлены в виде среднего значения и ошибки средней ( $M \pm SE$ );

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$  по сравнению с контролем (введение физиологического раствора).

программного комплекса, созданного на основе устройства сбора биологических данных Biograf-7 (разработка ГУАП, Санкт-Петербург, Россия).

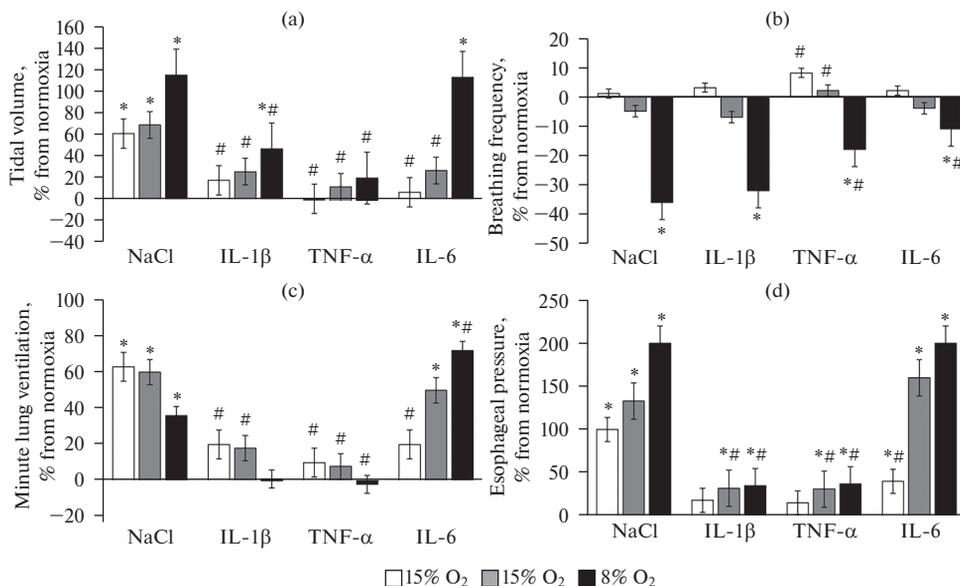
Статистический анализ данных производился с использованием пакетов программы Statistica 10.0 (Windows) и Microsoft Office Excel 2020. Для проверки выборки на нормальность распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова, уровень значимости составлял  $p \geq 0.2$ , это свидетельствовало о том, что групповые выборки данных подчинялись закону нормального распределения. Затем оценивали значения до и после инъекций препаратов, используя парный критерий Стьюдента и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для факторов “гипоксия–нормоксия” и “контроль–препарат”. Различия считали достоверными при  $p < 0.05$ , данные на рисунках и в таблице представлены в виде среднего значения  $\pm$  ошибка средней ( $M \pm SE$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как следует из табл. 1, в условиях нормоксии достоверные изменения всех исследованных показателей наблюдались только при повышении ИЛ-1 $\beta$ , влияние ФНО- $\alpha$  вызывало повышение ДО и МОД, ИЛ-6 не оказывал влияния на параметры внешнего дыхания.

При гипоксическом воздействии в контрольной группе при легкой (15% O<sub>2</sub>) и умеренной (12% O<sub>2</sub>) степени гипоксии наблюдался интенсивный прирост МОД – на 63  $\pm$  12 и 60  $\pm$  10% ( $p < 0.05$  соответственно) по сравнению с нормоксией, при острой гипоксии (8% O<sub>2</sub>) МОД увеличивался в меньшей степени – на 36  $\pm$  7% (рис. 1с).

Подобная динамика МОД при гипоксии наблюдалась и у крыс с введением ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , различия касались степени прироста, который был значительно ниже, чем у контрольных крыс. Так, у крыс с ИЛ-1 $\beta$  МОД на уровне 15% O<sub>2</sub> повышался на 20  $\pm$  7%, при 12% O<sub>2</sub> – на 18  $\pm$  8%, а при 8% O<sub>2</sub> прирост МОД отсутствовал, его величина соответствовала значениям при нормоксии (рис. 1с). В группе с ФНО- $\alpha$  при 15% O<sub>2</sub> МОД повышался на 10  $\pm$  3%, при 12% O<sub>2</sub> – на 18  $\pm$  4% ( $p > 0.05$  соответственно), на уровне 8% O<sub>2</sub> прироста МОД не происходило. Снижение приростов МОД при гипоксии у крыс с повышенным уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  происходило в результате уменьшения приростов инспираторных колебаний внутригрудного давления и ДО (рис. 1а, d). Частота дыхания при легкой и умеренной степени гипо-



**Рис. 1.** Приросты показателей внешнего дыхания на нарастающую гипоксию у крыс с повышенным уровнем ИЛ-1β, ФНО-α и ИЛ-6.

Данные представлены как среднее ± ошибка средней ( $M \pm SE$ ), ( $n = 12$  в каждой группе);

\*  $p < 0.05$  по сравнению с нормоксией, #  $p < 0.05$  по сравнению с контролем (введение физиологического раствора).

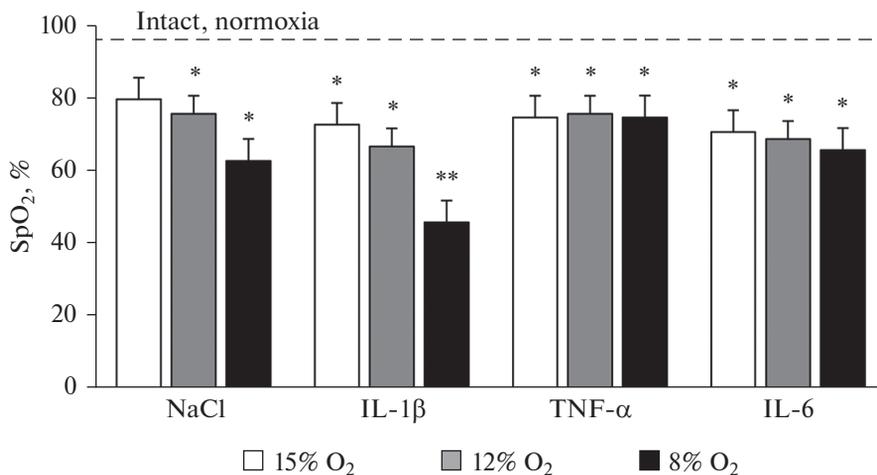
По оси абсцисс – исследованные группы; по оси ординат – приросты в % от нормоксии: панель (а) – дыхательный объем, (б) – частота дыхания, (с) – минутная вентиляция легких, (д) – внутригрудное давление.

На рис. 1 показано, что резкое ослабление вентиляторной реакции на прогрессирующую гипоксию наблюдалось при повышении системного уровня ИЛ-1β и ФНО-α. ИЛ-6 не подавлял вентиляторную реакцию на усиление гипоксии, вызывая лишь незначительное снижение частоты дыхания, но не влияя на другие параметры по сравнению с контрольными животными.

ксии изменялась незначительно. И в контрольной, и в экспериментальных группах достоверное уменьшение ЧД наблюдалось лишь при тяжелой степени гипоксии (8% O<sub>2</sub>) (рис. 1б).

У крыс с повышенным системным уровнем ИЛ-6 наблюдалась противоположная динамика изменений респираторных параметров. По мере нарастания гипоксии наблюдалось существенное увеличение прироста МОД относительно нормоксии. Так, при 15% O<sub>2</sub> прирост МОД составлял  $20 \pm 3\%$  ( $p > 0.05$ ), при 12% O<sub>2</sub> –  $50 \pm 9\%$ , при 8% O<sub>2</sub> –  $72 \pm 13\%$  ( $p < 0.05$  соответственно). При этом наблюдалось достоверное увеличение приростов ДО и ВГД, превышающее при тяжелой степени гипоксии соответствующие значения, зарегистрированные в контрольной группе (рис. 1а, д). ЧД снижалась в меньшей степени, чем у животных других групп.

Оксигенация крови (SpO<sub>2</sub>%) по мере нарастания гипоксии уменьшалась во всех исследованных группах по сравнению с контролем при нормоксии (95%). Максимально выраженное снижение SpO<sub>2</sub>% (до 46%) наблюдалось у крыс с ИЛ-1β при острой степени гипоксии, при этом динамика падения SpO<sub>2</sub>% по мере нарастания гипоксии была сравнима с контролем. У крыс с ФНО-α SpO<sub>2</sub> стабилизировалась



**Рис. 2.** Влияние гипоксии различной степени на оксигенацию крови у крыс с повышенным уровнем ИЛ-1β, ФНО-α и ИЛ-6.

Данные представлены как среднее ± ошибка средней ( $M \pm SE$ ), ( $n = 12$  в каждой группе);

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$  по сравнению с интактными крысами при нормоксии.

По оси абсцисс — исследованные группы;

по оси ординат — абсолютные значения оксигенации ( $SpO_2$ ), пунктирная линия соответствует исходным значениям  $SpO_2$  у контрольных крыс при нормоксии.

на уровне 75%, независимо от степени нарастания гипоксии (рис. 2). Влияние ИЛ-6 также вызывало снижение сатурации по мере нарастания гипоксии, при максимальной степени гипоксии ( $F_1O_2 = 8\%$ )  $SpO_2$  составляла 66%.

Нарастающая острая гипоксия ( $F_1O_2 < 8\%$ ) во всех сериях сопровождалась нарушением ритмичного дыхания, переходящего в апноэ. Однако следует отметить, что остановка дыхания у исследованных групп возникала при разной степени гипоксии: в контрольной группе апноэ наблюдалось при  $F_1O_2$  3–4%  $O_2$ , в группах с введением ИЛ-1β — 7–8%  $O_2$ , с ФНО-α — 3–4%  $O_2$ , ИЛ-6 — 6–7%  $O_2$ . Постгипоксическое восстановление инспираторной активности (выживаемость) у групп с повышенным уровнем ИЛ-1β и ФНО-α уменьшалось в 2 раза по сравнению с контролем, т.е. дыхание восстанавливалось только у 50% экспериментальных животных, тогда как в контрольной группе выживаемость составляла 100%. Наибольший уровень летальности был выявлен у крыс с введением ИЛ-6, у которых спонтанное восстановление дыхания в постгипоксическом периоде наблюдалось только в 10% случаев.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сравнительный анализ респираторных эффектов трех ключевых провоспалительных цитокинов показал, что у крыс с введением ИЛ-1β и ФНО-α снижается компенсаторное увеличение легочной вентиляции на гипоксическую стимуляцию по сравнению с контролем, в то время как действие ИЛ-6 оказывает противоположный эффект, т.е. не угнетает, а повышает прирост вентиляции легких по мере усиления гипоксического воздействия. Особенно резкие различия наблюдаются при действии тяжелой степени гипоксии (8%  $O_2$ ).

Отрицательная динамика приростов МОД внутри отдельных исследованных групп (контроль, ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ ) наблюдалась на фоне положительной динамики ВГД и ДО и была вызвана существенным снижением частоты дыхательных движений. Наиболее резкое снижение частоты дыхания наблюдалось при тяжелой степени гипоксии. Вместе с тем, при положительной динамике ВГД и ДО в группах с повышенным системным уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  прирост этих параметров был значительно ниже, чем в контрольной группе животных. При тяжелой степени гипоксии на фоне действия ИЛ-6 частота дыхания снижалась в меньшей степени, чем в контрольной группе, а прирост ДО соответствовал контрольному уровню. В результате МОД при сочетанном воздействии тяжелой гипоксии и ИЛ-6 был выше, чем в контрольной и других экспериментальных группах.

К настоящему времени установлено, что цитокины ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  вовлечены в нейроиммунные взаимодействия в областях мозга, ответственных за центральную регуляцию дыхания. Это подтверждают данные, указывающие, что рецепторы ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  обнаружены в ядре солитарного тракта и вентролатеральном отделе продолговатого мозга [12, 16, 17]. Также установлено, что ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  экспрессируются на сенсорных клетках каротидного тела, снижая чувствительность гломусных клеток к дефициту кислорода [18]. Следовательно, нейроиммунные взаимодействия, опосредованные ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  могут участвовать и в периферических механизмах регуляции дыхания, модулирующих реакцию на гипоксию и насыщение артериальной крови кислородом. Как было показано на модели острого воспаления легких, в бронхоальвеолярной жидкости и ткани легкого повышается уровень ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , но не ИЛ-6 [19].

Кроме того, в отличие от ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 обладает не только провоспалительными, но и противовоспалительными свойствами [20]. Более того, ИЛ-6 классифицируется как миокин, экспрессируемый мышечными волокнами при физической нагрузке [21]. Показано, что ИЛ-6 проявляет противовоспалительные свойства при сокращении мышц, а повышенный уровень ИЛ-6 в плазме дополнительно вызывает экспрессию более мощных противовоспалительных цитокинов – ИЛ-10 и антагониста рецепторов ИЛ-1 $\beta$  и в то же время ингибирует синтез провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  [21]. Эти данные могут в некоторой степени объяснить полученные нами различия в реакциях внешнего дыхания на нарастающую гипоксию между группами с повышенным системным уровнем ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и группой с повышенным уровнем ИЛ-6.

Результаты нашего исследования указывают на то, что ИЛ-6 в меньшей степени влияет на систему внешнего дыхания, чем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . Установлено, что он не оказывает прямого негативного воздействия на основную инспираторную мышцу – диафрагму [22]. Полученные нами результаты согласуются с этими данными, поскольку в условиях нормоксии ИЛ-6 не вызывал снижения внутригрудного давления, отражающего общее усилие инспираторных мышц. Нарастающая гипоксия на фоне действия ИЛ-6 вызывала усиление сокращений инспираторных мышц, увеличение внутригрудного давления и соответствующее повышение вентиляции легких. Однако несмотря на отсутствие дыхательной недостаточности и значительного снижения сатурации у этой группы крыс, выживаемость составляла только 10% по сравнению с контролем, т.е. была в 5 раз меньше, чем у других экспериментальных групп. Обнаруженные нами факты можно объяснить следующими причинами. Известно, что в клинической практике для выявления гипоксемии часто используется неинвазивный метод пульсоксиметрии (SpO<sub>2</sub>), который, однако, отображает не истинное напряжение кислорода в артериальной крови (PaO<sub>2</sub>), а насыщение гемоглобина кислородом. В соответствии с физиологическими принципами [23] высвобождение кислорода из гемоглобина в кровь зависит прежде всего от положения кривой диссоциации оксигемоглобина, имеющей S-образную

форму. Гипокапния и респираторный алкалоз, возникающие в результате гипервентиляции, смещая кривую диссоциации влево, увеличивают сродство гемоглобина к кислороду, затрудняя его переход в кровь, что объясняет высокий уровень  $SpO_2$  при очень низком  $PaO_2$  [24]. Подобное несоответствие между тяжестью гипоксемии и незначительным дыхательным дискомфортом, так называемая “тихая гипоксия” или “счастливая гипоксия” было обнаружено у больных с COVID-19 [8], а также в условиях пребывания здоровых людей на высоте, когда гипокапния значительно сдвигает кривую диссоциации оксигемоглобина и повышает насыщение гемоглобина кислородом [25]. Исходя из этих фактов, можно предположить, что одной из вероятных причин высокой смертности у крыс с введением ИЛ-6 может являться тяжелая артериальная гипоксемия, несмотря на сохранение  $SpO_2$  и отсутствие признаков дыхательной недостаточности [26]. У крыс с повышенным уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  наблюдалось значительное угнетение легочной вентиляции при нарастающей гипоксии, в этих условиях гиповентиляция неизбежно сопровождается гиперкапнией [27]. Возможно, что отсутствие гипокапнии в этих группах способствовало более высокой выживаемости животных.

Выявленные различия в уровне насыщения артериальной крови кислородом при нарастающей гипоксии между исследуемыми группами, позволяют говорить о наличии множественных механизмов влияния исследуемых цитокинов на развитие гипоксемии. Имеются данные о том, что помимо изменения положения кривой диссоциации оксигемоглобина возможно влияние цитокинов непосредственно на гемовую группу гемоглобина [28], образование внутрилегочного шунтирования [29], нарушение вентиляционно-перфузионных отношений и диффузионной способности легких [30], появление внутрисосудистых микротромбов [31] и др.

Кроме того, более высокий уровень летальности животных при действии ИЛ-6, несмотря на отсутствие декомпенсации дыхательной функции, мог быть связан с его негативным влиянием не на дыхательную, а на сердечно-сосудистую систему. Показано, что микроинъекция ИЛ-6 непосредственно в ядро солитарного тракта модулирует входные (афферентные) сигналы от барорецепторов, участвуя в регуляции сердечно-сосудистой системы [32].

Таким образом, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в условиях прогрессивно нарастающей гипоксии оказывают различное модулирующее влияние на паттерн дыхания, насыщение гемоглобина кислородом и выживаемость крыс после гипоксического апноэ. ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  вызывают острую дыхательную недостаточность, развивающуюся уже на ранней стадии развития патологического процесса, в результате угнетения компенсаторного увеличения легочной вентиляции на возрастающий гипоксический стимул, опосредованное нарушением центральных и периферических механизмов регуляции дыхания. ИЛ-6, несмотря на отсутствие явных признаков дыхательной декомпенсации, в отличие от ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  приводит к большей смертности крыс, вероятно, в результате более быстрого нарастания артериальной гипоксемии. Полученные факты могут служить основанием для оценки системного уровня ИЛ-6 в качестве раннего прогностического биомаркера вероятности (высокого риска) летального исхода при тяжелых формах острого респираторного дистресс-синдрома.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета, выделяемых на выполнение Государственного задания.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Постановка задачи, планирование эксперимента, написание статьи – Ж.А.Д., проведение экспериментов, сбор данных и их обработка – Е.В.Б., редактирование статьи – Н.П.А.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Симбирцев АС, Тотолян АА* (2015) Цитокины в лабораторной диагностике. Инфекционные болезни: Новости Мнения Обучение 2: 82–98. [*Simbircev AS, Totolyan AA* (2015) Cytokines in laboratory diagnosis. Infectious diseases: News Views Education 2: 82–98. (In Russ)].
2. *Hocker AD, Stokes AJ, Powell FL, Huxtable AG* (2017) The impact of inflammation on respiratory plasticity. *Exp Neurol* 287: 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.07.022>
3. *Behrens EM, Koretzky GA* (2017) Review: Cytokine storm syndrome: Looking toward the precision medicine era. *Arthritis & Rheumatol* 69: 1135–1143. <https://doi.org/10.1002/art.40071>
4. *Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, Van De Veen W, Bruggen MC, O'Mahony L, Gao Y, Nadeau K, Akdis AC* (2020) Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 75: 1564–1581. <https://doi.org/10.1111/all.14364>
5. *Sun X, Wang T, Cai D, Hu Z, Chen J, Liao H, Zhi L, Wei H, Zhang Z, Qiu Y, Wang J, Wang A* (2020) Cytokine storm intervention in the early stages of COVID-19 pneumonia. *Cytokine Growth Factor Rev* 53: 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.04.002>
6. *Liu BW, Li M, Zhou ZG, Guan X, Xiang YF* (2020) Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)? *J Autoimmun* 111: 102452. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102452>
7. *Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Han G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B* (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395: 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
8. *Dhont S, Eric Derom E, Braeckel EV, Depuydt P, Lambrecht BN* (2020) The pathophysiology of 'happy' hypoxemia in COVID-19. *Respirat Res* 21: 198. <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01462-5>
9. *Xie J, Covassin N, Fan Z, Singh P, Gao W, Li G, Kara T, Somers VK* (2020) Association between hypoxemia and mortality in patients with COVID-19. *Mayo Clin Proc* 95: 1138–1147. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.04.006>
10. *Bein T, Grasso S, Moerer O, Quintel M, Guerin C, Deja M, Brondani M, Mehta S* (2016) The standard of care of patients with ARDS: ventilatory settings and rescue therapies for refractory hypoxemia. *Intensive Care Med* 42: 699–711. <https://doi.org/10.1007/s00134-016-4325-4>
11. *Gilbert JA* (2018) Advancing towards precision medicine in ARDS. *Lancet Respir Med* 6: 494–495. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30156-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30156-5)
12. *Yee-Hsee H, Litvin DG, Abigail RZ, Nethery DE, Thomas ED, Jacono FJ* (2020) Brainstem inflammation modulates the ventilatory pattern and its variability after acute lung injury in rodents. *J Physiol* 598: 2791–281. <https://doi.org/10.1113/JP280060>
13. *Hunter CA, Jones SA* (2015) IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol* 16: 448–457. <https://doi.org/10.1038/ni.3153>
14. *Somers EC, Eschenauer GA, Troost JP, Golob JL, Gandhi TN, Wang L, Zhou N, Petty LA, Baang JH, Dillman NO, Frame D, Gregg KS, Kaul DR, Nagel J, Patel TS, Zhou S, Lauring AS, Hanauer DA, Martin E, Sharma P, Fung CM, Pogue JM* (2020) Tocilizumab for treatment of mechanically ventilated patients with COVID-19. *Clin Infect Dis* 2020 ciaa954 <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa954>
15. *Донина ЖА, Баранова ЕВ, Александрова НП* (2019) Ингибирование гиперпродукции оксида азота в условиях прогрессивно нарастающей гипоксии на фоне действия ИЛ-1 $\beta$  снижает выживаемость крыс после острой гипоксии. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105: 1514–1525. [*Donina ZhA, Baranova EV, Alexandrova NP* (2019) Inhibition of the hyper-production of nitric oxide during progressively increasing hypoxia under the action of IL-1 $\beta$  reduces the survival of rats after acute hypoxia. *Russ J Physiol* 105: 1514–1525. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/S0869813919120033>

16. *Probert L* (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience* 302: 2–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.038>
17. *Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H* (2020) Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. *ACS Chem Neurosci* 11: 995–998.  
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>
18. *Liu X, He L, Stensaas L, Dinger B, Fidone S* (2009) Adaptation to chronic hypoxia involves immune cell invasion and increased expression of inflammatory cytokines in rat carotid body. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 296: 158–166.  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.90597.2008>
19. *Jacono FJ, Mayer CA, Hsieh Y-H, Wilson CG, Dick TE* (2011) Lung and brainstem cytokine levels are associated with breathing pattern changes in a rodent model of acute lung injury. *Respir Physiol Neurobiol* 178: 429–438.  
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.04.022>
20. *Petersen AMW, Pedersen BK* (2005) The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 98: 1154–1162.  
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00164.2004>
21. *Pedersen BK, Akerstrom TCA, Nielsen AR, Fischer CP* (2007) Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol* 103: 1093–1098.  
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00080.2007>
22. *Janssen SPM, Gayan-Ramirez G, Van den Bergh A, Herijgers P, Maes K, Verbeke E, Decramer M* (2005) Interleukin-6 causes myocardial failure and skeletal muscle atrophy in rats. *Circulation* 111: 996–1005.  
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000156469.96135.0D>
23. *Hamilton C, Steinlechner B, Gruber E, Simon P, Wollenek G* (2004) The oxygen dissociation curve: quantifying the shift. *Perfusion* 19: 141–144.  
<https://doi.org/10.1191/0267659104pf734oa>
24. *Woyke S, Rauch S, Strohle M, Gatterer H* (2021) Modulation of Hb-O<sub>2</sub> affinity to improve hypoxemia in COVID-19 patients. *Clin Nutr* 40: 38–39.  
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.036>
25. *Sainburg RL, Clark AL, Billman GE, Schlader ZJ, Mündel T, Milne K* (2012) Hypoxia, focus hypobaric hypoxia. *Encycl Exerc Med Heal Dis Springer Berlin Heidelberg* 428–431. Epub ahead of print.
26. *Verity R, Okell L, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, Cuomo-Dannenburg G, Thompson H, Walker P, Fu H, Dighe A, Griffin JT, Baguelin M, Bhattia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunubá Z, FitzJohn R, Gaythorpe K, Green W, Hamlet A, Hinsley W, Laydon D, Nedjati-Gilani G, Riley S, Etsland S, Volz E, Wang H, Wang Y, Xi X, A Donnelly C, Ghani AC, Ferguson NM* (2020) Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect Dis* 20: 669–677.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30243-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30243-7)
27. *Kimura D, Totapally BR, Raszynski A, Ramachandran C, Torbati D* (2008) The effects of CO<sub>2</sub> on cytokine concentrations in endotoxin-stimulated human whole blood. *Crit Care Med* 36: 2823–2827.  
<https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318186f556>
28. *Liu W, Hualan L* (2020) COVID-19: Attacks the 1-Beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. *Chem Rxiv*. Epub ahead of print.  
<https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11938173.v4>
29. *Komorowski M, Aberegg S* (2020) Using applied lung physiology to understand COVID-19 patterns. *Br J Anaesth* 125: 250–253.  
<https://doi.org/10.1016/j.bja.2020.05.019>
30. *Ottestad W, Hansen TA, Pradhan G, Stepanek J, Hoiseth LO, Kasin JL* (2017) Acute hypoxia in a simulated high-altitude airdrop scenario due to oxygen system failure. *J Appl Physiol* 123: 1443–1450.  
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00169.2017>
31. *Jia HP, Look DC, Shi L, Hickey M, Pewe L, Netland J, Farzan M, Wolford-Lenane C, Perlam S, Paul B, McCray Jr* (2005) ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol* 79: 14614–14621.  
<https://doi.org/10.1128/JVI.79.23.14614-14621.2005>
32. *Takagishi M, Waki H, Bhuiyan ME, Gouraud SS, Kohsaka A, Cui H, Yamazaki T, Paton JF, Maeda M, Takagishi M, Waki H, Bhuiyan ME, Gouraud SS, Kohsaka A, Cui H, Yamazaki T, Paton JF, Maeda M* (2010) IL-6 microinjected in the nucleus tractus solitarius attenuates cardiac baroreceptor reflex function in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298:183–190.  
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00176.2009>

**Comparative Assessment of the Effect of the Main Mediators of Acute Phase Response (IL-1, TNF- $\alpha$  and IL-6) on Breathing Pattern and Survival in Rats with Acute Progressive Hypoxia**

**Zh. A. Donina<sup>a, \*</sup>, E. V. Baranova<sup>a</sup>, and N. P. Aleksandrova<sup>a</sup>**

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

*\*e-mail: zdonina@mail.ru*

An actual problem of modern medicine is the identification of therapeutic targets for suppressing the “cytokine storm” in COVID-19, complicated by acute respiratory distress syndrome (ARDS) with concomitant hypoxemia. However, the key cytokine and its relative contribution to the pathogenesis of ARDS, which leads to high mortality is unknown. A comparative assessment of the combined effect of IL-1 $\beta$ , TNF-1 $\alpha$  and IL-6 and increasing acute hypoxia on the respiratory patterns and survival of rats was carried out. Increasing hypoxia was simulated by the “rebreathing method” (from normoxia to apnea), respiratory patterns, oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>), time of apnea onset, posthypoxic survival rate were recorded, comparative analysis was performed at FiO<sub>2</sub> = 15, 12 and 8%. It was shown that under normoxia, 70 minutes after cytokine administration, only in rats with IL-1 $\beta$  there were significant shifts in all parameters, TNF-1 $\alpha$  caused an increase in minute lung ventilation (MLV) while IL-6, without affecting respiration, led to a decrease in SpO<sub>2</sub>. Increasing hypoxia inhibited of MLV with IL-1 $\beta$  and TNF-1 $\alpha$ , however IL-6 caused an intense increase. Acute hypoxia (FiO<sub>2</sub> < 8%) in all series caused apnea. Posthypoxic survival with IL-1 $\beta$  and TNF-1 $\alpha$  was 50%, and with IL-6 only 10%. The results indicate that elevated level of IL-6, despite the absence of respiratory disorders at the initial stage of the pathologic process leads to greater mortality in rats, than IL-1 $\beta$  and TNF-1 $\alpha$ . This allows consider IL-6 as an early prognostic biomarker of a high risk of mortality.

**Keywords:** “cytokine storm”, acute respiratory distress syndrome, increasing hypoxemia, apnea

**АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН  
НА ПАССИВНУЮ ГИПЕРТЕРМИЮ СОПРОВОЖДАЮТСЯ ПОВЫШЕНИЕМ  
УРОВНЯ ИРИСИНА В КРОВИ**

© 2021 г. О. С. Глазачев<sup>1</sup>, \*, С. Ю. Крыжановская<sup>1</sup>, Е. Н. Дудник<sup>1</sup>, М. А. Запара<sup>1</sup>,  
В. Г. Самарцева<sup>1</sup>, А. Д. Лыфенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
(Сеченовский университет), Москва, Россия

\*E-mail: glazachev@mail.ru

Поступила в редакцию 24.03.2021 г.

После доработки 24.04.2021 г.

Принята к публикации 28.04.2021 г.

Цель работы: оценка адаптивных физиологических реакций на процедуры пассивной гипертермии (ПГ), включая определение сыровоточных концентраций ирисина, мозгового нейротрофического фактора (МНТФ, BDNF), кортизола и инсулиноподобного фактора роста (ИФР1) у практически здоровых молодых людей в динамике двухнедельного курса процедур. Методы. 15 молодых мужчин прошли 2-недельный курс из 10 процедур ПГ: 40 мин в капсуле инфракрасного нагревания тела при 65–80°C (голова находится вне капсулы). Регистрировали ЧСС, АД, SpO<sub>2</sub>, температуру и массу тела до и после процедур ПГ. Уровень гормонов в сыровотке крови оценивали в динамике первой и десятой процедур и сравнивали с данными, полученными в ходе плацебо-процедур, проведенных с той же периодичностью и продолжительностью за 3 недели до курса ПГ. Результаты. В ходе всех процедур ПГ снижались значения систолического АД и SpO<sub>2</sub>, повышались ЧСС и температура тела в среднем на 2.0–3.2°C. Значения индекса физиологического напряжения в диапазоне 4–6 усл. ед., небольшой прирост кортизола только после 1-й процедуры свидетельствуют об умеренном тепловом стрессе при ПГ. Признак тепловой адаптации – увеличение потерь пота в течение курса. После первой и после 10-й процедур ПГ повысились концентрации ирисина (на 16 и 18.8% соответственно) и МНТФ (на 8.2 и 7%), причем после 10-й ПГ отмечена прямая связь между динамикой этих миокинов:  $r\Delta\text{Irisin}-\Delta\text{BDNF} = 0.52$  ( $p = 0.04$ ). После плацебо-процедур изменений не наблюдалось. Вывод. Процедуры двухнедельного курса ПГ вызывают развитие умеренного теплового стресса, при котором наблюдаются адаптивные сдвиги. Концентрации ирисина и МНТФ повышались в динамике и первой и заключительной процедур. Предполагается, что ирисин и МНТФ – участники позитивных перекрестных эффектов адаптации к ПГ. Полученные результаты важны для развития технологий адаптивной медицины.

*Ключевые слова:* адаптация, пассивная гипертермия, миокин, ирисин, мозговой нейротрофический фактор, кортизол, инсулиноподобный фактор роста

DOI: 10.31857/S0869813921080069

В современных условиях значительных экологических нагрузок все большую актуальность для сохранения психосоматического здоровья человека приобретает развитие технологий, основанных на тренировке естественных защитных ресурсов

организма, его адаптационного потенциала [1]. Среди таких методов адаптационной медицины – контрастные температурные воздействия, гипоксические тренировки, физические нагрузки и пр. [1–3]. Адаптация к регулярным тепловым процедурам, пассивной гипертермии (ПГ) – один из распространенных подходов профилактической и реабилитационной медицины, применение которого может быть расширено при более четком методическом обосновании и раскрытии индуцируемых срочных и отсроченных эффектов [3]. Так, позитивное влияние гипертермии на результаты спортивной деятельности дискутируется [4, 5]. Согласно ранее проведенным нами исследованиям, адаптация к продолжительному курсу ПГ сопровождается ростом аэробной работоспособности и кардио-респираторной выносливости [6], повышает субъективные оценки качества жизни и уровень сывороточного мозгового нейротрофического фактора (МНТФ, brain-derived neurotrophic factor – BDNF) и белков теплового шока [7]. Одним из регуляторов синтеза МНТФ является миокин ирисин [8], что позволило предположить гипертермическую индукцию МНТФ опосредованной секрецией/высвобождением скелетными мышцами и адипоцитами этого тканевого гормона.

Интенсивно изучаемые в последнее время миокины рассматриваются как факторы, участвующие в формировании адаптивных изменений при физических тренировках, оказывая множественные ауто-, пара- и эндокринные эффекты [8–10]. Одним из наиболее известных и “привлекательных” с терапевтической точки зрения является ирисин: описаны его стимулирующие влияния на метаболизм, регенерацию мышечных и костной тканей, функцию эндотелия, антиоксидантную защиту, продукцию иных ростовых факторов (включая МНТФ) и даже замедление старения [8, 9, 11]. Пока не ясны механизмы регуляции секреции ирисина и ее взаимосвязь с другими веществами, участвующими в реакции организма на стресс, в том числе кортизолом и ростовыми факторами. Лучшее понимание интеграции между катаболическими, анаболическими гормонами и миокинами позволило бы адекватно оценивать и прогнозировать развитие перекрестных адаптивных эффектов при применении различных нелекарственных методов.

Вместе с физическими нагрузками, на образование ирисина оказывают влияние температурные воздействия. Так, обнаружена стимуляция его секреции при воздействии холодом как в эксперименте [12], так и в условиях арктического климата [13]. Этот эффект вполне логичен, учитывая активацию синтеза митохондриальных белков-разобщителей под влиянием ирисина. Предполагается, что кроме терморегуляции, такие белки важны для защиты тканей от чрезмерного окислительного стресса [11, 14].

Недавно описано повышение уровня ирисина в крови при выполнении акклиматизации спортсменов [15]. По данным других авторов, динамика содержания ирисина в сыворотке крови после физической нагрузки не зависит от температуры окружающей среды [16]. Изолированное влияние прогревания (без сочетания с упражнениями) на секрецию ирисина пока не изучено. На наш взгляд, это вполне возможно, учитывая положительные перекрестные эффекты гипертермии в отношении скелетных мышц [5]. Так, повторяющиеся тепловые воздействия поддерживают ферментативную активность митохондрий и ослабляют атрофию скелетных мышц у иммобилизованного человека [4].

Среди главных анаболических стимулов – инсулиноподобный фактор роста (ИФР1), уровень которого повышается под влиянием и физической нагрузки, и пассивного прогревания [10, 17]. ИФР1 модулирует эффекты и секрецию МНТФ [10], его связь с ирисином изучается [18].

Цель работы: оценка адаптивных “ответов” на процедуры пассивной гипертермии (ПГ), в том числе определение сывороточных концентраций ирисина, МНТФ,

кортизола и ИФР1 у практически здоровых молодых людей в динамике курса двух-недельной адаптации к ПГ.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования — сбалансированное, продольное, перекрестное. В исследование исходно было отобрано 23 относительно здоровых молодых добровольца. Все участники имели средний уровень ежедневной физической активности, оцененной применением опросника ВОЗ. Большинство имели минимальный предварительный опыт посещения сауны/бани — не регулярно и не чаще 1–2 раза в месяц (8 добровольцев сообщили о посещениях сауны с частотой 2–3 раза в месяц). Сначала добровольцы прошли 10 псевдо-гипертермических (плацебо) процедур в течение 2 недель: находились в капсуле в течение 40 мин при температуре комфорта — 24–25°C. Через три недели по окончании первого этапа исследования (wash-out period) обследуемые прошли по 10 процедур ПГ, длительностью 40 мин каждая.

**Гипертермические процедуры.** Применялась капсула “Альфа Бэйсик” (Sybaritic Inc., Minnesota, США) инфракрасного прогрева. Во время процедуры испытуемый лежит внутри эргономичной капсулы, при этом голова находится снаружи, с возможностью обдува прохладным воздухом вентиляторами, инсталлированными в головной конец капсулы. Температуру в капсуле устанавливали в диапазоне 65–80°C, исходя из индивидуальной переносимости, определяемой в тестовой процедуре. Технические особенности капсул и методические детали проведения процедур описаны нами ранее [7]. Все участники были инструктированы посещать процедуры в первой половине дня, через 8–10 ч после приема пищи, в достаточно гидратированном состоянии, но не пить воду за 30 мин до и в течение всей процедуры. Участникам было рекомендовано не менять привычного режима, не заниматься интенсивными физическими тренировками.

**Регистрация физиологических параметров.** В динамике каждой процедуры осуществляли мониторинг значений сатурации крови кислородом ( $SpO_2$ ) и ЧСС с помощью пульсоксиметра MD300 (BCE Tech, КНР). Температуру тела оценивали исходно, через 20 мин и по окончании процедуры (инфракрасный термометр AND DT-635, AND, Япония), учитывали усредненные данные двукратного измерения в обеих подмышечных областях. До и сразу после каждой процедуры ПГ у обследуемого, находящегося в ложе капсулы, измеряли значения ЧСС, систолического и диастолического артериального давления (АД) (автоматический тонометр AND UA-767, AND, Япония). До и после каждой процедуры измеряли массу тела.

На основании регистрируемых параметров рассчитывали интегральные индексы, отражающие в целом переносимость обследуемым гипертермического стресса: индекс физиологического напряжения (ИФН) и интенсивность потоотделения за процедуру. ИФН (Physiological Strain Index — PSI) рассчитывался по следующей формуле:  $PSI = 5(T_s - T_o)/(39.5 - T_o) + 5(ЧСС_s - ЧСС_o)/(180 - ЧСС_o)$ , где  $T_s$  и  $ЧСС_s$  — максимальные значения температуры тела обследуемого и ЧСС при гипертермическом стрессе,  $T_o$  и  $ЧСС_o$  — исходные значения температуры тела и ЧСС обследуемого. Диапазон вариаций ИФН от 0 (отсутствие напряжения), 4–5 — умеренное напряжение, до 10 (максимальный гипертермический стресс) [19]. Интенсивность потоотделения (ИП) определяли по формуле:  $ИП = \Delta m / ППТ$ , где  $\Delta m$  — разница массы тела, измеренной до и сразу после процедуры, ППТ — площадь поверхности тела обследуемого (формула Мостеллера Р.Д., 1987)

**Забор крови и лабораторные измерения.** До и после 1-й и 10-й плацебо- и ПГ процедур медицинской сестрой проводился забор 10 мл крови из вен предплечья в предварительно охлажденные пробирки объемом 10 мл, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту с последующим ультрацентрифугированием (3500 об./мин при

температуре 4°C, 15 мин) и сепарированием сыворотки в 4 микроюветы по 1 мл в каждую, которые хранили затем при температуре –80°C. Определение концентраций веществ в образцах сыворотки проводили в сертифицированной лаборатории “ЭФИС” (Москва) одновременно по всем пробам на одних планшетах.

Концентрацию МНТФ определяли методом твердофазного ИФА с использованием набора “СУТ 306 BDNF Elisa Kit” фирмы Chemicon (США) согласно методике производителя на фотометре Multiskan original 352 (Labsystems, Финляндия). Полученные значения МНТФ сравнивали с нормативными показателями, отражающими интенсивность синтеза: 0–15000 пг/мл – низкий уровень, 15000–30000 пг/мл – средний уровень, более 30000 пг/мл – высокий уровень. Уровень ирисина определяли тем же методом с использованием набора “Irisin ELISA RAG018R” фирмы BioVendor RD (Чехия) согласно методике производителя, чувствительность – от 1 мкг/мл.

Уровень кортизола определяли хемилюминисцентным методом на аппарате Beckman Coulter UniCell Dxt 800 (полный автомат). Референсными данными, согласно сведениям производителя, считали концентрацию от 160 до 620 нмоль/л. Концентрацию ИФР1 в пробах сыворотки крови определяли хемилюминисцентным методом на аппарате Immulite 2000 Siemens (реагенты – Immulite 2000 IGF-1), референсные данные для обследуемой возрастной группы – 105–360 нг/мл.

**Обработка данных.** Данные в работе представлены как среднее и стандартное отклонение  $M \pm SD$ . Проверка нормальности распределения проведена с применением критерия Колмогорова–Смирнова, для оценки достоверности внутри групп и межгрупповых различий показателей в динамике использовали одновыборочный *t*-критерий и критерий Манна–Уитни соответственно. Корреляции между сдвигами показателей в динамике наблюдений и их значимость оценены непараметрическим ранговым коэффициентом корреляции Спирмена с интерпретацией значений коэффициентов как сильные ( $r \geq 0.6$ ), средней силы ( $r = 0.59–0.40$ ) и слабые ( $r = 0.39–0.20$ ). Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ . Анализ данных проводили с помощью программы Statistica 11.0.

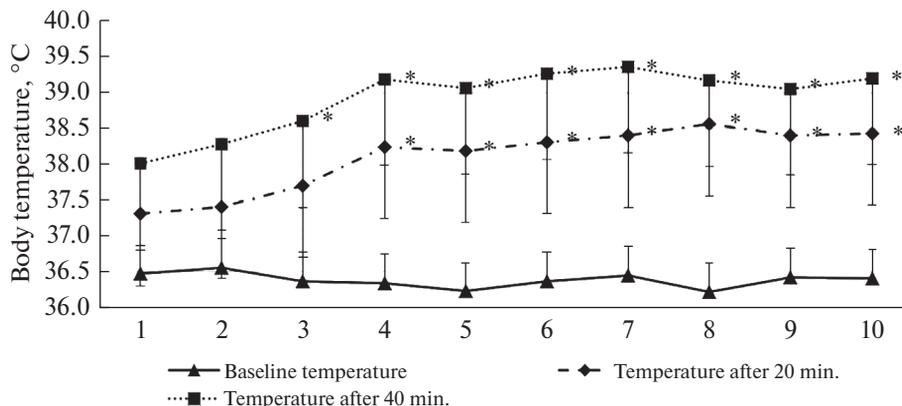
**Этические нормы.** Все процедуры соответствовали этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлений, одобрены локальным биоэтическим комитетом Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), протокол № 05-19 от 10.04.2019. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 23 участников, привлеченных к исследованию, 15 завершили полный цикл плацебо и ПГ процедур, и только их данные включены в анализ результатов. Все обследуемые удовлетворительно переносили процедуры ПГ.

Ожидаемой физиологической реакцией на гипертермию было значимое повышение температуры тела в среднем на 2.0–3.2°C к концу процедур ПГ (в отличие от плацебо-процедур). Исходная температура в течение курса не изменялась, но заметна динамика ее прироста во время пребывания в капсуле (рис. 1). В конце 3-й процедуры и далее температура была значимо выше, чем по завершении первой. А начиная с 4-й процедуры, такие различия появлялись уже в середине процедур (через 20 мин от начала нагревания).

При проведении процедур ПГ отмечался типичный гемодинамический “ответ” в виде достоверного снижения значений систолического АД и прироста значений



**Рис. 1.** Усредненные значения температуры тела обследуемых в динамике 10 процедур пассивной гипертермии: исходно, через 20 мин от начала и в конце процедуры. По горизонтальной оси – номер процедуры; \**p* < 0.05 по сравнению с данными первой процедуры.

ЧСС (табл. 1), который описан в предыдущих исследованиях [7]. Отмечено также некоторое снижение значений SpO<sub>2</sub> к концу процедуры ПГ.

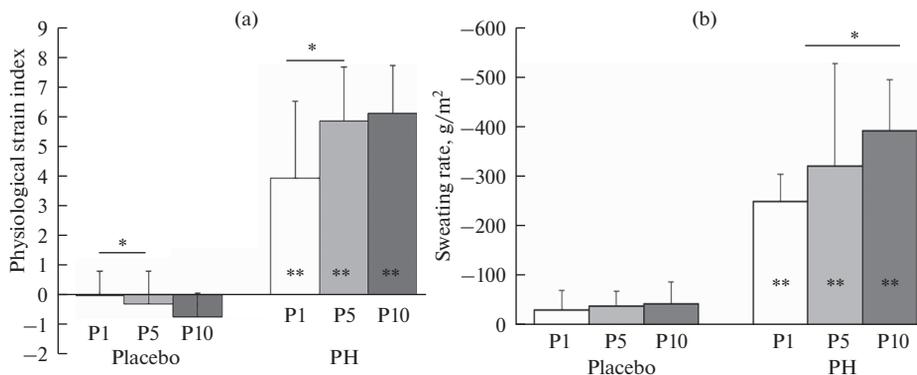
Значения интегративного показателя – ИФН были закономерно выше при ПГ в сравнении с плацебо (рис. 2а). Причем, они значимо повышались к пятой процедуре по отношению к значениям первой ПГ и далее стабилизировались, оставаясь на уровне индикаторов умеренного теплового стресса.

Потери пота в динамике плацебо-процедур были стабильно минимальными, в то время как в ходе адаптации к ПГ существенно увеличивались и, начиная с пятой процедуры, становились достоверно выше по отношению к первой ПГ (рис. 2б).

**Таблица 1.** Изменения артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и насыщения гемоглобина кислородом (SpO<sub>2</sub>) при проведении процедур пассивной гипертермии (ПГ)

Показатель	Этап	1-я процедура		5-я процедура		10-я процедура	
		до	после	до	после	до	после
АД систолическое, мм рт. ст.	ПГ	125.1 ± 13	115.5 ± 13.2 * <i>p</i> = 0.01	119.6 ± 9.0	113.5 ± 11 * <i>p</i> = 0.03	121.8 ± 11	113.5 ± 13 * <i>p</i> < 0.01
	Плацебо	123.9 ± 11	118.8 ± 12	130.7 ± 12 ** <i>p</i> = 0.008	119.9 ± 11.5 * <i>p</i> = 0.004	124.5 ± 11	122.1 ± 11.3
АД диастолическое, мм рт. ст.	ПГ	69.1 ± 14.5	65.1 ± 13.5	66.9 ± 13.1	65.3 ± 10.5	69.1 ± 7.7	67.7 ± 11.4
	Плацебо	77.6 ± 6.5	71.7 ± 10.9	82 ± 12.3 ** <i>p</i> < 0.01	70.2 ± 6.7 * <i>p</i> = 0.002	75.7 ± 8 ** <i>p</i> = 0.01	72.5 ± 9.3
ЧСС, уд/мин	ПГ	81.9 ± 12.1	110.3 ± 17.8 * <i>p</i> = 0.001	83.9 ± 13.8	115.7 ± 13.1 * <i>p</i> < 0.001	80.5 ± 11.4	113.7 ± 9.6 * <i>p</i> < 0.001
	Плацебо	83.8 ± 13.9	81.8 ± 16.7 ** <i>p</i> = 0.001	87.6 ± 15.1	82.9 ± 20.3 ** <i>p</i> = 0.001	84.3 ± 12.7	75.4 ± 14.2 ** <i>p</i> = 0.001
SpO <sub>2</sub> , %	ПГ	96.5 ± 1.2	96.3 ± 1.4	97.2 ± 0.8	95.9 ± 1.5 * <i>p</i> < 0.01	97.1 ± 1	95.9 ± 1.8 * <i>p</i> = 0.04
	Плацебо	96.4 ± 0.9	96.9 ± 0.8	96.7 ± 1.1	96.5 ± 1.4	97.1 ± 0.8	96.9 ± 1.1 ** <i>p</i> = 0.03

Данные представлены как среднее и стандартное отклонение. \* – значимость различий внутри группы до и после одной процедуры; \*\* – значимость различий между группами на одном этапе процедуры.



**Рис. 2.** Значения индекса физиологического напряжения (а), интенсивность потопотерь (б) во время процедур пассивной гипертермии (PH) и плацебо: P1, P5, P10 – 1-я, 5-я, 10-я процедуры; \* $p < 0.05$  по сравнению с первой процедурой; \*\* $p < 0.05$  по сравнению с плацебо-процедурами.

Из табл. 2 видно, что в динамике первой процедуры ПГ отмечается достоверное повышение концентрации в сыворотке крови значений МНТФ и ирисина, в отличие от процедуры “плацебо”, где их значения практически не изменялись. При этом значения кортизола в динамике ПГ менялись слабо, а при процедуре плацебо снижались, что можно трактовать как отсутствие чрезмерного теплового стресса (при плацебо сессии – снижение в результате релаксации). Значения ИФР1 были ниже как до, так и после первой ПГ в сравнении с плацебо процедурами.

В пробах покоя до 1-й и 10-й процедур как плацебо, так и ПГ не выявлено какой-либо существенной динамики значений показателей ирисина, МНТФ, кортизола и ИФР1.

**Таблица 2.** Сывороточные концентрации мозгового нейротрофического фактора (МНТФ), ирисина, кортизола и инсулиноподобного фактора роста (ИФР-1) до и после процедур пассивной гипертермии (ПГ)

Параметры	Этап	До 1-й процедуры	После 1-й процедуры	До 10-й процедуры	После 10-й процедуры
МНТФ, пг/мл	ПГ	25888 ± 4316	28024 ± 5544 * $p = 0.04$	26426 ± 4852	28263 ± 4213 * $p = 0.004$
	плацебо	27950 ± 5121	27084 ± 6487	25915 ± 5867	24064 ± 5600 ** $p = 0.035$
Ирисин, мкг/мл	ПГ	5.0 ± 1.1	5.8 ± 1.3 * $p = 0.001$	5.3 ± 1.1	6.3 ± 1.6 * $p = 0.001$
	плацебо	5.36 ± 1.66	5.33 ± 1.29	4.84 ± 1.74	5.4 ± 1.7 ** $p = 0.01$
Кортизол, нмоль/л	ПГ	260.1 ± 83.2	277 ± 54.9	288.3 ± 103.4	270.5 ± 123.9
	плацебо	305.7 ± 82.9	190.5 ± 70.6 ** $p = 0.005$	265.8 ± 95.5	185.3 ± 91.0
ИФР-1, нг/мл	ПГ	140.0 ± 49.9	154.7 ± 53.5	174.1 ± 45.3	164.0 ± 49.5
	плацебо	211.1 ± 37.8 ** $p = 0.003$	198.33 ± 38.7 ** $p = 0.01$	156.7 ± 58.2	150.2 ± 46.9

Данные представлены как среднее и стандартное отклонение. \* – значимость различий внутри группы до и после одной процедуры; \*\* – значимость различий между группами на одном этапе процедуры.

После 10-й процедуры плацебо сывороточные концентрации регистрируемых гормонов не изменялись. После ПГ вновь отмечен прирост уровней МНТФ и ирисина в том же диапазоне, что и при 1-й ПГ.

Между сдвигами анализируемых показателей во время первой процедуры ПГ связкой не выявлено. В динамике 10-й процедуры отмечены значимые корреляции между ИФН и приростом значений ирисина ( $r_{\text{ИФН-Дирицин}} = 0.59, p = 0.03$ ), а также между изменениями концентраций ирисина и МНТФ: ( $r_{\Delta\text{Ирисин}-\Delta\text{МНТФ}} = 0.54, p = 0.04$ ), что можно объяснить влиянием гипертермического стресса на выделение ирисина, с одной стороны, а с другой — индукцией ирисином секреции МНТФ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В исследовании установлено, что процедуры ПГ с применением индивидуальных инфракрасных капсул (без нагрева головы обследуемого), сопровождающиеся повышением температуры тела на 2.2–3.3°C, приводят к развитию умеренного теплового стресса, что проявлялось в повышении уровня ЧСС, гормонов, интегрального показателя ИФН. При этом, в отличие от данных других исследователей, о значительном повышении АД систолического и уровня кортизола (на 30–35%) в течение 15–20 мин пребывания в сауне (что авторы сопоставляют с эффектами интенсивных физических нагрузок) [20, 21], нами зарегистрировано снижение значений систолического АД практически в каждой из 10 процедур ПГ, а также небольшой прирост содержания кортизола, что подтверждает адекватность применяемой тепловой нагрузки. По данным [22], однократное повышение температуры ядра на 1–1.5°C (при пассивном нагревании нижних конечностей) не приводило к значимому росту уровня кортизола и АД, хотя величины ЧСС и минутный объем крови увеличивались. То есть, применяемая нами методика ПГ не вызывала чрезмерного кардиоваскулярного стресса, что важно при трансляции подходов и эффектов тепловых воздействий в прикладное русло.

В течение двух недель курса из 10 процедур ПГ выявлены адаптивные сдвиги к системной гипертермии, о которых свидетельствуют увеличение интенсивности потопотерь, стабилизация степени прироста температуры в процедурах и значений ИФН к середине курса, отсутствие повышения значений кортизола в динамике последней процедуры теплового стресса. Об адаптации системы терморегуляции говорит также динамика температуры тела в течение первых 4-х процедур: стимуляция теплоотдачи за счет увеличения величины периферического кровотока.

Представляется важной впервые выявленная динамика прироста значений миокина ирисина и МНТФ во время 1-й и 10-й процедур пассивной гипертермии. При этом в динамике заключительной процедуры ПГ выявлены значимые прямые корреляции между уровнем теплового стресса (ИФН) и степенью прироста ирисина, а также между степенью прироста ирисина и МНТФ. Ранее считалось, что температурные воздействия (акклиматизация) могут лишь потенцировать эффекты одномоментно выполняемых интенсивных физических нагрузок относительно динамики этих гормонов [12, 13, 15]. Можно предполагать, что механизм полученного нами эффекта может быть обусловлен прямым влиянием теплового стресса, оказывающего влияние на митохондриальное окисление в мышцах и экспрессию peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1 alpha (PGC-1 $\alpha$ ) [5]. Последний стимулирует синтез fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5), при протеолизе которого и образуется ирисин [8, 11]. Но регуляция этого процесса не изучена [9, 11]. Косвенно прямые эффекты теплового стресса подтверждает снижение значений АД и SpO<sub>2</sub> во время ПГ, поскольку вазодилатация и снижение сродства гемоглобина к кислороду способствуют повышению утилизации кислорода тканями. Высокая эффективность воздействия высоких температур на экспрессию

мРНК ростовых факторов в скелетных мышцах объясняется стимуляцией синтеза ряда белков теплового шока по данным [23].

Обнаруженная нами взаимосвязь прироста концентраций ирисина и МНТФ в определенной степени подтверждает предположение о реализации центральных эффектов ирисина через индукцию синтеза МНТФ. В пользу этого свидетельствуют данные нашего исследования о повышении фоновых значений МНТФ после длительного (10 недель) курса ПГ, что сопровождалось улучшением субъективных характеристик качества жизни, снижением уровня тревожности [7]. В настоящем исследовании фоновые концентрации МНТФ и ирисина до первой и десятой процедур ПГ не различались, что можно объяснить недостаточной продолжительностью периода адаптации к ПГ для долговременного потенцирования продукции МНТФ.

Динамику сывороточного ИФР1 под влиянием процедур гипертермии мы не обнаружили, в отличие от других авторов, например [17]. Учитывая данные литературы о связи ИФР1 с синтезом в скелетных мышцах МНТФ [10] и FNDC5 [18], а также тот факт, что эффекты ИФР1 напрямую могут не коррелировать с циркулирующим гормоном [24], роль этого фактора в адаптации еще требует изучения.

Стоит отметить, что ряд авторов указывают на взаимосвязь изменения концентрации веществ в сыровотке крови после гипертермии с изменением объема циркулирующей крови. Мы не проводили коррекцию полученных данных на объем циркулирующей крови, поэтому нельзя точно оценить вклад такого механизма в данном исследовании. Степень повышения уровня ирисина в динамике первой и заключительной процедур составляла 16–18.8% от исходных значений. Это вряд ли объясняется только уменьшением объема плазмы, учитывая динамику потопотерь. В то же время, повышение концентрации, даже за счет уменьшения объема, тем не менее приведет к изменению эффектов за счет степени связывания с рецептором [16]. Поэтому рост концентрации ирисина можно считать адаптивным эффектом ПГ.

Очевидно, требуются дополнительные исследования на здоровых участниках разного уровня физической подготовки с накоплением данных о позитивных (“острых” и долгосрочных) и негативных эффектах адаптации к периодической ПГ для “перевода” концепта “фитнес-сауны”, “бани для здоровья” в разряд превентивных и реабилитационных технологий адаптационной медицины.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процедуры ПГ с применением инфракрасных капсул приводят к развитию умеренного теплового стресса, что проявляется в динамике регистрируемых гемодинамических и гормональных показателей. В курсе процедур повторной гипертермии развиваются адаптивные перестройки, проявляющиеся в стабилизации степени терморегуляторного, кардиоваскулярного “ответа”, увеличении потоотделения на повторные тепловые процедуры. Впервые установлено повышение концентраций мышечного гормона ирисина и МНТФ при пассивной гипертермии со схожей степенью прироста показателей как в первой, так и в заключительной процедурах ПГ и значимой корреляцией между их динамикой к концу курса тренировок. При этом степень прироста ирисина достоверно связана с уровнем переносимого теплового стресса, что предполагает прямой эффект нагревания тканей на продукцию и высвобождение этого миокина. Эти факты указывают на еще один, возможно общий для раздражителей разной модальности (не только для гипертермии), путь интеграции адаптивных перестроек между периферическими тканями и ЦНС. Полученные данные помогают раскрытию физиологических основ положительной перекрестной адаптации и расширению перспектив прикладной адаптационной медицины.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-013-00465 А “Прямые и перекрестные эффекты адаптации к системной гипертермии: влияние на качество жизни, нейро-гормональный и психофизиологический статус человека”.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О.С.Г., С.Ю.К.), сбор и обработка данных (Е.Н.Д., М.А.З., В.Г.С., А.Д.Л.), написание и редактирование манускрипта (О.С.Г., С.Ю.К., М.А.З.).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность всем добровольцам – участникам исследования, а также компании “Sybaritic Inc.” (США) за предоставленные безвозмездно термокапсулы “Альфа Бэйсик” для проведения гипертермических процедур. Компания и ее представители не участвовали в дизайне исследования, сборе, анализе и интерпретации данных, подготовке публикации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иванов АО, Барачевский ЮЕ, Грошилин СМ, Степанов ВА, Лобозова ОВ, Линченко СН, Караханян КС, Скокова ВЮ* (2020) Неспецифические безмедикаментозные технологии для повышения устойчивости человека к переохлаждению. *Экология человека* 7: 51–58. [*Ivanov AO, Barachevskii YuE, Groshilin SM, Stepanova VA, Lobozova OV, Linchenko SN, Karakhanyan KS, Skokova VYu* (2020) Non-Specific Non-Medical Technologies to Increase Human Resistance to Hypothermia. *Human Ecology* 7: 51–58. (In Russ)]. doi:10.33396/1728-0869-2020-7-51-58
2. *Нарыжная НВ, Воронков НС, Скрябина АА, Бушов ЮВ, Маслов ЛН* (2020) Роль микроРНК, NO-синтаз, киназ, КАТФ-каналов в инфаркт-лимитирующем эффекте адаптации к гипоксии. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106(1): 3–16. [*Naryzhnaya NV, Voronkov NS, Scriabina AA, Bushov YuV, Maslov LN* (2020) The Role of microRNAs, NO Synthases, Kinases, KATP Channels in the Infarction-Limiting Effect of Adaptation to Hypoxia. *Russ J Physiol* 106(1): 3–16. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/S0869813920010112123>
3. *Hussain J, Cohen J, Cohen M* (2018) Clinical Effects of Regular Dry Sauna Bathing: A Systematic Review. *Evid Based Complement and Alternat Med* 2018: 1857413 <https://doi.org/10.1155/2018/1857413>
4. *Hafen PS, Preece CN, Sorensen JR, Hancock CR, Hyldahl RD* (2018) Repeated exposure to heat stress induces mitochondrial adaptation in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 125(5): 1447–1455. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00383.2018>
5. *Kim K, Monroe JC, Gavin TP, Roseguini BT* (2020) Skeletal muscle adaptations to heat therapy. *J Appl Physiol* (1985) 128(6): 1635–1642. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00061.2020>
6. *Глазачев ОС, Кофлер В, Дудник ЕН, Запара МА, Самарцева ВГ* (2020) Влияние адаптации к пассивной гипертермии на аэробную работоспособность и кардио-респираторную выносливость у спортсменов-любителей. *Физиология человека* 46(1): 66–73. [*Glazachev OS, Kofler W, Dudnik EN, Zapara MA, Samarceva VG* (2020) Impact of Adaptation to Passive Hyperthermia on Aerobic Performance and Cardio-Respiratory Endurance in Amateur Athletes. *Human Physiology* 46(1): 66–73. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/S0131164619060031>
7. *Глазачев ОС, Крыжановская СЮ, Дудник ЕН, Запара МА, Самарцева ВГ, Суста Д* (2019) Адаптация к пассивной гипертермии: влияние на субъективные характеристики качества жизни, тревожности и уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF). *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105(5): 544–555. [*Glazachev OS, Kryzhanovskaya SYu, Dudnik EN, Zapara MA, Samarceva VG, Susta D* (2019) Passive Heat Acclimation: Influence on the Subjective Quality of Life, Anxiety and the Level of the Brain-Derived Neurotrophic Factor

- (BDNF). *Rus J Physiol* 105(3): 544–555. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.1134/S0869813919050030>
8. Кузник БИ, Давыдов СО, Степанов АВ (2018) Роль мышечного гормона ирисина в регуляции физиологических функций в норме и патологии. Усп физиол наук 49(4): 59–80. [Kuznik BI, Davydov SO, Stepanov AV (2018) The role of irisin hormone in the regulation of physiological functions in normal and pathological conditions. *Progress Physiol Science* 49(4): 59–80. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.7868/S0301179818040057>
  9. Хавинсон ВХ, Кузник БИ, Рыжак ГА, Линькова НС, Салль ТС, Чалисова НИ (2018) Ирисин, бетатрофин, сахарный диабет, ожирение и метаболический синдром. Эпигенетические механизмы регуляции. Усп физиол наук 49(1): 72–86. [Khavinson VKh, Kuznik BI, Ryzhak GA, Linkova NS, Sall TS, Chalisova NI (2018) Irisin, betatrophin, diabetes, obesity, and metabolic syndrome. Epigenetic regulatory mechanisms. *Progress Physiol Science* 49(1): 72–86. (In Russ)].
  10. Pinho RA, Aguiar AS, Radák Z (2019) Effects of resistance exercise on cerebral redox regulation and cognition: An interplay between muscle and brain. *Antioxidants* 8 (11): 529.  
<https://doi.org/10.3390/antiox8110529>
  11. Askari H, Rajani SF, Poorebrahim M, Haghi-Aminjan H, Raeis-Abdollahi E, Abdollahi M. (2018) A glance at the therapeutic potential of irisin against diseases involving inflammation, oxidative stress, and apoptosis: An introductory review. *Pharmacol Res* 129: 44–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.01.012>
  12. Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C, Celi FS (2014) Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab* 19(2): 302–309.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.017>
  13. Coker RH, Weaver AN, Coker MS, Murphy CJ, Gunga HC, Steinach M (2017) Metabolic Responses to the Yukon Arctic Ultra: Longest and Coldest in the World. *Med Sci Sports Exerc* 49(2): 357–362.  
<https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001095>
  14. Schreckenber R, Klein J, Kutsche HS, Schulz R, Gömöri K, Bencsik P, Schlüter K (2020) Ischaemic post-conditioning in rats: Responder and non-responder differ in transcriptome of mitochondrial proteins. *J Cell Mol Med* 24: 5528–5541.  
<https://doi.org/10.1111/jcmm.15209>
  15. McCormick JJ, Notley SR, Yardley JE, Sigal RJ, Kenny GP (2020) Blunted circulating irisin in adults with type 1 diabetes during aerobic exercise in a hot environment: a pilot study. *Appl Physiol Nutr Metab* 45(6): 679–682.  
<https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0624>
  16. Bubak M, Heesch M, Shute R, Dinan N, Laursen T, Sliyka D (2017) Irisin and Fibronectin Type III Domain-Containing 5 Responses to Exercise in Different Environmental Conditions. *Med Sci Sports Exerc* 49: 287.  
<https://doi.org/10.1249/01.mss.0000517645.29830.b5>
  17. Yoon SJ, Lee MJ, Lee HM, Lee JS (2017) Effect of low-intensity resistance training with heat stress on the HSP72, anabolic hormones, muscle size, and strength in elderly women. *Aging Clin Exp Res* 29(5): 977–984.  
<https://doi.org/10.1007/s40520-016-0685-4>
  18. Srinivasa S, Suresh C, Mottla J, Hamarneh SR, Irazoqui JE, Frontera W, Makimura H (2016) FNDC5 Relates to Skeletal Muscle IGF-I and Mitochondrial Function and Gene Expression in Obese Men with Reduced Growth Hormone. *Growth Horm & IGF Res* 26: 36–41.  
<https://doi.org/10.1016/j.ghir.2015.12.008>
  19. Moran DS, Shitzer A, Pandolf K (1998) A physiological strain index to evaluate heat stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 275(1): R129–R134.  
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.275.1.R129>
  20. Pilch W, Pokora I, Szyguła Z, Pałka T, Pilch P, Cisoń T, Malik L, Wiecha S (2013) Effect of a single finnish sauna session on white blood cell profile and cortisol levels in athletes and non-athletes. *J Hum Kinet* 39: 127–135.  
<https://doi.org/10.2478/hukin-2013-0075>
  21. Ketelhut S, Ketelhut RG (2019) The blood pressure and heart rate during sauna bath correspond to cardiac responses during submaximal dynamic exercise. *Compl Therap Med* 44: 218–222.  
<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.05.002>
  22. Hashizaki T, Nishimura Y, Teramura K, Umemoto Y, Shibasaki M, Leicht CA, Kouda K, Tajima F (2018) Differences in serum IL-6 response after 1°C rise in core body temperature in individuals with spinal cord injury and cervical spinal cord injury during local heat stress. *Int J Hyperthermia* 35(1): 541–547.  
<https://doi.org/10.1080/02656736.2018.1511838>
  23. Kuhlenhoelter AM, Kim K, Neff DD, Nie Y, Blaize AN, Wong BJ, Roseguini BT (2016) Heat therapy promotes the expression of angiogenic regulators in human skeletal muscle. *Am J Physiol*

Regulatory, Integr Comp Physiol 311(2): R377–R391.

<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00134.2016>

24. Kraemer WJ, Ratamess NA, Hymer WC, Nindl BC, Fragala MS (2020) Growth Hormone(s), Testosterone, Insulin-Like Growth Factors, and Cortisol: Roles and Integration for Cellular Development and Growth with Exercise. *Front Endocrinol* 11: 33. eCollection. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00033>

### **Adaptive Reactions of Practically Healthy Men to Passive Hyperthermia are Accompanied by an Increase in the Level of Irisin in the Blood**

**O. S. Glazachev<sup>a,\*</sup>, S. Yu. Kryzhanovskaya<sup>a</sup>, E. N. Dudnik<sup>a</sup>, M. A. Zapara<sup>a</sup>,  
V. G. Samarzeva<sup>a</sup>, and A. D. Lyfenko<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia*

*\*e-mail: glazachev@mail.ru*

**Objective.** Evaluation of adaptive physiological responses to passive hyperthermia (PH) procedures, including serum concentrations of irisin, brain neurotrophic factor (BDNF), cortisol and insulin-like growth factor (IGF1) in healthy young people before and after a two-week course of PH procedures. **Methods.** 15 young men completed a 2-week course of 10 PH procedures: 40 minutes in a capsule of infrared heating of the body, at 65–80°C (the head is outside of the capsule). Heart rate, blood pressure, SpO<sub>2</sub>, temperature and body weight were recorded before and after PH procedures. The level of hormones in the blood serum was evaluated in the dynamics of the first and tenth sessions. It was then compared with data obtained during placebo procedures performed with the same frequency and duration 3 weeks before the course of PH. **Results.** During all PH procedures, the values of systolic blood pressure and SpO<sub>2</sub> decreased, heart rate and body temperature increased by an average of 2.0–3.2°C. Values of the physiological stress index was in the range of 4–6 units. Small increase in cortisol level was observed only after the 1st procedure. These facts indicate moderate thermal stress in PH. Increase in sweat loss during the course was the sign of thermal adaptation. After the first and 10th PH procedures, there was an increase of irisin concentrations (by 16 and 18.8%, respectively) and BDNF (by 8.2 and 7%). Moreover, after the 10th PH, a direct relationship between the dynamics of these myokines:  $r\Delta\text{Irisin}-\Delta\text{BDNF} = 0.52$  ( $p = 0.04$ ) was registered. No changes were observed after placebo procedures. **Conclusion.** PH procedures during the two-week course caused the development of moderate heat stress. Adaptive shifts developed in response to this stress. The concentrations of irisin and BDNF increased in the dynamics of the first and final procedures. It is assumed that irisin and BDNF are participants in positive cross – effects of adaptation to PH. The results obtained are important for the development of adaptive medicine technologies.

**Keywords:** adaptation, passive hyperthermia, myokine, irisin, brain-derived neurotrophic factor, cortisol, insulin-like growth factor

## МЕТАБОЛИЗМ L-АРГИНИНА У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ПРИ УГНЕТЕНИИ АРГИНАЗЫ L-НОРВАЛИНОМ

© 2021 г. М. А. Гилинский<sup>1, \*</sup>, Ю. К. Политыко<sup>1, 2, 3</sup>, А. Л. Маркель<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>*НИИ нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

*\*E-mail: m.a.gilinsky@physiol.ru*

Поступила в редакцию 28.02.2021 г.

После доработки 27.04.2021 г.

Принята к публикации 11.05.2021 г.

Гипотензивный эффект угнетения активности аргиназы [1] может реализоваться двумя путями: релаксацией сосудов при увеличении концентрации оксида азота (NO) и/или снижением количества циркулирующей жидкости. Первый эффект имеет место при повышении доступности субстрата NO-синтазы (NOS) — аргинина (АРГ), второй — при увеличении диуреза. Для уточнения путей влияния аргиназы на регуляцию артериального давления (АД) у крыс гипертензивной линии ISIAN и нормотензивной линии WAG проведен анализ особенностей метаболизма аминокислоты L-аргинина при торможении активности аргиназы путем введения ее ингибитора L-норвалина. Измерение концентрации АРГ и его метаболита орнитина в крови, моче и в гомогенате ткани почки производили при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с разделением на обращеннофазовом сорбенте и с флуоресцентной детекцией. Норвалин вводили внутривентриально (в/б) 1 раз в день в дозе 30 мг/кг в течение 7-ми дней, контрольным крысам обеих линий вводили физиологический раствор. В экспериментах с введением норвалина не обнаружено достоверного увеличения концентраций аминокислот в плазме крови как гипертензивных крыс, так и нормотензивных животных. Концентрация АРГ в моче крыс ISIAN, получавших норвалин, удваивалась, а у крыс WAG не менялась. Суточная экскреция АРГ у нормотензивных крыс WAG, получавших норвалин, лишь немного увеличилась, а у крыс ISIAN под влиянием норвалина возросла почти в три раза. При этом диурез увеличился только у гипертензивных крыс. Под влиянием норвалина содержание АРГ на 1 г массы почки у крыс ISIAN возросло почти в два раза, а у нормотензивных крыс WAG не изменилось. Проведенные исследования позволяют заключить, что ингибирование аргиназы норвалином оказало более сильный гипотензивный эффект у гипертензивных крыс по сравнению с нормотензивными. При этом гипотензивный эффект норвалина у нормотензивных крыс WAG может обеспечиваться системой оксида азота, тогда как у крыс гипертензивной линии ISIAN гипотензивный эффект реализуется за счет усиления диуреза.

*Ключевые слова:* аргиназа, L-норвалин, L-аргинин, L-орнитин, регуляция артериального давления

DOI: 10.31857/S0869813921080057

В большинстве обзоров в качестве одного из важных факторов формирования гипертонии называют аргиназу [1]. Эффекты аргиназы в отношении артериального давления (АД) связывают с угнетением продукции вазодилататора оксида азота

(NO), синтезируемого в процессе гидролиза АРГ NO-синтазой (NOS) с получением NO и цитрулина. Аргиназа — это марганецсодержащий металлофермент, катализирующий расщепление АРГ на орнитин и мочевину. Идентифицированы две формы фермента: аргиназа I и аргиназа II. Первый тип локализуется в цитоплазме клеток и экспрессируется в основном в печени как компонент цикла мочевины. Помимо гепатоцитов, аргиназа I экспрессируется в тканях мозга, в тонкой кишке и в эритроцитах (последнее — только у приматов). Следует отметить, что образовавшийся в гепатоцитах АРГ не попадает в системный кровоток, а немедленно гидролизуется аргиназой, формируя мочевину и орнитин. Последний частично вновь включается в цикл мочевины. Таким образом, благодаря аргиназе АРГ из цикла мочевины в печени становится недоступным для синтеза NO [2].

Второй тип аргиназы существует в митохондриях и экспрессируется в небольших количествах во многих тканях организма за исключением печени. Больше всего аргиназы типа II содержится в почке, простате, яичке, тонком кишечнике, молочной железе. Экспрессия аргиназы может быть индуцирована оксидативным стрессом, а также воспалительными стимулами [3, 4]. Снижение же экспрессии и/или активности аргиназы сопровождается увеличением производства NO. Экспрессия аргиназы II в эндотелии сосудов связана с регуляцией функции эндотелия и артериального давления [5, 6].

Аргиназы участвуют в катаболизме АРГ, препятствуя тем самым синтезу NO, который происходит в результате гидролиза АРГ с помощью NOS. При этом отмечается, что активность аргиназы многократно превосходит активность NOS [3]. Однако сопоставление  $K_m$  и  $V_{max}$  аргиназы и NO-синтазы позволяет утверждать, что скорости потребления субстрата обоими ферментами при низкой концентрации АРГ сопоставимы [3]. Исследованиями на макрофагах продемонстрировано увеличение конверсии АРГ в цитрулин с образованием NO при ингибировании аргиназы в этих клетках [7]. Также известно, что экспрессирующие NOS макрофаги и эндотелиальные клетки способны производить достаточное количество L-ω-N-гидроксиаргинина (промежуточный продукт в синтезе NO), чтобы ингибировать активность аргиназы [8, 9]. Наконец, было обнаружено, что высокий уровень экспрессии аргиназы I в астроцитах может уменьшать уровень АРГ в этих клетках до такой степени, что подавляется экспрессия индуцибельной NOS [4]. Приведенные данные свидетельствуют о конкуренции аргиназы и NOS за субстрат.

В принципе, гипотензивный эффект аргиназы может осуществляться двумя путями: за счет релаксации сосудов вследствие увеличения продукции NO и/или путем снижения количества циркулирующей жидкости. В первом варианте эффект реализуется вследствие увеличения АРГ — субстрата для NOS, во втором — за счет увеличения диуреза. При планировании этой работы ожидалось, что оценки особенностей метаболизма АРГ у нормо- и гипертензивных крыс позволят уточнить участие каждого из путей влияния аргиназы на АД. Таким образом, задача настоящей работы состояла в изучении возможных изменений метаболизма АРГ у нормо- и гипертензивных крыс путем сравнительного анализа эффектов ингибитора аргиназы — L-норвалина у крыс гипертензивной линии ISIAN и нормотензивной линии WAG.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования одобрены Комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института физиологии и фундаментальной медицины (НИИ ФФМ, протокол No. 7 от 10.09.2015 г.) и соответствуют Директиве Совета Европейского сообщества 86/609 / ЕЕС.

Эксперименты проведены на трехмесячных крысах-самцах массой до 350 г, из вивария Институт цитологии и генетики СО РАН. Животные были поделены случайным образом на 4 группы по 6 крыс в каждой. Группа 1 – контрольные крысы нормотензивной линии WAG (WAG –Wistar Albino Glaxo); группа 3 – контрольные крысы гипертензивной линии ISIAN (ISIAN – Inherited Stress Induced Arterial Hypertension). Группы 2 и 4 включали по 6 крыс линий WAG и ISIAN, которым в течение 7 дней внутрибрюшинно (в/б) вводили L-норвалин (30 мг/кг, Sigma, США), растворенный в 1 мл физиологического раствора. Контрольным крысам ежедневно вводили 1 мл физиологического раствора.

Животных содержали в индивидуальных пластиковых метаболических клетках (Italplast, Италия), при комнатной температуре (22–24°C), световом режиме 12/12 и свободном доступе к воде и сбалансированному стандартному корму. У всех крыс измеряли АД непрямим методом на приборе ВЮРАС (США). Эксперимент начинался со дня высадки в метаболические клетки и заканчивался через 8 дней, включая день забоя (8-е сутки) путем быстрой декапитации на гильотине. Моча для исследований собиралась ежедневно, кровь забиралась утром 8-го дня. За исключением сопоставления данных начала и конца эксперимента в тексте представлены показатели мочи, полученные за 7-ой день. После декапитации кровь собирали в стеклянные вакутейнеры с 50-ю мкл цитрата натрия, встряхивали и центрифугировали 10 мин при 10000 g и 4°C. Плазма и моча хранились при –70°C до начала измерений. После декапитации у животных забирали и замораживали в жидком азоте почки. Для проведения измерений образцы ткани почек, плазмы и мочи оттаивали на ледяной бане.

Образец ткани почки выделяли с помощью поперечного среза в срединной части левой почки, он включал в себя корковое и мозговое вещества. Ткань гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в 1 мл 0.1 М хлорной кислоты. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 10000 g, после чего супернатант пропускали через конический фильтр, заполненный стеклянным фильтровальным материалом GFC (Whatmann, Англия) для избавления от осадка. Образец плазмы или мочи встряхивали, а затем центрифугировали 6–8 мин при 10000 g. К 200 мкл плазмы, мочи или гомогената почки добавляли 100 мкл внутреннего стандарта гомоаргинина (40 мкмоль/мл) и разбавляли до 1 мл натрий-фосфатным буфером (рН 7.4).

Процедура определения L-аргинина и орнитина в плазме, моче и ткани почки выполнялась в 3 этапа: 1) выделение аминокислот путем твердофазной экстракции; 2) дериватизация проб для измерений флуоресценции образца; 3) анализ при помощи высокоэффективной хроматографии с флуоресцентной детекцией. На первом этапе подготовленные растворы фильтрата гомогената почки, а также плазмы и мочи пропускали через концентрирующий патрон с адсорбентом (Oasis MCX, 30 мг, 1 мл, Waters, США), предварительно промытый 1 мл метанола, 1 мл сверхчистой H<sub>2</sub>O (milliQ) и 1 мл 50 мМ фосфатного буфера (рН 7.4). После нанесения образца картридж промывали 1 мл метанола и 1 мл соляной кислоты. Аминокислоты элюировали раствором воды, метанола и аммиака в соотношении 5 : 4 : 1 с добавлением 50 мкл 1 М гидроокиси натрия. Элюат высушивали на водяной бане при температуре 60–65°C в токе азота.

На втором этапе после ресуспендирования элюата в 200 мкл воды аликвоты растворов (50 мкл) дериватизировали при помощи препарата AccQ Fluor (Waters, США). Этот дериватизатор, благодаря длительности действия, создает возможность серийного определения уровней орнитина в одной с АРГ трассе хроматографа (дериватизация производилась в соответствии с инструкцией поставщика). Наконец, на третьем этапе 10 мкл дериватизированных образцов инжектировали в хроматограф.

**Таблица 1.** Характеристики исследованных крыс в начале и в конце эксперимента

№	Группы	Масса тела, г		АД, мм рт. ст.		Диурез, мл/100 г массы	
		1-й день	7-й день	1-й день	7-й день	1-й день	7-й день
1	WAG физраствор	324 ± 12	325 ± 12	125 ± 2	130 ± 3	3.48 ± 0.22	2.14 ± 0.17*
2	WAG норвалин	316 ± 7	302 ± 6	123 ± 3	113 ± 1*	3.47 ± 0.05	2.94 ± 0.15*
3	ISIAN физраствор	374 ± 21	376 ± 19	193 ± 2	196 ± 3	2.94 ± 0.48	3.64 ± 0.46
4	ISIAN норвалин	397 ± 7	374 ± 5	184 ± 3	156 ± 2*	2.82 ± 0.19	4.78 ± 0.42*

Данные приведены в виде  $M \pm m$ , для каждого показателя  $n = 6$ , \* – различия с 1-м днем достоверны при  $p < 0.05$ .

Для количественного анализа образцов использовался градиентный хроматограф Shimadzu 20 (Япония), укомплектованный двумя насосами LC20AD, автоинжектором SIL20A и флуоресцентным детектором RF20AXL. Для разделения компонентов применялись колонки Luna2 (Phenomenex, США) диаметром 2 мм, длиной 100 мм, упакованные 3 мкм сорбентом C18. Отношение аргинин/орнитин во всех случаях определялось как отношение площадей пиков концентрации аминокислот в хроматограммах плазмы, мочи или гомогенатов.

Результаты обработки данных представлены в таблицах как  $M \pm m$ . Достоверность различий показателей определяли при помощи непараметрической статистики с использованием программы Статистика 7, при уровне достоверности  $p < 0.05$  по критериям Манна–Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристики животных, использованных в эксперименте, приведены в табл. 1.

Как видно, значения массы тела контрольных, получавших физиологический раствор, нормотензивных и гипертензивных животных не различались в первый и седьмой дни эксперимента. В то же время гипер- и нормотензивные животные, получавшие ежедневно в/б инъекцию 30 мг/кг норвалина, за 7 дней опыта потеряли в массе соответственно 23 и 14 г ( $p < 0.05$ ). При этом артериальное давление (АД) крыс ISIAN снизилось существенно (на 15%) после недели в/б введения L-норвалина по сравнению с первым днем измерений (156 против 184 мм рт. ст.,  $p = 0.027$ ). АД нормотензивных крыс WAG, получавших норвалин, также несколько снизилось (в среднем на 10 мм рт. ст. при  $p < 0.05$ ). Отмечено также, что норвалин значительно увеличивал диурез у гипертензивных, но не у нормотензивных крыс.

Таким образом, характеристики животных в данном исследовании принципиально не отличались от опубликованных нами ранее [10]. При этом в настоящей работе в качестве группы сравнения мы использовали крыс инбредной линии WAG вместо аутбредных крыс Вистар, что предпочтительнее при сравнении с также инбредной линией ISIAN.

Эксперименты показали, что угнетение аргиназы при в/б введении 30 мг/кг ингибитора аргиназы L-норвалина не привело к достоверным изменениям концентраций АРГ и его метаболита орнитина в плазме крови крыс обеих линий (табл. 2). В отличие от ожидаемого повышения концентрации АРГ у гипертензивных крыс ISIAN наблюдалась противоположная тенденция, хотя некоторое снижение уровня метаболита АРГ – орнитина могло свидетельствовать в пользу эффективности блокады аргиназы норвалином. Отношение концентраций аргинин/орнитин, которое является суррогатным показателем влияния аргиназы на этот путь катаболизма АРГ, несколько уменьшилось у нормотензивных крыс и возросло у гипертензивных (табл. 2), но эти изменения не были статистически значимыми.

**Таблица 2.** Концентрации аргинина и орнитина в плазме крови и моче крыс

	WAG физраствор	WAG норвалин	ISIAH физраствор	ISIAH норвалин
Плазма				
Аргинин, $\mu\text{mol/mL}$	$68.21 \pm 4.46$	$60.38 \pm 7.64$	$59.65 \pm 18.25$	$36.20 \pm 6.68$
Орнитин, $\mu\text{mol/mL}$	$5.22 \pm 2.1$	$4.19 \pm 0.93$	$5.45 \pm 1.66$	$2.06 \pm 0.69$
(Аргин/Орнит)/mL	$29.95 \pm 9.43$	$16.72 \pm 3.23$	$14.7 \pm 3.8$	$22.25 \pm 3.54$
Моча				
Аргинин, $\mu\text{mol/mL}$	$12.91 \pm 1.89$	$12.96 \pm 0.77$	$8.23 \pm 2.04$	$17.40 \pm 2.25^*$
Орнитин, $\mu\text{mol/mL}$	$0.93 \pm 0.18$	$3.04 \pm 0.77^*$	$1.20 \pm 0.63$	$1.72 \pm 0.32$
Аргинин/сут	$90.34 \pm 8.43$	$114.46 \pm 10.59^*$	$112.51 \pm 24.21$	$310.38 \pm 63.11^{*\#}$
Орнитин/сут	$6.26 \pm 0.74$	$27.39 \pm 6.04^*$	$19.07 \pm 11.99$	$31.37 \pm 7.02$
(Аргин/Орнит)/mL	$14.37 \pm 0.59$	$5.12 \pm 0.90^*$	$11.86 \pm 3.73$	$13.50 \pm 5.58$

\* – различия с группой “физраствор” и # – различия с показателями крыс линии WAG достоверны при  $p < 0.05$ ; данные представлены в виде  $M \pm m$ ; во всех группах  $n = 6$ .

Представляло интерес оценить динамику соотношения аминокислот в моче в день высадки животных в экспериментальные клетки и после 7-ми дней пребывания в них. Величины отношений при оценке влияния дней высадки не приводятся в таблицах этой работы. Они рассчитаны по площади пиков хроматограмм и не учитывают значений суточного диуреза (табл. 2). Оказалось, что у всех исследованных нормотензивных крыс WAG и гипертензивных крыс ISIAH, получавших норвалин, отношение аргинин/орнитин в моче на 7-ой день увеличено по сравнению с днем первым. То есть, эффективность действия аргиназы на этом этапе снизилась.

В отличие от плазмы, содержание L-аргинина и L-орнитина в моче животных изменялось после введения L-норвалина. Так, если концентрация АРГ в моче нормотензивных крыс WAG под влиянием норвалина не изменялась по сравнению с контрольными крысами, получавшими физиологический раствор, то у гипертензивных крыс норвалин приводил к достоверному увеличению концентрации АРГ по сравнению с соответствующим контролем (табл. 2). Весьма ярко влияние торможения аргиназы норвалином проявилось в показателях количества экскретированных за сутки аминокислот с мочой. Эти значения рассчитывались для каждого животного как произведение концентрации вещества в моче на ее суточный объем. Оказалось, что под влиянием норвалина количество экскретированного за 7-е сутки АРГ у крыс ISIAH достоверно и весьма значительно превысило как уровень АРГ в моче крыс ISIAH, получавших физиологический раствор, так и уровни АРГ в моче обеих групп нормотензивных животных. Концентрация орнитина в суточной моче и количество орнитина, экскретированного за сутки, достоверно возросли у крыс линии WAG, а изменения орнитина у гипертензивных крыс также были направлены в сторону увеличения, но не достигли уровня достоверности. Соответственно, отношения количества удаленных из организма аминокислот в сериях с норвалином были достоверно снижены у нормотензивных крыс и не различались у гипертензивных. Следует подчеркнуть, что показатели экскреции аминокислот существенно зависели от уровня диуреза, который при угнетении аргиназы мог значительно изменяться (табл. 1).

Усиление диуреза у гипертензивных крыс, получавших норвалин, может быть результатом повышения под влиянием норвалина уровня АРГ в почке, создающего благоприятные условия для синтеза оксида азота, который, улучшая внутривисцеральную гемодинамику, увеличивает диурез. Следствием этого в конечном итоге является снижение АД, регистрируемое у гипертензивных крыс, получавших норвалин.

Торможение катаболизма АРГ норвалином привело у крыс линии ISIAH к почти двукратному достоверному повышению содержания АРГ в ткани почки (табл. 3).

**Таблица 3.** Концентрации аргинина и орнитина в ткани почек исследованных крыс

	1	2	3	4
	WAG физраствор	WAG норвалин	ISIAN физраствор	ISIAN норвалин
Масса пробы (мг)	63.9 ± 9.2	74.3 ± 4.1	74.6 ± 2.4	74.7 ± 3.2
Аргинин, $\mu\text{mol/mL}$	36.17 ± 9.07	28.37 ± 3.94	14.97 ± 2.71 <sup>#</sup>	27.62 ± 3.72*
Орнитин, $\mu\text{mol/mL}$	17.71 ± 1.90	26.86 ± 11.15	12.24 ± 1.95	15.78 ± 3.96
Аргинин, $\mu\text{mol/g}$	661.62 ± 223.79	393.86 ± 62.22	202.60 ± 39.63 <sup>#</sup>	372.12 ± 54*
Орнитин, $\mu\text{mol/g}$	275.89 ± 46.31	358.63 ± 143.82	163.09 ± 25.10 <sup>#</sup>	206.98 ± 49.55
Аргинин/Орнитин	2.18 ± 0.48	1.52 ± 0.34	1.24 ± 0.13	1.67 ± 1.01

Во всех группах  $n = 6$ ; данные представлены в виде  $M \pm m$ ; \* – различия с группой “физраствор” достоверны при  $p < 0.05$ ; # – различия с группой WAG физраствор достоверны при  $p < 0.05$ ;  $\mu\text{mol/mL}$  – концентрация в 1 мл гомогената образца почки;  $\mu\text{mol/g}$  – концентрация аминокислот, приведенная на 1 г массы почки.

Теоретически это должно было бы сопровождаться повышением концентрации АРГ в плазме, но этого не обнаружено. Возможно, отсутствие повышения содержания АРГ в плазме гипертензивных крыс, получивших норвалин, отчасти связано с параллельным увеличением экскреции АРГ и орнитина с мочой.

Что касается показателей исследованных аминокислот в ткани почки, то оказалось, что в отсутствие норвалина средний уровень АРГ в 1 мл гомогената ткани почек у крыс WAG существенно – в 2.3 раза ( $p < 0.05$ ) превышал таковой у крыс ISIAN (табл. 3). Подобное соотношение сохранялось и при пересчете концентрации АРГ на 1 г массы почки (3.3 при  $p < 0.05$ ). При этом средний уровень концентрации орнитина на грамм массы почек в группе WAG превышал уровень в группе контрольных крыс ISIAN в 1.7 раза ( $p < 0.05$ ).

Влияния норвалина на уровни АРГ и/или орнитина в почках нормотензивных крыс WAG не зарегистрировано. Однако торможение аргиназы норвалином привело к существенному увеличению как концентрации АРГ в ткани почек, так и количества АРГ в пересчете на грамм массы почек у гипертензивных крыс ISIAN ( $p < 0.03$ ). При этом отношении аргинин/орнитин для табл. 3 рассчитывались только для хроматограмм гомогенатов почки. Наконец, интерес представляет динамика отношений аргинин/орнитин, отражающая эффективность преобразования субстрата ферментом в орнитин в цикле орнитина. Следует иметь в виду, что при этом не учитывались как интенсивность экскреции обоих компонентов реакции, так и утилизация части орнитина в производстве полиаминов и цитруллина.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя полученные результаты измерений АРГ, желательнее представить, какой АРГ мы измеряем? “Свободный”, измеряемый в плазме и моче АРГ – это суммарный, синтезированный системой “тонкий кишечник–почка” АРГ, за вычетом АРГ, вступившего в реакции [3, 4]. Наиболее существенное количество АРГ исчезает из процедуры измерения за счет реакций с двумя ферментами: аргиназой (в циклах мочевины и орнитина) и NO-синтазой (при образовании NO и цитруллина), плюс некоторое количество АРГ включается в синтез белков *de novo* и креатина [3, 4].

Следует отметить дисбаланс концентраций АРГ и уровней метаболитов NO, выявленный при сопоставлении результатов двух наших работ. Существенное увеличение концентрации нитритов-нитратов в крови и моче нормотензивных крыс при торможении аргиназы норвалином, обнаруженное в работе [10], мы рассматриваем как отражение возросшего под влиянием норвалина количества АРГ, доступного для конвертации NO-синтазой, но тогда нами не измерявшегося. У крыс линии ISIAN в тех опытах норвалин не изменил продукции нитритов-нитратов, что свидетельствует о

снижении активности системы образования оксида азота у крыс ISIAH, а не о нехватке субстрата — АРГ. Эта снижение проявилась ранее в отсутствии влияния норвалина на уровень метаболитов NO в крови и моче этих крыс [10], хотя уровень АРГ — субстрата NOS, измеренный в моче и почке гипертензивных крыс, получавших норвалин, в настоящей работе оказался существенно повышенным. Поэтому представляется весьма вероятным, что обнаруженный в данной работе отчетливый рост концентрации АРГ при действии норвалина в моче крыс с гипертонией демонстрирует неостребованность АРГ мало активной системой производства оксида азота.

Основания для предположений о сниженной активности системы оксида азота у крыс гипертоников имеются. Так, прямые измерения [11] выявили значительно более низкую концентрацию NO-синтазы в почках крыс ISIAH по сравнению с нормотензивными крысами. Измерения оксида азота методом электронного парамагнитного резонанса показали двойное превышение NO в сыворотке крови нормотензивных крыс по сравнению с его уровнем у крыс ISIAH [12].

Тот факт, что норвалин практически не влиял на концентрации АРГ у нормотензивных крыс WAG, не позволяет сегодня проводить прямых сопоставлений с исследованными ранее крысами Вистар без специальных измерений нитритов-нитратов. Отметим только, что крысы нормотензивной линии WAG в отдельные моменты жизни демонстрировали краткосрочный рост АД, что роднит их с крысами ISIAH, в частности, в отношении недостаточной активности NOS [12].

В работе Prins и соавт. [13] было исследовано влияние экзогенной аргиназы. Авторы выявили снижение уровня АРГ в плазме крови системного русла на фоне повышения в этих условиях продукции АРГ почками. Был сделан вывод о том, что снижение уровня АРГ в системе является причиной для роста синтеза аминокислоты почкой. Таким образом, была установлена связь производства АРГ почкой с уровнем аминокислоты в крови. В наших экспериментах при частичном угнетении аргиназы норвалином не зарегистрировано изменений уровней АРГ в плазме крови исследованных крыс, хотя выявлен достоверный рост концентрации АРГ в моче и в почках гипертензивных крыс. Надо отметить, что такой эффект норвалина регистрируется не в первый, а лишь на седьмой день введения, когда его эффекты накапливаются. Что касается снижения массы тела, то в качестве одной из причин можно привести данные о липолитической активности L-норвалина, полученные в условиях выделенных препаратов печени [14].

Возникает вопрос: почему увеличение уровня АРГ в почках при введении норвалина не отразилось на АРГ плазмы у крыс с артериальной гипертонией? Иначе говоря, какова возможная причина локальности действия норвалина? Локальность эффектов угнетения аргиназы норвалином, вероятнее всего, связана с тем, что сосудистая система почки обладает гораздо более высокой чувствительностью и реактивностью, чем системные сосуды, по отношению к нарушению синтеза NO [15]. В связи с этим, при некоторых воздействиях эффекты проявляются только на уровне почки и мочи, но не способны обнаруживаться в общем русле крови. Представляется, что именно такая ситуация имеет место в случае гипертензивных крыс, у которых снижение АД происходит за счет диуреза.

Итак, в наших исследованиях отмечено незначительное снижение концентрации аргинина в ткани почек нормотензивных крыс и значимый рост в почках крыс с гипертонией. А между тем, в предыдущей работе, где аргинин не измерялся, при таком же протоколе исследований, в крови и моче нормотензивных крыс при введении норвалина зарегистрировано существенное увеличение концентрации метаболитов оксида азота, нитритов-нитратов и отсутствие изменений этих метаболитов у гипертензивных крыс [10]. Полученный материал свидетельствует, что эффекты угнетения аргиназы в значительной мере определяются исходным уровнем АД и состоянием систем регуляции почечной циркуляции, которая изменена у крыс ISIAH [16].

Таким образом, есть основания считать, что в то время как у нормотензивных животных оксид азота играет существенную роль в поддержании нормального уровня АД, у гипертензивных крыс линии ISIAN оксид азота не играет ведущей роли в контроле уровня АД. Эта роль у крыс ISIAN, вероятно принадлежит в основном механизмам регуляции диуреза.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (тема № АААА-А21-121011990039-2) при частичной поддержке РФФИ (проект № 017-04-00916).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

М.А.Г. и А.Л.М. обосновали и спланировали исследование. М.А.Г. и Ю.К.П. провели эксперименты. М.А.Г., Ю.К.П. и А.Л.М. обсудили результаты работы и написали раздел результатов, а М.А.Г. и А.Л.М. написали раздел обсуждения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mitchell DL, Andrews KL, Chin-Dusting JP* (2011) Endothelial dysfunction in hypertension: the role of arginase. *Front Biosci (Schol Ed)* 1(3): 946–960. <https://doi.org/10.2741/199>
2. *Pastor CM, Morris SM Jr, Billiar TR* (1995) Sources of arginine for induced nitric oxide synthesis in the isolated perfused liver. *Am J Physiol* 269: G861–G866. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.269.6.G861>
3. *Wu G, Morris SM Jr* (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 336: 1–17. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>
4. *Wu G, Morris SM Jr* (2004). Arginine metabolism in mammals. In: *Metabolic & Therapeutic Aspects of Amino Acids in Clinical Nutrition Second Edition Cynober LC* (ed) Ch 10 CRC Press 153–167.
5. *Якушев ВИ, Покровский МВ, Корокин МВ, Покровская ТГ, Куликовская ВА, Ершов ИН, Бесхмельницкая ЕА, Арустамова АА, Котельникова ЛВ* (2012) Аргиназа – новая мишень для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции. *Научные ведомости БелГУ Сер Медицина Фармация* 22 (141) Вып 22/3 36–41. [*Yakushev VI, Pokrovskiy MV, Korokin MV, Pokrovskaya TG, Kulikovskaya VA, Ershov I.N, Bezkhmel'nitskaya EA, Arustamova AA, Kotelnikova LV* (2012) Arginase – a new target for pharmacological correction of endothelial dysfunction. *Scient Rep BelSU Ser Med Pharmacy* 22 (141) Issue 22/3 36–41. (In Russ)].
6. *Mahdi A, Kövamees O, Pernow J* (2020) Improvement in endothelial function in cardiovascular disease – Is arginase the target? *Int J Cardiol* 15: 301: 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.11.004>
7. *Hey C, Boucher JL, Vadon-Le Goff S, Ketterer G, Wessler I, Racké K* (1997) Inhibition of arginase in rat and rabbit alveolar macrophages by N-omega-hydroxy-D,L-indospicine effects on L-arginine utilization by nitric oxide synthase. *Br J Pharmacol* 121: 395–400. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701143>
8. *Griffith OW, Stuehr DJ* (1995) Nitric oxide synthases: properties and catalytic mechanism. *Annu Rev Physiol* 57: 707–736. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.57.030195.003423>
9. *Hecker M, Nematollahi H, Hey C, Busse R, Racké K* (1995) Inhibition of arginase by NG-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis. *FEBS Lett* 359: 251–254. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00039-c](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00039-c)
10. *Gilinsky MA, Polityko YK, Markel AL, Latysheva TV, Samson AO, Polis B, Naumenko SE* (2020) Norvaline Reduces Blood Pressure and Induces Diuresis in Rats with Inherited Stress-Induced Arterial Hypertension. *Biomed Res Int* 2020 ID 4935386. <https://doi.org/10.1155/2020/4935386>
11. *Amstislavsky S, Welker P, Fruhauf JH, Maslova L, Ivanova L, Jensen B, Markel AL, Bachmann S* (2005) Renal and endocrine changes in rats with inherited stress-induced arterial hypertension. *Histo-*

- chem Cell Biol 8: 1–9.  
<https://doi.org/10.1007/s00418-005-0118-5>
12. Bobko AA, Sergeeva SV, Bagryanskaya EG, Markel AL, Khramtsov VV, Reznikov VA, Kolosova NG (2005) 19F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats. *Biochem Biophys Res Commun* 330(2): 367–370.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.02.166>
  13. Prins HA, Houdijk APJ, Wiezer MJ, Teerlink T, van Lambalgen AAA, Thijs LG, Van Leeuwen PAM (1999) Reduced arginine plasma levels are the drive for arginine production by the kidney in the rat. *SHOCK* 11:199–204.  
<https://doi.org/10.1097/00024382-199903000-00008>
  14. Lang U, Karlaganis G, Seelig S, Sayers G, Schwyzer R (1973) Hormone: receptor interactions. Biological activities of (phenylalanine. norvaline)-adrenocorticotropin-(1-24)-tetracosipeptide and its 4.5-dehydro-4.5-ditritio-norvaline analogue in isolated rat lipocytes and adrenal cortex cells: lipolysis, corticosterone and cyclic adenosine-3'.5'-monophosphate production. *Helv Chim Acta* 56: 1069–1072.  
<https://doi.org/10.1002/hlca.19730560326>
  15. Lahera V, Navarro-Cid J, Cachafeiro V, García-Estañ J, Ruilope LM (1997) Nitric oxide: the kidney and hypertension. *Am J Hypertens* 10(1): 129–140.  
[https://doi.org/10.1016/s0895-7061\(96\)00346-9](https://doi.org/10.1016/s0895-7061(96)00346-9)
  16. Seryapina AA, Shevelev OB, Moshkin MP, Markel AL, Akulov AE (2017) Stress-sensitive arterial hypertension. haemodynamic changes and brain metabolites in hypertensive ISIAH rats: MRI investigation. *Exp Physiol* 102: 523–532.  
<https://doi.org/10.1113/EP086064>

### Arginine Metabolism in the Hypertensive Rats under Arginase Inhibition by Norvaline

M. A. Gilisky<sup>a, \*</sup>, Yu. K. Polityko<sup>a, b</sup>, and A. L. Markel<sup>b, c</sup>

<sup>a</sup>Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia

<sup>b</sup>Federal Scientific Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

<sup>c</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

\*e-mail: m.a.gilinsky@physiol.ru

The hypotensive effect of arginase inhibition in the experiment [1] can be realized in two ways: by relaxation of blood vessels by an increase in the concentration of nitric oxide (NO) and/or a decrease in the amount of circulating fluid. The first effect occurs with an increase in the availability of the substrate of NO synthase (NOS) – arginine (ARG). The second – with an increase in diuresis. To clarify the ways in which arginase affects the regulation of blood pressure (BP) we have analyzed the metabolic characteristics of the amino acid L-arginine in hyper- and normotonic rats during inhibition of arginase activity by the administration of its inhibitor L-norvaline. The concentration of arginine and its metabolite ornithine in blood, urine, and in the homogenate of kidney tissue was measured using high-performance liquid chromatography with the separation on a reversed-phase sorbent and with a fluorescence detection. Norvaline was injected intraperitoneally (ip) once a day at a dose of 30 mg/kg for 7 days. In experiments under the influence of norvaline, no significant increase in the concentration of amino acids in the blood plasma was found either in hypertensive rats (ISIAH strain) or in normotensive control (WAG strain). The concentration of arginine in the urine of ISIAH animals treated with norvaline was found doubled, while in WAG rats it did not change. The daily excretion of arginine under norvaline increased in normotonics only slightly, and in hypertensive rats it increased almost threefold. At the same time, norvaline increased diuresis only in hypertensive animals. Under the influence of norvaline, the content of arginine per 1 g of kidney weight increased almost twofold in hypertensive rats, while in normotensive rats it did not change. The studies performed allow us to conclude, that inhibition of arginase by norvaline had a stronger hypotensive effect in hypertensive rats than in normotensive rats. At the same time, the hypotensive effect of norvaline in normotonic rats can be provided by the nitric oxide system, whereas in hypertensive rats this function is taken over by diuresis.

**Keywords:** arginase, L-norvaline, L-arginine, L-ornithine, blood pressure regulation

## ВЛИЯНИЕ ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 НА СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦ ТРАХЕИ И БРОНХОВ КРЫСЫ

© 2021 г. Л. Е. Блажевич<sup>1,\*</sup>, О. Е. Смирнова<sup>1</sup>, В. М. Кирилина<sup>1</sup>, А. И. Кривченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

<sup>2</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: [lyu15041988@yandex.ru](mailto:lyu15041988@yandex.ru)

Поступила в редакцию 06.04.2021 г.

После доработки 11.05.2021 г.

Принята к публикации 11.05.2021 г.

В статье рассмотрена роль ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 в сократительной активности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы. Исследования проводились на изолированных препаратах с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов (частота – 30 стим./с, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, продолжительность стимуляции – 10 с). Были сформированы две группы животных: контрольная (получала внутрибрюшинную инъекцию физиологического раствора) и экспериментальная с сенсibilизацией овальбумином (получала внутрибрюшинную инъекцию овальбумина с его повторным введением через 14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов. В результате исследования выяснено, что ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 приводят к выраженному увеличению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов как в контрольной группе, так и в группе животных, сенсibilизированных овальбумином. Наибольшее констрикторное влияние на мышцу среди исследованных цитокинов принадлежит ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6.

*Ключевые слова:* цитокины, сенсibilизация овальбумином, гладкая мускулатура трахеи и бронхов

DOI: 10.31857/S0869813921080021

В данной статье рассматривается влияние ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 на сокращение мышцы трахеи и бронхов крыс. Выбор этих интерлейкинов обусловлен их большим значением в патогенезе бронхиальной астмы.

### *Фактор некроза опухоли- $\alpha$ (ФНО- $\alpha$ )*

ФНО- $\alpha$  – провоспалительный цитокин, который высвобождается из различных типов клеток в дыхательных путях человека и животных (тучные клетки, макрофаги) через иммуноглобулинзависимый механизм [1]. ФНО- $\alpha$  активирует по крайней мере два рецептора клеточной поверхности – TNFR1 и TNFR2, которые экспрессируются в большинстве типов клеток [2].

ФНО- $\alpha$  продуцируется в значительных количествах в дыхательных путях при астме. Этот интерлейкин был обнаружен в бронхоальвеолярном лаваже, конденсате выдыхаемого воздуха и мокроте больных астмой во время естественного или вызванного приступа [3]. ФНО- $\alpha$  может участвовать в развитии гиперчувствительности

бронхов, непосредственно изменяя сократительные свойства гладкой мускулатуры дыхательных путей. Основные механизмы неизвестны, но предполагается, что большинство биологических эффектов ФНО- $\alpha$  на гладкую мышцу респираторного тракта опосредуются рецептором этого фактора – TNFR1 [4].

Эффекты влияния ФНО- $\alpha$  на мышцу также связаны с возрастанием кальциевой чувствительности гладкомышечных клеток. В модели сенсibilизированных морских свинок ингибирование ФНО- $\alpha$  полностью устраняло развитие гиперчувствительности бронхов и воспаления дыхательных путей. Респираторные гладкомышечные клетки, подвергнутые действию ФНО- $\alpha$  *in vitro* или *in vivo*, становятся гиперчувствительными ко многим веществам констрикторного действия [5].

Недавно было показано, что кратковременное воздействие ФНО- $\alpha$  на мышцу в течение 30 мин усиливает сократительную реакцию на ацетилхолин за счет увеличения кальциевой чувствительности сократительных элементов в миоцитах трахеи крупного рогатого скота [4–6].

Secher показал, что гиперреактивность бронхов у мышей предотвращалась предварительной нейтрализацией ФНО- $\alpha$  специфическими антителами даже при условии воздействия на мышцу метахолином [7].

Вдыхание аэрозольного ФНО- $\alpha$  индуцировало гиперреактивность бронхов, сопровождающуюся воспалением дыхательных путей у здоровых людей [8], но лежащий в основе этого явления механизм полностью не изучен. Одной из видных патофизиологических особенностей воспалительной гиперреактивности бронхов является повышенная чувствительность сенсорных нервов дыхательных путей [9].

ФНО- $\alpha$  индуцирует мощный сенсibilизирующий эффект на дорсальный корневой ганглий и ноцицептивные нейроны тройничного ганглия, приводя к развитию длительной воспалительной боли в различных соматических тканях [10]. Этот гипераггезирующий эффект был опосредован действием на рецепторы к TNF – TNFR1 и TNFR2, расположенные на поверхности нервных клеток, что приводит к повышению чувствительности и экспрессии ваниллоидных рецепторов 1-го типа (TRPV1). Обильная экспрессия TRPV1 в нейрональной соме и сенсорных терминалях является надежным и заметным биомаркером повышения чувствительности С-волокон [11]. В иммуногистохимических исследованиях показано наличие обоих рецепторов (TNFR1 и TNFR2) на клеточной мембране блуждающих легочных сенсорных нейронов крыс. ФНО- $\alpha$  индуцирует отчетливое повышение чувствительности С-волокон и медленно-адаптирующихся волокон [12].

### *Интерлейкин-2 (ИЛ-2)*

ИЛ-2 вырабатывается тучными клетками, Т-хелперами, а также некоторыми другими клетками организма и принимает участие в воспалительных и аллергических реакциях. В генетическом исследовании, проведенном Christensen, показана связь между ИЛ-2 и IgE-опосредованной аллергией и астмой [13].

Синтез ИЛ-2, а также экспрессия генов, ответственных за формирование полипептидной цепи этого цитокина в лимфоцитах периферической крови повышается в состоянии астматического статуса. Park и Lee указывают на связь повышенного содержания ИЛ-2 и рецепторов к нему в бронхоальвеолярном лаваже со снижением показателя форсированной жизненной емкости легких, снижением показателя объема форсированного выдоха за 1 с и значения пиковой скорости выдоха. Концентрация ИЛ-2 в бронхоальвеолярном лаваже у пациентов с бронхиальной астмой выше, чем у здоровых людей [14]. Аналогичные данные были обнаружены Kanagalingam в недавнем исследовании, где автор указывает на связь уровня ИЛ-2 с тяжестью протекания бронхиальной астмы у человека [15].

Уровень растворимых рецепторов к ИЛ-2 в сыворотке крови значительно повышен у пациентов детского возраста с острой и хронической астмой по сравнению с контрольной группой и у взрослых пациентов с этими же заболеваниями [15]. Аналогичные результаты о повышенном содержании сывороточного растворимого рецептора ИЛ-2 при аллергической астме у детей получили в своих исследованиях Tang и Chen [16].

#### *Интерлейкин-5 (ИЛ-5)*

ИЛ-5 выполняет важную роль в регуляции воспаления при бронхиальной астме. ИЛ-5 принимает участие в формировании поздней фазы воспаления при астме, а также играет одну из ведущих ролей в антиген-индуцированной бронхиальной астме [17].

ИЛ-5 является цитокином, секретируемым Т-клетками, тучными клетками, эозинофилами, базофилами, эпителиальными клетками [18] и рядом других клеток. ИЛ-5 способствует формированию рецепторной гиперчувствительности стенки респираторного тракта. ИЛ-5 может оказывать прямое влияние на гладкую мышцу трахеи и бронхов [19].

Концентрация ИЛ-5 увеличивается в бронхоальвеолярной жидкости у сенсibilизированных морских свинок и крыс. Сох установил высокую концентрацию ИЛ-5 в бронхоальвеолярном лаваже у человека [20]. Применение моноклональных антител к ИЛ-5 приводило к снижению гиперреактивности мышцы трахеи и бронхов у морских свинок и мышей и улучшало функцию внешнего дыхания [21]. Аналогичные результаты получены в группе пациентов с тяжелой формой бронхиальной астмы [22]. Имеются сведения о влиянии ИЛ-5 на респираторный тракт морских свинок. Введение экзогенного ИЛ-5 на изолированные препараты бронхов морских свинок приводило к увеличению сократительной активности гладкой мышцы [20].

#### *Интерлейкин-6 (ИЛ-6)*

ИЛ-6 является провоспалительным цитокином и одним из первых появляется в кровотоке в связи с острой инфекцией. ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции [23]. В дыхательных путях при аллергическом воспалении ИЛ-6 регулирует продукцию провоспалительных и противовоспалительных факторов. ИЛ-6 ингибирует продукцию ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$  и активирует противовоспалительные цитокины ИЛ-1 и ИЛ-10 [24]. Экспрессия белка ИЛ-6R наблюдается в макрофагах бронхоальвеолярного лаважа, эпителии дыхательных путей, эндотелии сосудов и гладких мышцах дыхательных путей [25]. ИЛ-6 может способствовать усугублению неблагоприятного течения астмы [26].

По данным Зенкиной у пациентов с atopической астмой регистрируется повышение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови [27]. После вдыхания аллергена у пациентов с астмой наблюдалось значительное повышение уровня циркулирующего в крови ИЛ-6. Эти результаты предполагают, что ИЛ-6 участвует в механизмах развития бронхиальной астмы [28].

Имеются сведения о том, что ИЛ-6 синтезируется скелетными мышцами при их сокращении. ИЛ-6 индуцирует сокращение гладкой мышцы толстой кишки, воздействуя на нервные структуры и на гладкие мышцы крыс [23]. К аналогичным результатам при исследовании влияния ИЛ-6 на мышцу кишечника пришли Chang и Qin [29]. Tang и Zhou показали, что ИЛ-6 не влияет на тонус гладкой мускулатуры аорты крысы, но приводит к некоторому увеличению сократительных ответов мышцы при ее обработке адrenomimetиками [30].

Таким образом, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 могут быть рассмотрены как цитокины, играющие значительную роль в патогенезе бронхиальной астмы. Из всех выбранных нами для данного исследования цитокинов наименее изученным в плане влияния на сокращения гладкой мышцы респираторного тракта является ИЛ-2. Относительно других цитокинов – ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  – имеются некоторые прямые или косвенные данные об их роли в сокращении гладкой мышцы различных органов у различных животных.

С учетом того, что большинство исследований, посвященных этим цитокинам, позволяют оценить их роль в общей воспалительной реакции при бронхиальной астме, исследования непосредственного влияния этих цитокинов на сокращение гладкой мышцы трахеи и бронхов в условиях нормы и при экспериментальной модели бронхиальной астмы могут быть особенно актуальны. Также большое значение в экспериментах на изолированных препаратах имеет электрическая стимуляция постганглионарных нервов, что максимально приближает исследуемую систему к естественным физиологическим условиям. Поэтому целью настоящего исследования являлось изучение влияния ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  на сокращение гладкой мышцы, трахеи и бронхов крысы с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов в условиях физиологической нормы и экспериментальной модели сенсibilизации овальбумином крыс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Процедура с животными*

В эксперименте было использовано 22 крысы линии Вистар обоего пола массой тела 180–270 г. Различий в сократительных реакциях мышц самцов и самок не было, так как самки были взяты для опытов в период диэструса. Животные содержались в виварии согласно санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”. С целью получения образцов респираторного тракта производилась декапитация. Общую анестезию проводили при помощи инъекций зоветила (Virbac S.A., Франция, 20 мг/кг, внутримышечно). Такой подход обеспечивал быструю эвтаназию животного (удовлетворяющий рекомендациям по эвтаназии экспериментальных животных, Европейской комиссии, Приказу Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”) [31]. Далее животное закреплялось на столе для вскрытия. После этого вскрывали грудную клетку и затем производили операцию с извлечением дыхательных путей животного. Паренхиматозную ткань легких удаляли механически деревянным шпателем [32]. Дыхательные пути промывали в растворе Кребса–Хензелейта следующего состава (в мМ): 118 NaCl; 4.8 KCl; 1.18 MgSO<sub>4</sub>; 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2.5 CaCl<sub>2</sub>; 25 NaHCO<sub>3</sub>; 5.5 глюкоза, а затем готовили препараты трахеи и бронхов. Каждый препарат представлял собой образец трахеи или бронхов длиной 0.4–0.6 см и шириной 0.5–0.7 см. Образцы трахеи и бронхов брались из области бифуркаций, поскольку в этих участках присутствуют интрамуральные ганглии. Линия разреза трахеи и бронхов проходила через хрящевые полукольца. Гладкая мышца оставалась нетронутой. Препараты трахеи и бронхов помещали в камеру с раствором Кребса–Хензелейта, где один край препарата фиксировали иглами, а второй край устанавливали крючками-держателями, прикрепленными к электромеханическому датчику, регистрирующему величину сократительной реакции (измеряемой в миллиньютонх (мН)).

### *Оборудование*

В экспериментах использовали физиологический комплекс, поддерживающий нормальное протекание физиологических процессов в изолированных препаратах. Комплекс включал в себя специальные камеры для помещения в них препаратов трахеи и бронхов, ультратермостат, аэратор, насос перистальтический (ML0146/C-V, Multi Chamber Organ Baths, Panlab, Германия), электромеханические датчики (Grass FT-03 force displacement transducer, Astro Med, West Warwick, RI, США), электростимулятор (direct-current stimulator, Grass S44, Quincy, MA, США), персональный компьютер, специальное программное обеспечение (Chart v4.2 software, Power Lab, AD Instruments, Colorado Springs, CO, США).

### *Электрофизиологические эксперименты*

Во всех экспериментах использовалась стимуляция электрическим полем. Во время работы применялась электростимуляция постганглионарных нервных волокон (частота стимулов – 30 Гц, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, длительность стимуляции – 10 с). Электростимуляция моделировала естественную проводимость электрических импульсов через постганглионарное звено рефлекторной цепи. В экспериментах изучалась сократительная реакция гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы при использовании электростимуляции и фармакологических средств. Сначала проводили электростимуляцию препаратов трахеи и бронхов. Затем регистрировали сократительные реакции мышц. Эти ответы были приняты за базовый уровень (или 100%). После этого добавляли фармакологические вещества и регистрировали сократительные реакции мышц. Таким образом, регистрировали реакции трахеальной и бронхиальной мускулатуры с учетом электростимуляции и фармакологических препаратов. Величина сократительных реакций на применение препарата в значительной степени зависела от исходного тонуса гладкой мускулатуры, а также от контрольных сократительных реакций вследствие применения электростимуляции на фоне физиологического раствора. Несмотря на то, что все животные были одного возраста и выборка была однородной, вариабельность исходного тонуса и контрольных реакций (измеренных в мн) таких органов, как трахея и бронхи, была достаточно высокой, и этот факт определил учет сокращения в процентах (подсчитанных в процентах от базового уровня активности, взятого за 100%). Методы электростимуляции постганглионарных нервов взяты из методов исследования, предложенных Фединым [33].

### *Фармакологическая процедура*

В камерах с препаратами поддерживали необходимый уровень кислорода, температуру (37°C) и pH (6.9–7.1). Приток свежего раствора Кребса–Хензелейта обеспечивался регулярно, как и отток использованного [33].

В ходе экспериментов в камеры с препаратами вводили растворы следующих веществ: ФНО- $\alpha$  в концентрации 50 мг/мл, ИЛ-2 – 30 нг/мл, ИЛ-5 – 20 нг/мл, ИЛ-6 – 30 нг/мл. Все интерлейкины произведены фирмой Sigma-Aldrich, США. Концентрации фармакологических веществ были подобраны в лаборатории при проведении предварительных опытов, в которых физиологический эффект действия препарата был наиболее выражен. Исследованные интерлейкины поступали в камеры с препаратами при помощи перфузии в течение 120 мин, после чего производилась регистрация сократительной активности.

### *Процедура сенсibilизации животных*

Крысы были сенсibilизированы однократным внутрибрюшинным введением 0.2 нмоль овальбумина (Sigma-Aldrich, Германия), смешанного с 120 мкмоль гидроксида алюминия (Sigma-Aldrich, Германия) в качестве адьюванта. Через 14 дней проводилась аппликация овальбумина (1.2 нмоль/мл) в камеру с экспериментальными препаратами. Первичное введение овальбумина способствует развитию сенсibilизации организма животного. Повторная аппликация овальбумина приводит к дегрануляции тучных клеток в экспериментальных препаратах. Несенсibilизированной группе крыс в качестве контроля вводили внутрибрюшинно физиологический раствор [34].

### *Схема эксперимента*

Были сформированы две группы животных: контрольная (получала физиологический раствор) и экспериментальная, сенсibilизированная овальбумином (получала инъекцию овальбумина с его повторным введением в камеры с препаратами через 14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов.

### *Статистический анализ*

Статистический анализ проводился с помощью статистического пакета SPSS, версия 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, США). Сравнение между группами контрольных и экспериментальных результатов проводили с использованием независимых *t*-тестов. Значение  $p < 0.05$  считалось статистически значимым. Данные были выражены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

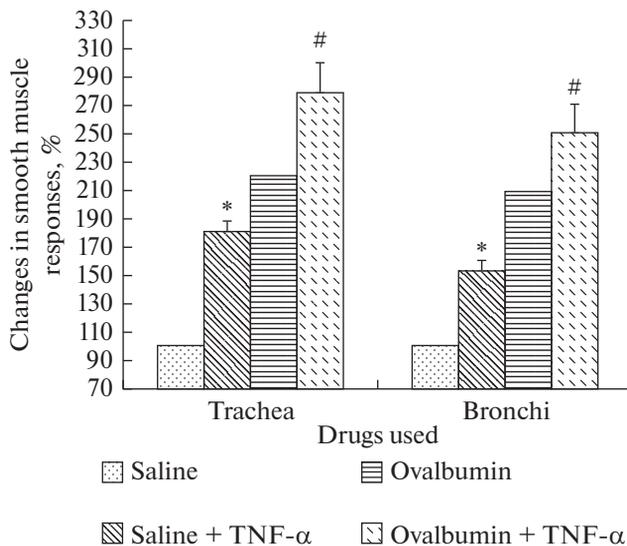
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) ФНО- $\alpha$  вызывал выраженное увеличение сократительных ответов в препаратах трахеи и бронхов (рис. 1). После сенсibilизации овальбумином сократительные ответы мышцы в присутствии физиологического раствора возрастали до патологических значений. В экспериментальной модели с сенсibilизацией животных овальбумином сократительные ответы при введении в ванночки с препаратами ФНО- $\alpha$  достигали высоких значений.

На фоне физиологического раствора, ИЛ-2 приводил к повышению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и мышцы бронхов (рис. 2) как у сенсibilизированных овальбумином крыс на фоне применения электрической стимуляции постганглионарных нервов, так и при перфузии раствором интерлейкина-2.

На фоне физиологического раствора, ИЛ-5 вызывал возрастание сокращений мышцы трахеи (рис. 3). Сенсibilизация животных овальбумином с повторным его введением приводила к увеличению сократительных ответов мышцы трахеи. Поступление ИЛ-5 в камеру с препаратами способствовало увеличению сокращению трахеи и бронхов.

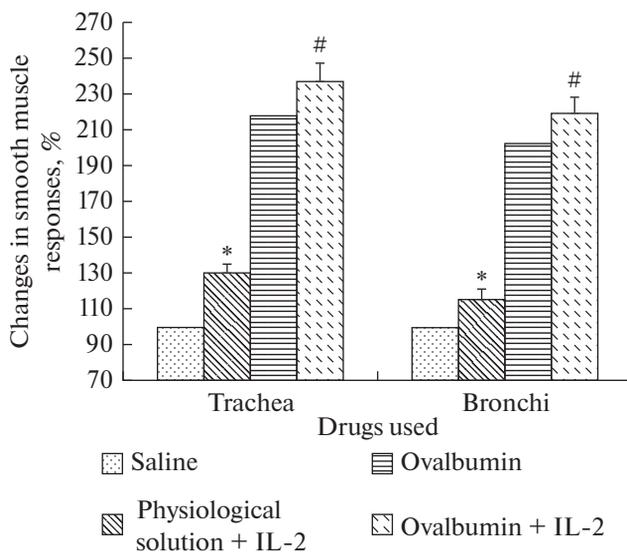
На фоне физиологического раствора (контрольная группа животных), ИЛ-6 вызывал увеличение сократительных ответов в препаратах трахеи и бронхов (рис. 4). В экспериментальной модели бронхиальной астмы сократительные ответы в препаратах трахеи и в препаратах бронхов увеличивались. При поступлении в камеры с препаратами интерлейкина-6 сократительные ответы в препаратах трахеи и бронхов возрастали.



**Рис. 1.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ФНО- $\alpha$  на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

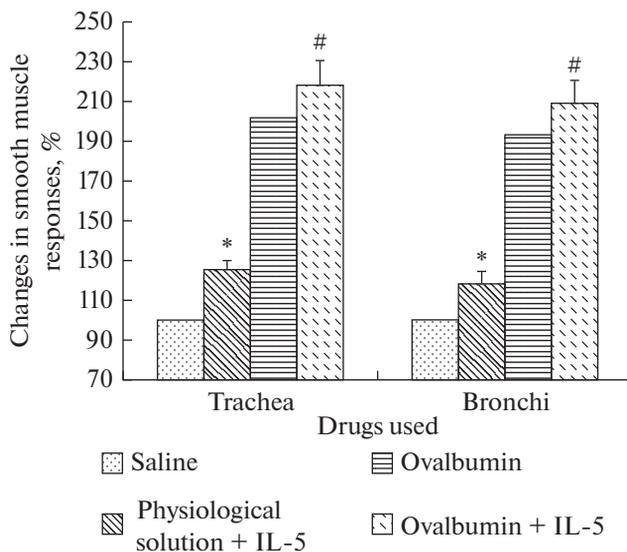
# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 2.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-2 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

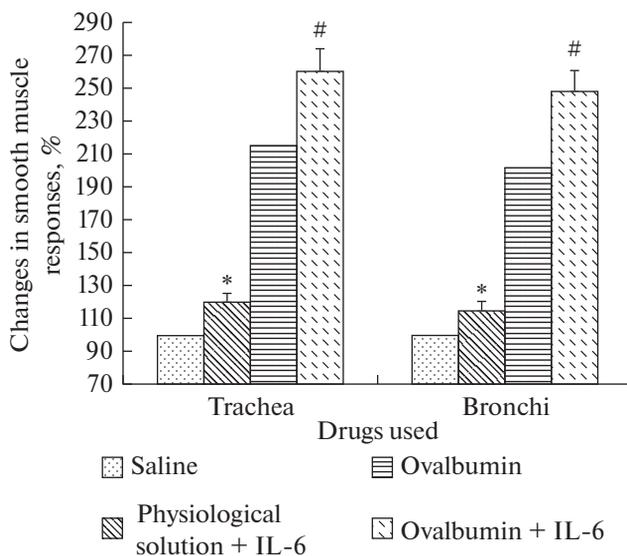
# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 3.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-5 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 4.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-6 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ФНО- $\alpha$  достоверно увеличивал значения сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов крыс как в норме, так и в модели сенсibilизированных животных. При сравнении констрикторного эффекта ФНО- $\alpha$  на мышцу с эффектами ИЛ-2, ИЛ-5 и ИЛ-6 выяснилось, что ФНО- $\alpha$  оказывает самое сильное констрикторное влияние в исследуемых концентрациях. Полученные нами данные на респираторном тракте крысы согласуются с данными, полученными на других животных. О констрикторном влиянии ФНО- $\alpha$  на гладкую мышцу респираторного тракта мышей, морских свинок и крупного рогатого скота свидетельствуют результаты ряда исследователей [4–6]. В литературе найти сведения о влиянии ФНО- $\alpha$  на мышцу респираторного тракта крысы нам не удалось. Также следует отметить, что наши исследования проведены с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов, что отличает от работ Amrani, Nakatani, Secher [4, 6, 7].

Такой мощный констрикторный эффект на мышцу ФНО- $\alpha$  можно связать не только с механизмами воздействия этого цитокина на миоциты через рецептор TNFR1, но и с прямым воздействием цитокина на ванилоидные рецепторы С-волокон.

ИЛ-6 также давал очень выраженный констрикторный эффект на гладкую мышцу трахеи и бронхов в условиях электрической стимуляции постганглионарных нервных волокон. Большие значения сократительных ответов можно также связать с двунаправленным действием этого цитокина: прямое воздействие на мышцу через рецептор ИЛ-6R и воздействием на нервные структуры (холинергические нервные окончания, стреч-рецепторы, нервные окончания С-волокон) путем открытия натриевых каналов [28]. Полученные нами данные о влиянии ИЛ-6 на сократительные ответы гладкой мышцы получили частичное подтверждение результатов исследований Zhang и Chang, проведенных на гладкой мускулатуре кишечника крыс [29]. Аналогичных исследований на мышце респираторного тракта нам не удалось обнаружить.

Влияния ИЛ-2 и ИЛ-5 на сокращение мышцы приблизительно одинаковы в использованных в эксперименте концентрациях. ИЛ-2 увеличивал сократительные ответы мышцы трахеи сенсibilизированных крыс на 20.3% от фонового значения ( $217.8 \pm 6.1\%$ ), а ИЛ-5 увеличивал ответы трахеи на 17.6% (от значения  $201.7 \pm 6.1\%$ ). Гладкая мышца бронхов под влиянием ИЛ-2 увеличивала сократительный ответ на 16.9% от фонового значения ( $203.2 \pm 5.8\%$ ), а под влиянием ИЛ-5 сократительный ответ повышался на 15.8% от фонового значения ( $194.2 \pm 5.4\%$ ).

Результаты исследований по ИЛ-5 согласуются с данными Сазонова, полученными в экспериментах на морских свинках [35]. Информация по влиянию ИЛ-2 на сокращения мышцы респираторного тракта практически отсутствует. Полученные данные представляют новые сведения о влиянии ИЛ-2 на гладкую мышцу и могут найти косвенное подтверждение в работе Park и Lee, доказывающей связь между высоким уровнем ИЛ-2 в бронхоальвеолярном лаваже со снижением функции внешнего дыхания [13].

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало, что ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  оказывают констрикторное влияние на гладкую мышцу трахеи и бронхов крысы на фоне применения электрической стимуляции постганглионарных нервов в условиях физиологической нормы и у сенсibilизируемых овалбумином животных. Наибольшее констрикторное влияние на мышцу среди исследованных цитокинов принадлежит ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено на внебюджетные средства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Петрозаводский государственный университет”.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Л.Е.Б., О.Е.С., В.М.К., А.И.К., сбор данных – Л.Е.Б., О.Е.С., обработка данных – Л.Е.Б., О.Е.С., В.М.К., А.И.К., написание и редактирование статьи – Л.Е.Б., О.Е.С.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brightling C, Berry M, Amrani Y* (2008) Targeting TNF-alpha: a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121: 5–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.10.028>
2. *Tartaglia LA, Goeddel DV* (1992) Two TNF receptors. *Immunol Today* 13: 151–153.  
[https://doi.org/10.1016/0167-5699\(92\)90116-O](https://doi.org/10.1016/0167-5699(92)90116-O)
3. *Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T* (2006) Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 118: 84–90.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.020>
4. *Amrani Y, Chen H, Panettieri RA* (2000) Activation of tumor necrosis factor receptor 1 in airway smooth muscle: a potential pathway that modulates bronchial hyper-responsiveness in asthma? *Respirat Res* 1: 49–53.  
<https://doi.org/10.1186/rr12>
5. *Amrani Y, Panettieri RA* (1998) Cytokines induce airway smooth muscle cell hyperresponsiveness to contractile agonists. *Thorax* 53: 713–716.  
<https://doi.org/10.1136/thx.53.8.713>
6. *Nakatani Y, Nishimura Y, Nishiuma T, Maeda H, Yokoyama M* (2000) Tumor necrosis factor- $\alpha$  augments contraction and cytosolic  $Ca^{2+}$  through phospholipase A2 in bovine tracheal smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 392:175–182.  
[https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00087-X)
7. *Secher T, Coelho RF, Noulin N, Lino dos Santos Franco A, Quesniaux V, Lignon J, Mitchell J, Moser R, Gomes E, Mirotti L, Tavares-de-Lima W, Ryffel B* (2012) Enhancement of Methacholine-Evoked Tracheal Contraction Induced by Bacterial Lipopolysaccharides Depends on Epithelium and Tumor Necrosis Factor. *J Allergy* 2012: 494085.  
<https://doi.org/10.1155/2012/494085>
8. *Thomas PS, Yates DH, Barnes PJ* (1995) Tumor necrosis factor- $\alpha$  increases airway responsiveness and sputum neutrophilia in normal human subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 76–80.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.1.7599866>
9. *Mazzone SB, Udem BJ* (2016) Vagal Afferent Innervation of the Airways in Health and Disease. *Physiol Rev* 96: 975–1024.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2015>
10. *Nicol GD, Lopshire JC, Pafford CM* (1997) Tumor necrosis factor enhances the capsaicin sensitivity of rat sensory neurons. *J Neurosci* 17: 975–982.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-03-00975.1997>
11. *Watanabe N, Horie S, Michael GJ, Keir S, Spina D, Page CP* (2006) Immunohistochemical colocalization of transient receptor potential vanilloid (TRPV)1 and sensory neuropeptides in the guinea-pig respiratory system. *Neuroscience* 141: 1533–1543.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.073>
12. *Hu Y, Gu Q, Lin RL, Kryscio R, Lee LY* (2010) Calcium transient evoked by TRPV1 activators is enhanced by tumor necrosis factor- $\alpha$  in rat pulmonary sensory neurons. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 299: L483–L492.  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00111.2010>
13. *Christensen U, Haagerup A, Binderup HG, Vestbo J, Kruse TA, Borglum AD* (2006) Family based association analysis of the IL2 and IL15 genes in allergic disorders. *Eur J Hum Genet* 14(2):

- 227–235.  
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201541>
14. *Park CS, Lee SM, Uh ST, Kim HT, Chung YT, Kim YH, Choi BW, Hue SH, Lee HB* (1993) Soluble interleukin-2 receptor and cellular profiles in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 91(2): 623–633.  
[https://doi.org/10.1016/0091-6749\(93\)90268-k](https://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90268-k)
  15. *Kanagalingam T, Solomon L, Vijeyakumaran M, Palikhe NS, Vliagoftis H, Cameron L* (2019) IL-2 modulates Th2 cell responses to glucocorticosteroid: A cause of persistent type 2 inflammation? *Immunity, Inflammation and Disease*. *Immun Inflamm Dis* 7: 112–124.  
<https://doi.org/10.1002/iid3.249>
  16. *Tang RB, Chen SJ* (2001) Soluble interleukin-2 receptor and interleukin-4 in sera of asthmatic children before and after a prednisolone course. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86(3): 314–317.  
[https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63305-4](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63305-4)
  17. *Shimizu H, Obase Y, Katoh S, Mouri K, Kobashi Y, Oka M* (2013) Critical role of interleukin-5 in the development of a mite antigen-induced chronic bronchial asthma model. *Inflammat Res* 62: 911–917.  
<https://doi.org/10.1007/s00011-013-0651-y>
  18. *Salvi S, Semper A, Blomberg A* (1999) Interleukin-5 production by human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20: 984–991.  
<https://doi.org/10.1165/ajrcmb.20.5.3463>
  19. *Tominaga A, Takaki S, Koyama N, Katoh S* (1991) Transgenic mice expressing a B cell growth and differentiation factor gene (IL-5) develop eosinophilia and autoantibody production. *J Exp Med* 173: 429–437.  
<https://doi.org/10.1084/JEM.173.2.429>
  20. *Cox LS* (2009) How safe are the biologicals in treating asthma and rhinitis? *Allergy, Asthma, Clin Immunol* 5(1): 4.  
<https://doi.org/10.1186/1710-1492-5-4>
  21. *Oosterhout AJ, Lodenius AR, Savelkoul HF* (1993) Effect of anti-IL-5 and IL-5 on airway hyperreactivity and eosinophils in guinea-pig. *Am Rev Respir Dis* 147: 548–552.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm/147.3.548>
  22. *Haldar P, Brightling CE, Hargadon B* (2009) Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360: 973–984.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808991>
  23. *Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK* (2000) Physical activity and plasma interleukin-6 in humans: effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol* 83: 512–515.  
<https://doi.org/10.1007/s004210000312>
  24. *Ferrerira MA, Matheson MC, Duffy DL* (2011) Identification of IL-6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma. *Lancet* 378: 1006–1014.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60874-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60874-X)
  25. *Taga T, Hibi M, Hirata Y* (1989) Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 58.S3: 573–581.  
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90438-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90438-8)
  26. *Hawkins GA, Robinson MB, Hastie AT* (2012) The IL6R variation Asp(358)Ala is a potential modifier of lung function in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 130: 510–515.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.03.018>
  27. *Зенкина ЛВ, Смирнова СВ, Кадричева СГ* (2008) Бронхиальная астма: концентрация ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИФН и ТФНА в сыворотке периферической крови и изменения в иммунном статусе при атопии и псевдоатопии. *Вестник клин больницы № 51* 3: 42–47. [Zenkina LV, Smirnova SV, Kadrichева SG (2008) Bronchial asthma: concentration of IL-2, IL-4, IL-6, IFN and TFNA in peripheral blood serum and changes in immune status in atopy and pseudo-atopia. *Clin Hospital Bull No 51* 3: 42–47. (In Russ)].
  28. *Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Hamada H, Inoue Y, Fujioka S, Ishida S, Hiwada K* (1995) Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 151(5): 1354–1358.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.5.7735584>
  29. *Chang XW, Qin Y, Jin Z, Xi TF, Yang X, Lu ZH, Tang YP, Cai WT, Chen SJ, Xie DP* (2015) Interleukin-6 (IL-6) mediated the increased contraction of distal colon in streptozotocin-induced diabetes in rats via IL-6 receptor pathway. *J Clin Exp Pathol* 8(5): 4514–4524.
  30. *Tang WB, Zhou YQ, Zhou T, Shan JL, Sun P, Yang TT, Chang XW, Li S, Wang PS, Xie DP* (2011) Effect of interleukin-6 (IL-6) on the vascular smooth muscle contraction in abdominal aorta of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Chin J Physiol* 54(5): 318–323.  
<https://www.pubfacts.com/detail/22135910/Effect-of-interleukin-6-IL-6-on-the-vascular-smooth-muscle-contraction-in-abdominal-aorta-of-rats-wi>

31. *Close B, Banister K, Baumans V, Warwick C* (1997) Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Labor Animals J* 31: 1–32. <https://doi.org/10.1258/002367797780600297>
32. *Hatziefthimiou A, Karetsi E, Pratzoudis E, Gourgoulialis K, Molyddas P* (2005) Resting tension on airway smooth muscle: the involvement of epithelium. *Respir Physiol Neurobiol J* 145: 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.06.004>
33. *Федин АН, Алиева ЕВ, Ноздрачев АД* (1997) Реакции гладкой мышцы трахеи на гистамин. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 83:102–108. [Fedin AN, Alieva EV, Nozdrachev AD (1997) Reactions of the smooth muscle of the trachea to histamine. *Russ J Physiol* 83: 102–108. (In Russ)].
34. *Masakazu Y, Osamu S, Kenji N, Tetsuji M, Koji S* (2006) Propofol Attenuates Ovalbumin-Induced Smooth Muscle Contraction of the Sensitized Rat Trachea: Inhibition of Serotonergic and Cholinergic Signaling. *Anesthesia & Analgesia J* 3: 594–600. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229853.01875.60>
35. *Сазонов АЭ, Лещевой ИС, Дьяковой ЕЮ, Копыевой АП* (2003) Влияние интерлейкина-5 на сократительную активность гладкомышечных препаратов бронхов морских свинок. *Науки о человеке* 1:161–162. [Sazonov AE, Leshchevoy IS, Dyakova EYu, Kopyevoj AP (2003) The effect of interleukin-5 on the contractile activity of smooth muscle preparations of the bronchi of guinea pigs. *Human Sciences* 1: 161–162. (In Russ)].

### Influence of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 on Contraction of the Muscles of the Trachea and Bronchi of the Rat

L. E. Blazhevich<sup>a, \*</sup>, O. E. Smirnova<sup>a</sup>, V. M. Kirilina<sup>a</sup>, and A. I. Krivchenko<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

<sup>b</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

\*e-mail: lyu15041988@yandex.ru

The article discusses the role of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 in the contractile activity of the smooth muscles of the trachea and bronchi of rats. The studies were carried out on isolated preparations using electrical stimulation of postganglionic nerves (frequency – 30 stim/s, duration – 0.5 ms, amplitude – 20 V, duration of stimulation – 10 s). Two groups of animals were formed: a control group (received an intraperitoneal injection of saline) and an experimental group sensitized with ovalbumin (received an intraperitoneal injection of ovalbumin with its repeated administration after 14 days). Further, the assessment of the contraction of the muscles of the trachea and bronchi after repeated administration of ovalbumin and after perfusion with interleukin solutions was carried out. As a result of the study, it was found that TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 lead to a pronounced increase in the contractile responses of the smooth muscle of the trachea and bronchi both in the control group of animals and in the group of animals sensitized with ovalbumin. The greatest constrictor effect on muscle among the studied cytokines belongs to TNF- $\alpha$  and IL-6.

*Keywords:* cytokines, sensitization with ovalbumin, smooth muscles of the trachea and bronchi

## МЕХАНИЗМЫ ИНГИБИРОВАНИЯ AMPA РЕЦЕПТОРОВ ДИМИНАЗЕНОМ

© 2021 г. А. С. Жигулин<sup>1</sup>, М. Ю. Дронь<sup>1</sup>, О. И. Барыгин<sup>1</sup>. \*

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: Oleg\_Barygin@mail.ru

Поступила в редакцию 25.02.2021 г.

После доработки 10.05.2021 г.

Принята к публикации 24.05.2021 г.

Диминазен – это противоинфекционный препарат для животных, относящийся к группе диариламидинов. В данной работе мы впервые обнаружили его ингибирующее действие на AMPA-тип ионотропных глутаматных рецепторов. Эксперименты проводились на изолированных нейронах крыс линии Вистар, для исследования кальций-проницаемых AMPA-рецепторов использовались гигантские холинергические интернейроны стриатума, для кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов – пирамидные клетки зоны CA1 гиппокампа. Изоляция клеток осуществлялась методом вибродиссоциации, а регистрация токов – методом фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка”. Диминазен концентрационно-зависимым образом ингибировал токи, вызванные аппликацией каината в обоих типах нейронов. ИК50 для кальций-проницаемых и кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов составили  $60 \pm 11$  и  $160 \pm 30$  мкМ соответственно. Интересно, что ингибирующее действие диминазена усиливалось при увеличении концентрации агониста. Кривая потенциал-зависимости ингибирования фиксированной концентрацией диминазена для кальций-проницаемых AMPA-рецепторов имела двухфазную форму: минимальное ингибирование наблюдалось при положительных потенциалах, максимум – при  $-40 \dots -60$  мВ, а при дальнейшей гиперполяризации – постепенное снижение эффективности блокады. Все эти признаки свидетельствуют о блокаде диминазеном канала AMPA-рецепторов с возможностью проникновения через канал внутрь клетки.

*Ключевые слова:* AMPA-рецепторы, диминазен, механизмы ингибирования, пэчч-кламп

DOI: 10.31857/S0869813921080112

Диминазен – это противоинфекционный препарат для животных, относящийся к группе диариламидинов [1]. Он был разработан более 60 лет назад и используется для лечения трипаносомозов и ряда других заболеваний, вызываемых простейшими, у животных [2]. В исследованиях последних 20 лет были обнаружены и другие мишени для диминазена. В частности, он способен активировать ангиотензинпревращающий фермент 2 [3] и обладает иммуномодуляторными свойствами [3, 4]. Кроме того, диминазен является блокатором протон-управляемых ионных каналов семейства ASIC [5, 6]. Новые пути применения диминазена достаточно активно обсуждаются в настоящее время, в том числе в свете эпидемии COVID-19 [7].

Нами недавно было показано, что диминазен способен ингибировать ионотропные глутаматные рецепторы NMDA-типа в микромолярных концентрациях [8].

AMPA-рецепторы – это еще один основной тип ионотропных глутаматных рецепторов [9]. Они опосредуют быструю возбуждающую синаптическую передачу в ЦНС позвоночных животных. Традиционно их делят на два основных подтипа: кальций-проницаемые и кальций-непроницаемые, отличающиеся по своим фармакологическим свойствам и физиологической роли [9]. В частности, для кальций-проницаемых AMPA-рецепторов характерна большая проводимость канала [10] и более высокая чувствительность к катионным каналоблокаторам [11, 12]. Напротив, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые AMPA-рецепторы одинаково чувствительны к негативным аллостерическим антагонистам, таким как антиконвульсант перампанел [13, 14]. С прикладной точки зрения поиск новых антагонистов AMPA-рецепторов среди лекарственных препаратов представляется актуальным из-за относительно недавнего введения в клиническую практику перампанела для лечения эпилепсии [15, 16]. С учетом действия диминазена на NMDA-тип ионотропных глутаматных рецепторов было интересно проверить, не будет ли он ингибировать и рецепторы AMPA-типа. Стоит отметить, что общей удлиненной формой молекулы и положительным зарядом при физиологических значениях pH диминазен напоминает классические блокаторы каналов AMPA-рецепторов.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями Комиссии по гуманному обращению с животными Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Крыс линии Вистар (14–19 дней) декапитировали под уретановым наркозом. Мозг быстро извлекали и охлаждали до 2–4°C. Затем на вибраторе 7000 smz2 Campden Instruments (Великобритания) приготавливали поперечные срезы гиппокампа и стриатума толщиной 250 мкм, которые сохраняли в растворе следующего состава (мМ): NaCl – 124, KCl – 5, CaCl<sub>2</sub> – 1.3, MgCl<sub>2</sub> – 2.0, NaHCO<sub>3</sub> – 26, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.24, D-глюкоза – 10. Раствор аэрировали карбогеном (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), pH 7.4–7.5 при комнатной температуре. Нейроны изолировали из срезов методом вибродиссоциации [17]. Для работы с кальций-непроницаемыми AMPA-рецепторами использовали пирамидные нейроны зоны CA1 гиппокампа, для работы с кальций-проницаемыми AMPA-рецепторами – гигантские холинэргические интернейроны стриатума [18, 19]. Для идентификации типа клеток помимо морфологического использовали фармакологический критерий – чувствительность к избирательному блокатору кальций-проницаемых AMPA-рецепторов ИЭМ-1925 [20]. Корреляция между проницаемостью AMPA-рецепторов для кальция и чувствительностью к дикалионным каналоблокаторам была продемонстрирована ранее [19].

Для регистрации трансмембранных токов применяли метод фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка”. Внеклеточный раствор содержал (в мМ): NaCl – 143, KCl – 5, MgCl<sub>2</sub> – 2.0, CaCl<sub>2</sub> – 2.5, D-глюкоза – 18, HEPES – 10 (pH подводили до 7.3 добавлением HCl). Микропипетку заполняли раствором (мМ): CsF – 100, CsCl – 40, NaCl – 5, CaCl<sub>2</sub> – 0.5, EGTA – 5, HEPES – 10 (pH подводили до 7.2 добавлением CsOH). Для подачи веществ применяли восьмиканальную систему быстрой замены растворов с электромагнитными клапанами RSC-200 BioLogic Science Instruments (Франция). Время смены раствора составляло 50–60 мс. Регистрацию токов проводили с помощью усилителя EPC8 HEKA Elektronik (Германия). Сигнал фильтровался в полосе частот 0–5 кГц и оцифровывался с частотой дискретизации 1 кГц. Контроль поддерживаемого на мембране потенциала, управление системой аппликации, регистрацию и анализ данных осуществляли с помо-

щью персонального компьютера. Диминазен (diminazene acetate, D7770) был куплен в фирме Sigma Aldrich, остальные реактивы – там же или в Tocris Bioscience.

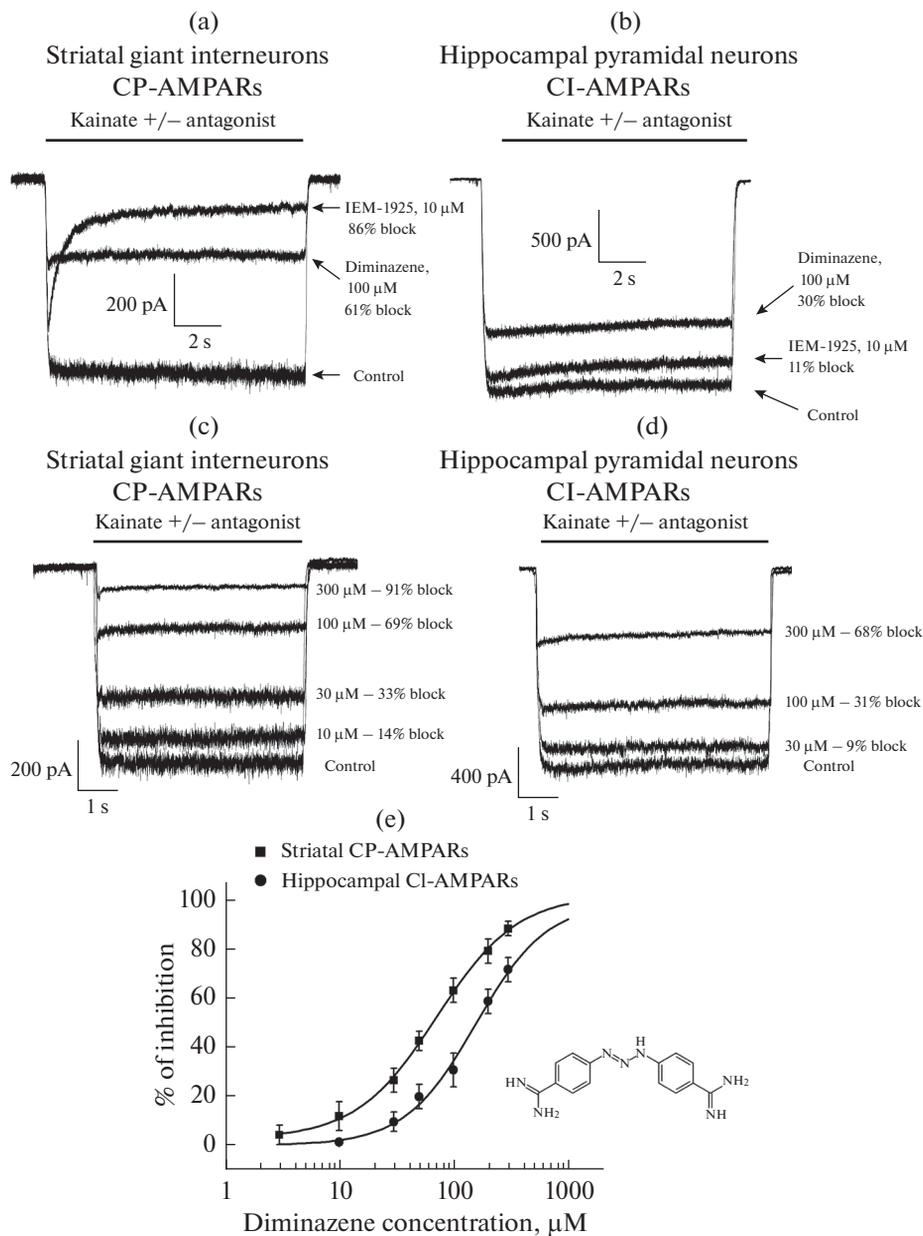
Данные о действии диминазена представлены в виде среднее  $\pm$  стандартное отклонение на основе как минимум 5 экспериментов. Статистическая значимость эффектов анализировалась с помощью парного *t*-теста.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

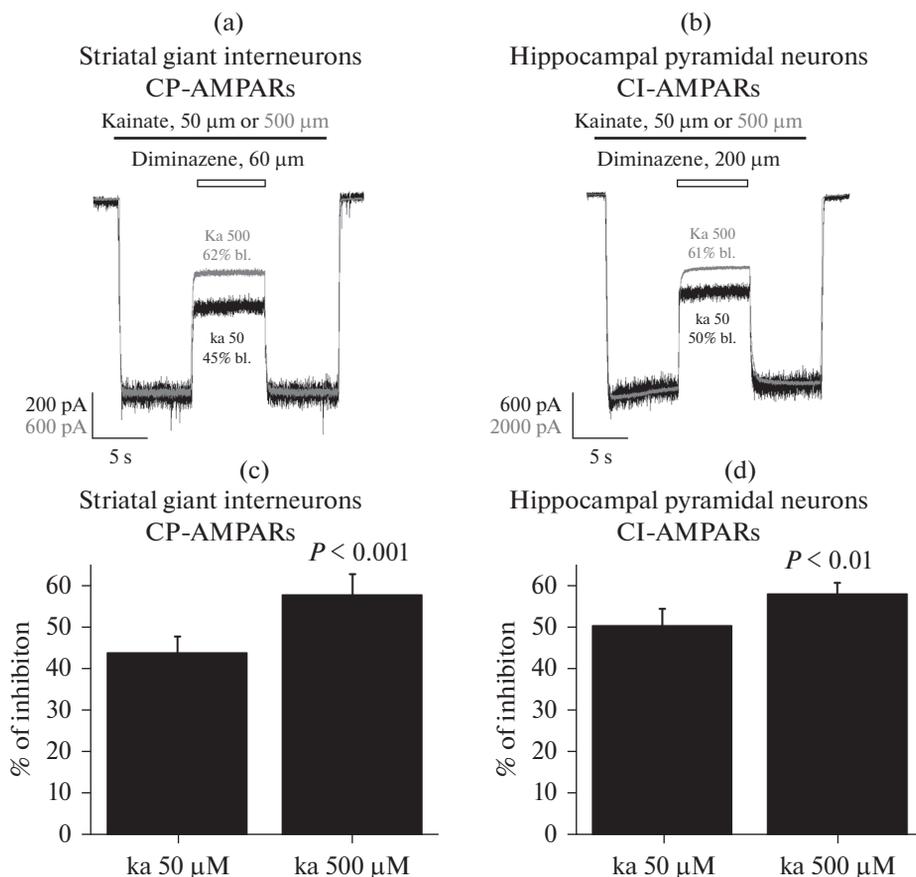
Апликация каината (100 мкМ) вызывала возникновение входящих токов в пирамидных клетках гиппокампа и гигантских интернейронах стриатума при потенциале на мембране  $-80$  мВ. На рис. 1а и 1б представлены репрезентативные примеры ингибирования этих токов избирательным блокатором кальций-проницаемых АМРА-рецепторов ИЭМ-1925 в концентрации 10 мкМ и диминазеном в концентрации 100 мкМ. ИЭМ-1925 эффективно ингибировал ответы в гигантских интернейронах стриатума (блок  $84 \pm 5\%$ ,  $n = 7$ , рис. 1а) и слабо влиял на ответы в пирамидных нейронах гиппокампа (блок  $10 \pm 4\%$ ,  $n = 6$ , рис. 1б). Диминазен в концентрации 100 мкМ также был более эффективен по отношению к кальций-проницаемым АМРА-рецепторам гигантских интернейронов стриатума (блок  $64 \pm 5\%$ ,  $n = 7$ ), по сравнению с кальций-непроницаемыми АМРА-рецепторами пирамидных нейронов гиппокампа (блок  $31 \pm 7\%$ ,  $n = 6$ ). Затем мы исследовали концентрационную зависимость действия диминазена на оба основных подтипа АМРА-рецепторов. Репрезентативные примеры ингибирования токов диминазеном в концентрациях 10–300 мкМ для кальций-проницаемых АМРА-рецепторов и 30–300 мкМ для кальций-непроницаемых АМРА-рецепторов представлены на рис. 1с и 1д соответственно. Ингибирующее действие диминазена было быстрым и обратимым. Апликация самого диминазена в концентрациях до 300 мкМ токов в нейронах не вызывала, а в более высоких концентрациях приводила к гибели клеток. ИК50, полученные с помощью аппроксимации данных уравнением Хилла, были равны  $60 \pm 11$  ( $n = 7$ ) и  $160 \pm 30$  мкМ ( $n = 6$ ) для кальций-проницаемых и кальций-непроницаемых АМРА-рецепторов соответственно, а коэффициенты Хилла  $1.2 \pm 0.2$  и  $1.5 \pm 0.3$ . Таким образом, диминазен был более активен по отношению к кальций-проницаемым АМРА-рецепторам, чем по отношению к кальций-непроницаемым, что характерно для антагонистов, действующих по механизму блокады ионного канала. Для обоих типов рецепторов форма кривой подразумевает полное ингибирование при высоких концентрациях антагониста.

На следующем этапе мы решили проверить, является ли ингибирование АМРА-рецепторов диминазеном конкурентным или неконкурентным. Для этого мы сравнили эффективность ингибирования фиксированной концентрацией вещества при двух разных концентрациях каината: 50 и 500 мкМ (рис. 2). Амплитуда ответа на апликацию 500 мкМ каината в случае гигантских интернейронов стриатума была в среднем в 3.9  $\pm$  0.7 раза выше, чем амплитуда ответа на апликацию 50 мкМ каината. На рис. 2а представлен репрезентативный пример ингибирования кальций-проницаемых АМРА-рецепторов гигантского интернейрона стриатума диминазеном в концентрации 60 мкМ. Ответы на каинат в концентрациях 50 и 500 мкМ нормированы на рисунке для наглядности. Оказалось, что диминазен достоверно более эффективно ( $n = 6$ ,  $p < 0.001$ , рис. 2с) блокирует ответы, вызванные апликацией каината 500 мкМ ( $58 \pm 5\%$ ), по сравнению с каинатом в концентрации 50 мкМ ( $44 \pm 4\%$ ). Это однозначно свидетельствует в пользу неконкурентного механизма его действия. Аналогичные данные были получены для кальций-непроницаемых АМРА-рецепторов пирамидных нейронов гиппокампа (рис. 2б, 2д,  $n = 7$ ).

В настоящий момент известны 2 основных типа неконкурентных антагонистов АМРА-рецепторов – негативные аллостерические модуляторы, такие как



**Рис. 1.** Концентрационная зависимость действия диминазена на AMPA-рецепторы. (а), (б) – репрезентативные примеры ингибирования кинаит-вызванных токов ИЭМ-1925 (10 мкМ) и диминазеном (100 мкМ) в гигантских холинергических интернейронах стриатума (А) и пирамидных нейронах зоны СА1 гиппокампа (б). (с), (д) – репрезентативные примеры ингибирования кинаит-вызванных токов различными концентрациями диминазена в гигантских холинергических интернейронах стриатума (с) и пирамидных нейронах зоны СА1 гиппокампа (д). (е) – кривые концентрационной зависимости действия диминазена для кальций-проницаемых AMPA-рецепторов гигантских интернейронов стриатума и кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов пирамидных нейронов гиппокампа.



**Рис. 2.** Неконкурентное ингибирование АМРА-рецепторов диминазеном. (а), (б) – репрезентативные примеры ингибирования кальций-проницаемых (а) и кальций-непроницаемых (б) АМРА-рецепторов фиксированной концентрацией диминазена при двух разных концентрациях каината (50 и 500 мкМ). Амплитуды ответов на каинат в концентрациях 50 и 500 мкМ нормированы для наглядности. (с), (д) – средние значения процента блокады диминазеном, 60 мкМ для кальций-проницаемых (с) и диминазеном, 200 мкМ для кальций-непроницаемых (д) АМРА рецепторов при двух разных концентрациях каината (50 и 500 мкМ). Для обоих типов рецепторов диминазен более эффективен в случае высокой концентрации агониста ( $p < 0.001$  в случае кальций-проницаемых АМРА-рецепторов и  $p < 0.01$  в случае кальций-непроницаемых АМРА-рецепторов).

ГҮКІ-52466 [21] и перампанел [15], и блокаторы каналов, такие как производное адамантана ИЭМ-1460 [11, 22], производное фенилциклогексила ИЭМ-1925 [20, 23], аргиотоксины [24, 25], филантотоксины [26, 27]. Стандартным тестом на блокаду канала для заряженных веществ является исследование потенциал-зависимости их действия, позволяющее оценить глубину расположения сайта связывания в электрическом поле мембраны. Мы сравнили эффективность блокады фиксированной концентрацией диминазена в диапазоне потенциалов от +40 до –140 мВ. Репрезентативные примеры ингибирования каинат-вызванных токов диминазеном (60 мкМ) в гигантских интернейронах стриатума при потенциалах +40 мВ (а), –40 мВ (б), –80 мВ (с) и –120 мВ (д) представлены на рис. 3. Эффективность инги-

бирования диминазеном была минимальной при потенциале +40 мВ, достигала максимума при потенциалах –40...–60 мВ и дальше снижалась с гиперполяризацией ( $n = 5$ , рис. 3е). Такая бифазная зависимость эффективности ингибирования от потенциала на мембране характерна для блокаторов, способных проникать через канал внутрь клетки [28]. Для кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов зависимость эффективности ингибирования от потенциала на мембране также была бифазной, но наблюдался более выраженный потенциал-независимый компонент ( $n = 7$ , рис. 3е). Полученные данные были аппроксимированы с помощью формулы [29], учитывающей возможность прохождения через канал внутрь клетки и наличия потенциал-независимого компонента ингибирования:

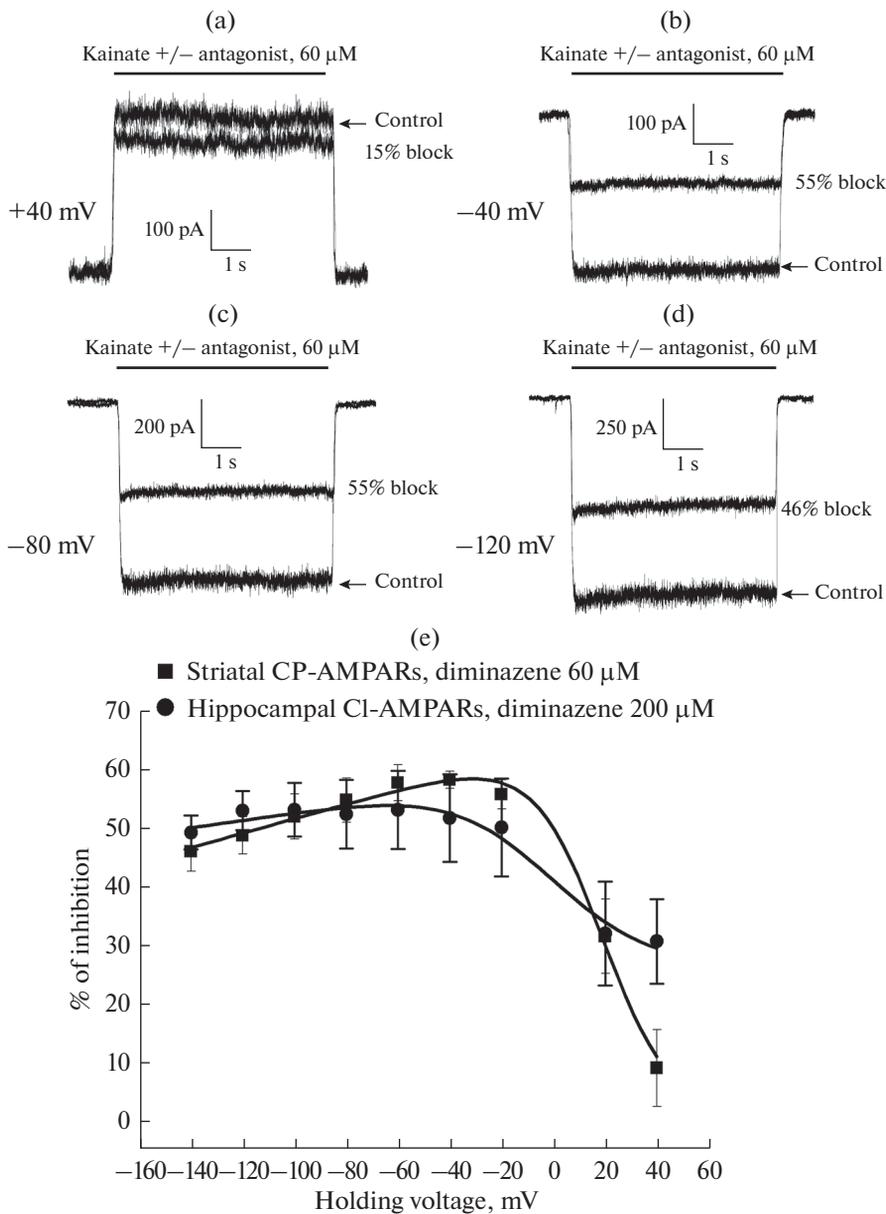
$$B = \frac{100 - A}{1 + \frac{Kb \exp\left(\frac{FV}{RT}\right) z \delta m}{C} + \frac{Kp \exp\left(\frac{-FV}{RT}\right) z \delta p}{C}} + A.$$

В этой формуле  $B$  – процент блокады при потенциале  $V$  концентрацией антагониста  $C$ ,  $A$  – процент потенциал-независимого ингибирования,  $Kb$  – константа диссоциации для потенциал-зависимого компонента действия при потенциале 0 мВ,  $\delta m$  – глубина расположения сайта связывания в электрическом поле мембраны,  $z$  – заряд блокатора,  $F$ ,  $R$  и  $T$  – постоянная Фарадея, газовая постоянная и абсолютная температура соответственно. Параметры  $Kp$  и  $\delta p$  описывают прохождение через канал внутрь клетки [28].

Данные по блокаде кальций-проницаемых AMPA-рецепторов 60 мкМ диминазена достаточно хорошо аппроксимировались и без учета потенциал-независимого компонента действия;  $\delta m$  была равна  $0.9 \pm 0.2$ , а  $\delta p = 0.06$ , что соответствует представлениям о глубине расположения сайта связывания классических катионных каналоблокаторов [28, 29]. Данные по блокаде кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов 200 мкМ диминазена хорошо аппроксимировались с консенсусными для этого типа рецепторов и катионных каналоблокаторов значениями  $\delta m = 0.6$  и  $\delta p = 0.05$  [29]. Относительно невысокие значения  $\delta p = 0.05$ – $0.06$  для обоих типов AMPA-рецепторов и слабый загиб кривых потенциал-зависимости при потенциалах –80...–140 мВ свидетельствуют о том, что диминазен хоть и способен проникать через канал внутрь клетки, но этот процесс затруднен. Стоит отметить, что в наших экспериментах мы не добавляли эндогенные полиамины во внутрипипеточный раствор, чтобы исследовать чистый эффект диминазена, а не смесь эффектов диминазена и полиаминов. В отсутствие полиаминов во внутриклеточном растворе и проведении измерений больше чем через 5 мин после установления конфигурации “целая клетка” IV кривая в гигантских интернейронах стриатума имеет линейный характер [30].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе мы впервые описали ингибирование AMPA-рецепторов диминазеном. Он более активно блокировал кальций-проницаемые AMPA-рецепторы по сравнению с кальций-непроницаемыми (рис. 1е), что характерно для катионных антагонистов, действующих по механизму блокады поры канала. Меньшая активность подобных соединений по отношению к кальций-непроницаемым AMPA-рецепторам связана с тем, что в селективном фильтре GluA2 субъединиц расположен остаток аргинина, отталкивающий положительно заряженные молекулы блокаторов. Диминазен действовал неконкурентным образом (рис. 2) и демонстрировал бифазную потенциал-зависимость эффективности блокады фиксированной концентрацией (рис. 3). Полученное при аппроксимации данных потенциал-зависимости эффективности блокады кальций-проницаемых



**Рис. 3.** Потенциал-зависимость ингибирования АМРА-рецепторов диминазеном. (a)–(d) – репрезентативные примеры ингибирования каинат-вызванных токов гигантских интернейронов стриатума 60 мкМ диминазена при потенциалах на мембране +40 мВ (a), –40 мВ (b), –80 мВ (c) и –120 мВ (d). (e) – кривые потенциал-зависимости ингибирования диминазеном 60 мкМ для кальций-проницаемых АМРА-рецепторов гигантских интернейронов стриатума и диминазеном 200 мкМ для кальций-непроницаемых АМРА-рецепторов пирамидных нейронов гиппокампа.

AMPA-рецепторов значение  $\delta t = 0.9 \pm 0.2$  свидетельствует о глубоком расположении сайта связывания диминазена в электрическом поле мембраны, а снижение эффективности блокады при гиперполяризации — о способности проникать через канал внутрь клетки. Быстрая кинетика действия диминазена (рис. 2а, б) не позволила нам определить, способен ли он оставаться в полости закрытого канала AMPA-рецепторов (эффект ловушки). Стоит упомянуть, что в случае NMDA-рецепторов ловушка для диминазена не наблюдалась — он действовал по механизму “foot-in-the-door” [8]. Блокаторы AMPA-рецепторов, действующие по механизму “foot-in-the-door”, неизвестны.

Интересно, что диминазен в наших экспериментах был более эффективен при активации AMPA-рецепторов высокими концентрациями агониста. Потенциально это может приводить к тому, что подобные соединения будут слабее ингибировать нормальную синаптическую передачу и сильнее ингибировать ее в условиях патологического избытка глутамата, наблюдающегося при ряде нейродегенеративных заболеваний [31]. Чем же может объясняться такая зависимость эффективности от концентрации агониста? Возможно, это связано со способностью диминазена проникать через канал внутрь клетки [32]. Действительно, если блокатор способен связываться только с открытым каналом, оставаться в поре канала после закрытия и затем диффундировать в цитоплазму клетки, то блокирующая активность будет определяться равновесием между связыванием с открытыми каналами и высвобождением из закрытых. Соответственно в условиях, способствующих нахождению каналов в открытом состоянии, в том числе в присутствии высоких концентраций агониста, блокирующая активность будет выше. Дальнейшие исследования позволят ответить на вопрос, характерна ли такая зависимость эффективности от концентрации агониста для других соединений из группы диариламидинов, а также для других блокаторов, способных проникать через канал внутрь клетки.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90039.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Мы благодарны член-корр. РАН Денису Борисовичу Тихонову за плодотворное обсуждение полученных результатов.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

А.С.Ж. — сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта; М.Ю.Д. — сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта; О.И.Б. — планирование эксперимента, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Oliveira GLD, de Freitas RM* (2015) Diminazene aceturate-An antiparasitic drug of antiquity: Advances in pharmacology & therapeutics. *Pharmacol Res* 102: 138–157. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.10.005>
2. *Peregrine AS, Mammán M* (1993) Pharmacology of Diminazene — a Review. *Acta Trop* 54 (3–4): 185–203. [https://doi.org/10.1016/0001-706x\(93\)90092-P](https://doi.org/10.1016/0001-706x(93)90092-P)

3. *Kuriakose S, Uzonna JE* (2014) Diminazene aceturate (Berenil), a new use for an old compound? *Int Immunopharmacol* 21(2): 342–345.  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.05.027>
4. *Kuriakose S, Muleme HM, Onyilagha C, Singh R, Jia P, Uzonna JE* (2012) Diminazene Aceturate (Berenil) Modulates the Host Cellular and Inflammatory Responses to Trypanosoma congolense Infection. *Plos One* 7 (11).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048696>
5. *Chen XM, Qiu LY, Li MH, Durrnagel S, Orser BA, Xiong ZG, MacDonald JF* (2010) Diarylamidines: High potency inhibitors of acid-sensing ion channels. *Neuropharmacology* 58 (7): 1045–1053.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.01.011>
6. *Schmidt A, Rosselti G, Jousset S, Grunder S* (2017) Towards the molecular basis of ASIC inhibition by Diminazene. *Acta Physiol* 219: 143–143.
7. *Nicolau LAD, Noleto IRSG, Medeiros JVR* (2020) Could a specific ACE2 activator drug improve the clinical outcome of SARS-CoV-2? A potential pharmacological insight. *Expert Rev Clin Phar* 13(8): 807–811.  
<https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1798760>
8. *Dron MY, Zhigulin AS, Barygin LI* (2020) Mechanisms of NMDA receptor inhibition by diarylamidine compounds. *Eur J Neurosci* 51 (7): 1573–1582.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.14589>
9. *Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan HJ, Myers SJ, Dingledine R* (2010) Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev* 62(3): 405–496.  
<https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>
10. *Swanson GT, Kamboj SK, CullCandy SG* (1997) Single-channel properties of recombinant AMPA receptors depend on RNA editing, splice variation, and subunit composition. *J Neurosci* 17(1): 58–69.
11. *Magazanik LG, Buldakova SL, SamoiloVA MV, Gmiro VE, Mellor IR, Usherwood PNR* (1997) Block of open channels of recombinant AMPA receptors and native AMPA/kainate receptors by adamantane derivatives. *J Physiol-London* 505 (3): 655–663.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.655ba.x>
12. *Mellor IR, Usherwood PNR* (2004) Targeting ionotropic receptors with polyamine-containing toxins. *Toxicol* 43(5): 493–508.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2004.02.003>
13. *Barygin OI* (2016) Inhibition of calcium-permeable and calcium-impermeable AMPA receptors by perampanel in rat brain neurons. *Neurosci Lett* 633: 146–151.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.09.028>
14. *Fukushima K, Hatanaka K, Sagane K, Ido K* (2020) Inhibitory effect of anti-seizure medications on ionotropic glutamate receptors: special focus on AMPA receptor subunits. *Epilepsy Res* 167: 106452.  
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106452>
15. *Hanada T, Hashizume Y, Tokuhara N, Takenaka O, Kohmura N, Ogasawara A, Hatakeyama S, Ohgoh M, Ueno M, Nishizawa Y* (2011) Perampanel: A novel, orally active, noncompetitive AMPA-receptor antagonist that reduces seizure activity in rodent models of epilepsy. *Epilepsia* 52(7): 1331–1340.  
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03109.x>
16. *Rogawski MA, Hanada T* (2013) Preclinical pharmacology of perampanel, a selective non-competitive AMPA receptor antagonist. *Acta Neurol Scand* 127: 19–24.  
<https://doi.org/10.1111/ane.12100>
17. *Vorobjev VS* (1991) Vibrodissociation of Sliced Mammalian Nervous-Tissue. *J Neurosci Meth* 38(2–3): 145–150.  
[https://doi.org/10.1016/0165-0270\(91\)90164-U](https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90164-U)
18. *Buldakova SL, Vorobjev VS, Sharonova IN, SamoiloVA MV, Magazanik LG* (1999) Characterization of AMPA receptor populations in rat brain cells by the use of subunit-specific open channel blocking drug, IEM-1460. *Brain Res* 846(1): 52–58.  
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01970-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01970-8)
19. *SamoiloVA MV, Buldakova SL, Vorobjev VS, Sharonova IN, Magazanik LG* (1999) The open channel blocking drug, IEM-1460, reveals functionally distinct alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptors in rat brain neurons. *Neuroscience* 94 (1): 261–268.  
[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(99\)00326-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(99)00326-7)
20. *Tikhonov DB, SamoiloVA MV, Buldakova SL, Gmiro VE, Magazanik LG* (2000) Voltage-dependent block of native AMPA receptor channels by dicationic compounds. *Brit J Pharmacol* 129 (2): 265–274.  
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703043>
21. *Donevan SD, Rogawski MA* (1993) Gyki 52466, a 2,3-Benzodiazepine, Is a Highly Selective, Noncompetitive Antagonist of Ampa/Kainate Receptor Responses. *Neuron* 10(1): 51–59.  
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(93\)90241-I](https://doi.org/10.1016/0896-6273(93)90241-I)
22. *Twomey EC, Yelshanskaya MV, Vassilevski AA, Sobolevsky AI* (2018) Mechanisms of Channel Block in Calcium-Permeable AMPA Receptors. *Neuron* 99 (5): 956.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.027>
23. *Bolshakov KV, Kim KH, Potapjeva NN, Gmiro VE, Tikhonov DB, Usherwood PNR, Mellor IR, Magazanik LG* (2005) Design of antagonists for NMDA and AMPA receptors. *Neuropharma-*

- cology 49(2): 144–155.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.02.007>
24. Antonov SM, Grishin EV, Magazanik LG, Shupliakov OV, Vesselkin NP, Volkova TM (1987) Argiopin Blocks the Glutamate Responses and Sensorimotor Transmission in Motoneurons of Isolated Frog Spinal-Cord. *Neurosci Lett* 83(1–2): 179–184.  
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90237-0](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90237-0)
  25. Barygin OI, Grishin EV, Tilchonov DB (2011) Argiotoxin in the Closed AMPA Receptor Channel: Experimental and Modeling Study. *Biochemistry-Ussr* 50 (38): 8213–8220.  
<https://doi.org/10.1021/bi200617v>
  26. Eldefrawi AT, Eldefrawi ME, Konno K, Mansour NA, Nakanishi K, Oltz E, Usherwood PNR (1988) Structure and Synthesis of a Potent Glutamate Receptor Antagonist in Wasp Venom. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(13): 4910–4913.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.85.13.4910>
  27. Jackson AC, Milstein AD, Soto D, Farrant M, Cull-Candy SG, Nicoll RA (2011) Probing TARP Modulation of AMPA Receptor Conductance with Polyamine Toxins. *J Neurosci* 31(20): 7511–7520.  
<https://doi.org/10.1523/Jneurosci.6688-10.2011>
  28. Tikhonova TB, Barygin OI, Gmiro VE, Tikhonov DB, Magazanik LG (2008) Organic blockers escape from trapping in the AMPA receptor channels by leaking into the cytoplasm. *Neuropharmacology* 54(4): 653–664.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.11.014>
  29. Barygin OI, Luchkina NV, Tikhonov DB (2010) Voltage-dependent and -independent block of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate receptor channels. *J Neurochem* 115(6): 1621–1632.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07068.x>
  30. Tikhonova TB, Tikhonov DB, Magazanik LG (2009) Common Binding Site for Externally and Internally Applied AMPA Receptor Channel Blockers. *J Mol Neurosci* 39(1–2): 169–174.  
<https://doi.org/10.1007/s12031-008-9172-5>
  31. Lau A, Tymianski M (2010) Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflug Arch Eur J Phy* 460(2): 525–542.  
<https://doi.org/10.1007/s00424-010-0809-1>
  32. Zaitsev AV, Kim KK, Fedorova IM, Dorofeeva NA, Magazanik LG, Tikhonov DB (2011) Specific mechanism of use-dependent channel block of calcium-permeable AMPA receptors provides activity-dependent inhibition of glutamatergic neurotransmission. *J Physiol-London* 589 (7): 1587–1601.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.204362>

### Mechanisms of AMPA-Receptor Inhibition by Diminazene

A. S. Zhigulin<sup>a</sup>, M. Y. Dron<sup>a</sup>, and O. I. Barygin<sup>a</sup>, \*

<sup>a</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

\*e-mail: Oleg\_Barygin@mail.ru

Diminazene is an anti-infective medication from the diarylamidine group. In this work we have shown for the first time that it inhibits AMPA type ionotropic glutamate receptors. Experiments were conducted on isolated Wistar rat neurons. Calcium-permeable AMPA receptors were studied on giant striatum cholinergic interneurons, while calcium-impermeable AMPA receptors – on hippocampal CA1 pyramidal neurons. Cells were isolated from slices by vibrodissociation. Currents were recorded by whole-cell patch-clamp method. Diminazene inhibited kainate-induced currents in both types of neurons in a concentration-dependent manner. IC50 values for calcium-permeable and calcium-impermeable AMPA receptors were  $60 \pm 11$  and  $160 \pm 30$   $\mu\text{M}$ , respectively. It is interesting that the degree of inhibition by fixed diminazene concentration was increased with the increase of agonist concentration. The voltage-dependence curve for the inhibition of calcium-permeable AMPA receptors by fixed diminazene concentration was biphasic: minimal inhibition was observed at positive holding potentials, maximal – at  $-40$ ... $-60$  mV, while further hyperpolarization resulted in the smooth decrease of block. All these features strongly suggest that channel block with the ability to permeate into the cytoplasm is the main molecular mechanism of AMPA receptor inhibition by diminazene.

**Keywords:** AMPA receptors, diminazene, mechanisms of inhibition, patch-clamp

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПОКАЗАТЕЛИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИИ  
У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ГНОЙНЫМ МЕНИНГИТОМ

© 2021 г. В. Б. Войтенков<sup>1, 2, \*</sup>, А. А. Вильниц<sup>1, 3</sup>, Н. В. Скрипченко<sup>1, 3</sup>,  
Е. В. Екушева<sup>2, 5</sup>, Н. А. Савельева<sup>4</sup>, А. В. Клишкин<sup>1</sup>, Н. В. Марченко<sup>1</sup>, М. А. Бедова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Академия постдипломного образования, Москва, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера,  
Пермь, Россия

<sup>5</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
профессионального образования Белгородский государственный национальный  
исследовательский университет, Белгород, Россия

\*E-mail: vlad203@inbox.ru

Поступила в редакцию 01.12.2020 г.

После доработки 12.01.2021 г.

Принята к публикации 12.01.2021 г.

Целью работы стала оценка состояния биоэлектрической активности головного мозга у детей в остром периоде бактериального гнойного менингита с количественным математическим анализом полученных изменений. Обследован 31 ребенок на 1-й–6-й день от начала заболевания: 16 детей ( $8.9 \pm 2.4$  лет), госпитализированных в Детский научно-клинический центр инфекционных болезней с лабораторно подтвержденным диагнозом гнойного менингита (*Neisseria meningitidis* ( $n = 11$ ), *Streptococcus pneumoniae* ( $n = 2$ ), неуточненная этиология ( $n = 3$ )), 15 здоровых детей. Всем детям регистрировалась электроэнцефалограмма (ЭЭГ) в состоянии спокойного бодрствования на 16-канальном электроэнцефалографе “Нейрон-Спектр 4/ВП”. Клиническая оценка ЭЭГ включала анализ фоновой ритмики, зональных различий, выявление патологических типов активности. Количественная оценка состояла из параметров средней мощности (мкВ<sup>2</sup>) и амплитуды (мкВ) альфа-, тета- и дельта-ритмов, а также соотношения средней мощности спектров – альфа/тета, альфа/дельта. При визуальном анализе ЭЭГ в 100% случаев у детей в остром периоде гнойного менингита регистрировалось диффузное замедление с регистрацией дельта- и тета-волн. Очаговые изменения в виде острых волн регистрировались в 18.8% случаев (3 пациента). Периодической активности ни в одном случае зарегистрировано не было. У пациентов с менингитом выявлено достоверное снижение соотношения спектров альфа/дельта ( $p = 0.001$ ) и альфа/тета ( $p = 0.048$ ). По данным ROC-анализа значение альфа/тета менее 0.18 и альфа/дельта менее 0.02 (чувствительность 100% и специфичность 80%, AUROC 0.9) может свидетельствовать о вероятном развитии отека головного мозга. Таким образом, у пациентов детского возраста с острым гнойным менингитом регистрируется достоверное нарушение нормального соотношения мощности альфа/тета и альфа/дельта ритмов на ЭЭГ, что, предположительно, обусловлено угнетением функциональной активности таламуса и таламо-кортикальных путей, а также ретикулярной формации головного мозга.

*Ключевые слова:* дети, электроэнцефалография, менингит

DOI: 10.31857/S0869813921030092

Электроэнцефалография (ЭЭГ) является одной из основных методик оценки функционального состояния головного мозга, которую применяют при невозможности клинической оценки, в частности у пациентов с энцефалопатией, комами различного генеза [1]. Показаниями к ЭЭГ является диагностика пароксизмальных состояний, прогнозирование исхода патологического состояния, оценка биоэлектрической активности при наличии подозрения на смерть мозга и т.д. [2]. До 90% нативной ЭЭГ в условиях спокойного бодрствования у здоровых лиц занимает активность частотой до 10 Гц, высотой 40–80 мкВ, именуемая альфа-ритмом, либо альфа-активностью [3]. Наиболее общепринятой в настоящее время является теория таламического генеза альфа-ритма с релейными ядрами таламуса в качестве основных его генераторов [4]. Существует предположение, что альфа-и тета-ритм формируют так называемый альфа-тета континуум, поскольку частота разрядной активности таламических нейронов меняется в диапазоне от 2 до 13 Гц; центром генерации тета-ритма считается гиппокамп [4]. При различных заболеваниях повышается представленность тета-ритма в ЭЭГ, что может объясняться, в особенности при очаговом поражении головного мозга, нарушением межцентрального взаимодействия и нормального соотношения активности нейромедиаторов и сигнальных молекул [3].

При поражении оболочек головного мозга воспалительной природы (менингите) регистрируются и описываются различные неспецифические изменения на ЭЭГ. При асептическом менингите ЭЭГ может быть нормальной [5]. При остром гнойном менингите, обусловленном стрептококковой инфекцией, может регистрироваться диффузное замедление биоэлектрической активности (БЭА) [6]. Патологические изменения БЭА при остром гнойном менингите (увеличение представленности дельта-и тета-волн, появление комплексов спайк–медленная волна) обладают статистически достоверной предсказательной способностью в области развития неврологических и когнитивных осложнений нейроинфекции [7]. Отклонения БЭА от нормы различной степени выраженности в случае развития менингоэнцефалита описываются в 89% случаев [8]. Как находка описывается вспышка эпилептиформной активности с вовлечением одного полушария и последующей генерализацией у 5-месячного пациента с острым гнойным менингитом пневмококковой этиологии [9]. Также сообщается о периодических латерализованных вспышках эпилептиформной активности при менингите стрептококковой этиологии [10].

Несмотря на широкий спектр изменений, описываемых на разных стадиях развития острого гнойного менингита, до сих пор малоисследованным остается вопрос количественного, объективного анализа ЭЭГ-паттернов при этом заболевании, в особенности в педиатрической практике. Считается, что применение количественного анализа ЭЭГ у детей с гнойным менингитом может быть ценным дополнительным инструментом к визуальному анализу [11]. В этой связи нами было проведено исследование ЭЭГ-изменений у детей в остром периоде гнойного менингита с количественным математическим анализом полученных данных.

Цель работы: оценить состояние БЭА головного мозга у детей в остром периоде бактериального гнойного менингита с количественным математическим анализом полученных изменений.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего был обследован 31 ребенок: 16 с гнойными менингитами ( $8.9 \pm 2.4$  лет, 9 мальчиков и 7 девочек), из числа находящихся на стационарном лечении в Детском научно-клиническом центре инфекционных болезней (Санкт-Петербург) с лабораторно подтвержденным диагнозом гнойного менингита. Этиология заболе-

вания была представлена *Neisseria meningitidis* ( $n = 11$ ), *Streptococcus pneumoniae* ( $n = 2$ ), в 3-х случаях этиологию уточнить не удалось. В группе сравнения было обследовано 15 здоровых детей. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. Обследование проводилось в остром периоде заболевания на 1–6-е сутки от момента заболевания.

Запись БЭА головного мозга производилась в состоянии спокойного бодрствования с открытыми и закрытыми глазами – с использованием программно-аппаратного комплекса “Нейрон-Спектр” с наложением 32-х электродов. При регистрации использовалось монополярное отведение с расположением электродов по международной системе “10–20”. Референтными служили ипсилатеральные ушные электроды. Полоса пропускания – от 0.5 до 35 Гц. Импеданс электродов составил в среднем менее 10 кОм. Регистрация ЭЭГ проводилась в течение 15 мин. Для анализа мощности спектров включались безартефактные участки записи с использованием автоматического анализа “Нейрософт”.

Клиническая оценка ЭЭГ включала анализ фоновой ритмики, зональных различий, выявление патологических типов активности. Также проводилась соответствующая лабораторная и инструментальная диагностика, включающая, в частности, проведение нейровизуализационного исследования (магнитно-резонансной томографии головного мозга) с целью выявления помимо признаков воспаления оболочек головного мозга также и его паренхимы. Если это происходило, случай расценивался как менингоэнцефалит и в исследование не включался.

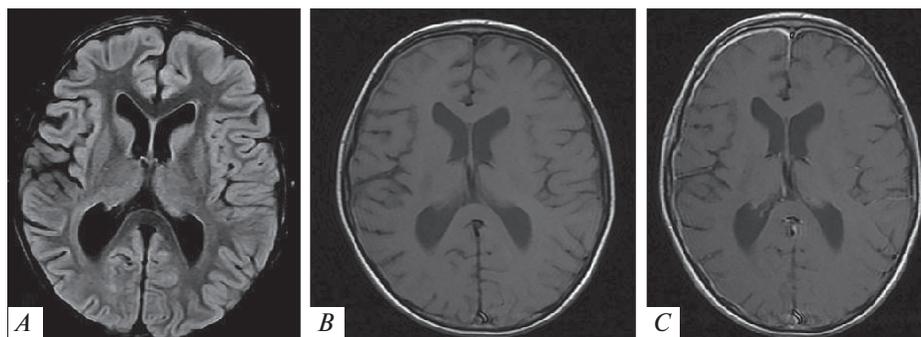
После визуального анализа ЭЭГ оценивались параметры средней мощности ( $\text{мкВ}^2$ ) и амплитуды ( $\text{мкВ}$ ) альфа-, тета- и дельта-ритмов, соотношение средней мощности спектров – альфа/тета, альфа/дельта.

Все участники либо их законные представители подписывали информированное согласие об участии в исследовании, его цель была полностью им объяснена. Работа выполнялась в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2013 г. и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием прикладных программ Excel, Statistica 10, MedCalc 15.2.2. Достоверность различий между двумя независимыми выборками оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (уровень значимости  $p = 0.05$ ). Анализ прогностической значимости полученных показателей (средняя мощность альфа-, тета-, дельта-ритмов, соотношение средней мощности спектров альфа/тета, альфа/дельта) в отношении вероятности развития осложнения гнойного менингита – отека головного мозга, осуществлялся с использованием ROC-анализа (Receiver operating characteristic). Малой вероятности развития отека головного мозга соответствовало значение 0, высокой вероятности – 1. Учитывалась величина площади под ROC-кривыми (Area under ROC – AUROC), характеризующая прогностическую силу модели, значения чувствительности (доля истинно положительных результатов) и специфичности (доля истинно отрицательных результатов). Были выбраны модели с хорошей (при AUROC 0.7–0.8) и очень хорошей (при AUROC > 0.8) предсказательной способностью при оптимальных уровнях чувствительности и специфичности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинически тяжесть состояния у 7 детей (44%) была обусловлена развитием отека головного мозга, что проявлялось угнетением сознания (до 11–6 баллов по шкале ком Глазго), стволовой симптоматикой. У 4-х пациентов в дебюте заболева-



**Рис. 1.** Изменения на МРТ головного мозга у пациента с клинически подтвержденным острым гнойным менингитом. В режиме FLAIR (A) и T1-режиме (B) визуализируется невыраженное утолщение мозговой оболочки в правой лобной области. В режиме T1 с внутривенным контрастированием (C) визуализируется выраженное повышение сигнала от мозговой оболочки справа в лобной и теменной областях.

**Fig. 1.** Brain MRI changes in the patient with clinically confirmed acute purulent meningitis. It is revealed the indistinct thickening of the meninges in the right frontal region in FLAIR mode (A) and T1 mode (B). In the T1 mode with intravenous contrast (C), a pronounced signal enhancement from the meninges in the right frontal and parietal regions is visualized.

ния отмечали наличие однократных судорог. Противосудорожная терапия не назначалась вследствие отсутствия повторных судорог. У 5 детей (31%) преобладали проявления септического шока (все с гнойным менингитом, вызванным *N. meningitidis*) с развитием полиорганной недостаточности. При обследовании, в частности нейровизуализационном, регистрировались типичные для острого периода гнойного менингита изменения (рис. 1).

При визуальном анализе ЭЭГ в 100% случаев у детей в остром периоде гнойного менингита регистрировалось диффузное замедление с регистрацией дельта- и тета-волн. Очаговые изменения в виде острых волн регистрировались в 18,8% случаев (3 пациента). Периодической активности в обследованной группе пациентов ни в одном случае зарегистрировано не было.

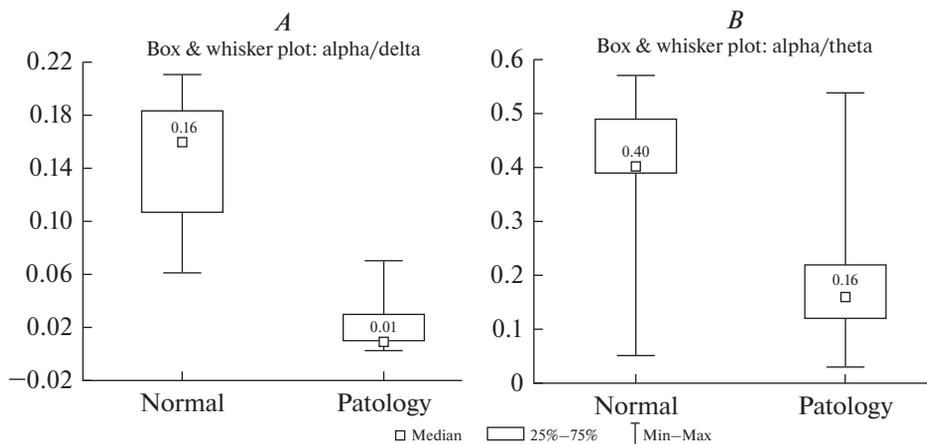
По результатам статистической обработки у пациентов с менингитом отмечалось достоверное снижение соотношения спектров альфа/дельта ( $p = 0.001$ ) (рис. 2A) и альфа/тета ( $p = 0.048$ ) (рис. 2B), достоверных различий спектральной мощности в диапазоне альфа-, дельта- и тета-частот в группах не выявлено.

Проведенный ROC-анализ показал, что значение альфа/тета менее 0.18 и альфа/дельта менее 0.02 с чувствительностью 100% и специфичностью 80% (AUROC 0.9) может свидетельствовать о вероятном развитии отека головного мозга (рис. 3). Остальные показатели не показали убедительной прогностической значимости.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

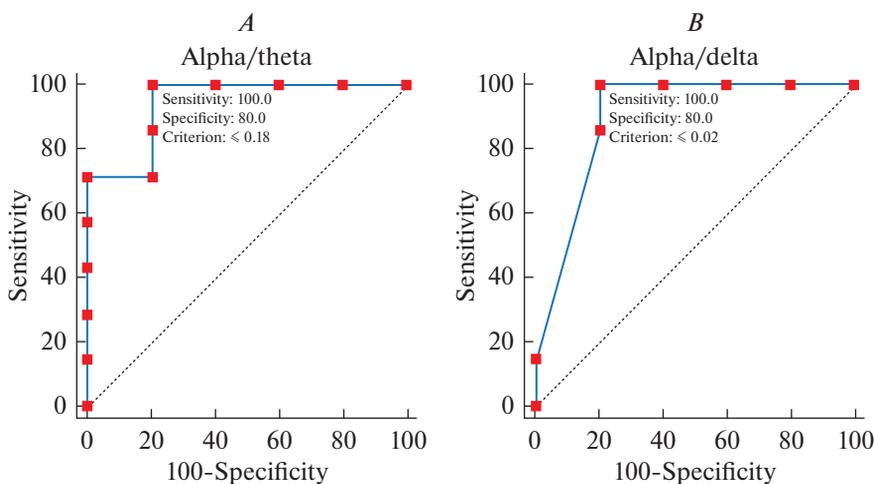
Полученные нами данные по изменениям ЭЭГ, выявляемым при визуальном анализе ЭЭГ, соотносятся со сведениями других исследователей. Так, при ассоциированном с COVID-19 острым менингоэнцефалите на ЭЭГ при визуальном анализе описывается диффузное замедление без очаговой активности [12]. Трехфазных волн, отражающих энцефалопатические изменения и описываемых, в частности, при карциноматозном менингите [13], в условиях данного исследования выявлено не было.

При проведении количественного анализа БЭА у детей с острым гнойным менингитом нами выявлено достоверное снижение соотношение мощностей аль-



**Рис. 2.** Достоверное снижение соотношения альфа/дельта (A) и альфа/тета (B) у пациентов в остром периоде гнойного менингита в сравнении с контрольной группой.

**Fig. 2.** Significant decrease of the alpha/delta ratio (A) and alpha/theta ratio (B) in patients with purulent meningitis (the acute period) in comparison with the control group.



**Рис. 3.** Результаты ROC-анализа альфа/тета (A) и альфа/дельта (B) в отношении прогнозирования развития отека головного мозга.

**Fig. 3.** Results of alpha/theta (A) and alpha/delta (B) ROC analysis in predicting the development of cerebral edema.

фа/тета и альфа/дельта ритмов ЭЭГ. Мощность в данном случае отражает степень возбуждения и способности к генерации определенного ритма мозговыми структурами. Учитывая, что источником генерации и альфа- и тета-ритмов является таламус [3], можно предположить, что в остром периоде нейроинфекций происходит временное угнетение либо перестройка его активности, а также активности нейронов ретикулярной формации головного мозга; данное преходящее ухудшение ней-

рофизиологических параметров наблюдалось нами ранее при остром бактериальном гнойном менингите по данным акустических стволовых вызванных потенциалов, остром вирусном энцефалите по данным зрительных вызванных потенциалов и при серозных менингитах – по данным диагностической транскраниальной магнитной стимуляции [14, 15]. Таким образом, выявленные изменения, возможно, могут рассматриваться как типовая реакция. Вопрос о том, является ли данная типовая реакция патологической, нуждается в дальнейшем изучении. Также несомненным является дискуссионность вопроса об эксклюзивном угнетении при гнойном менингите активности исключительно стволовых структур, можно предполагать также и диффузное снижение функциональной активности коры.

В настоящей работе получены менее выраженные отклонения от нормы параметров количественной ЭЭГ: при энцефалите зарегистрированы и нарушения мощности, и соотношения спектров [16], в то время как в исследованной группе детей с острым гнойным менингитом достоверного снижения мощности не выявлено. Это может быть обусловлено тем, что очагового поражения собственно вещества головного мозга у обследованных детей с острым гнойным менингитом не было установлено. Таким образом, масштаб поражения центральной нервной системы в данном случае был несколько ниже, но, тем не менее, биоэлектрическая активность головного мозга достоверно изменялась.

## ВЫВОДЫ

У пациентов детского возраста с острым гнойным менингитом регистрируется достоверное нарушение нормального соотношения мощности ритмов альфа/тета и альфа/дельта на ЭЭГ. Можно предполагать, что причиной данного снижения является угнетение и/или перестройка функциональной активности таламуса и таламо-кортикальных путей, а также ретикулярной формации головного мозга.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

В.Б.В. – дизайн статьи, литературный обзор по теме, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи, проверка интеллектуального содержания статьи. А.А.В. – литературный обзор по теме, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи, проверка интеллектуального содержания статьи. Н.В.С. – проверка интеллектуального содержания статьи, утверждение рукописи к публикации. Е.Е.В. – получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи. Н.А.С. – получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи. А.В.К. – получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи. Н.В.М. – получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи. М.А.Б. – получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа финансировалась за счет средств государственного бюджета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гнездицкий В.В., Пирадов М.А.* Нейрофизиология комы и нарушения сознания (анализ и интерпретация клинических наблюдений). Иваново. ПресСто. 2015. [*Gnezditsky V.V., Piradov M.A.* Neurophysiology of coma and impaired consciousness (analysis and interpretation of clinical observations). Ivanovo. PresSto. 2015. (In Russ)].

2. Herman S.T., Abend N.S., Bleck T.P., Chapman K.E., Drislane F.W., Emerson R.G., Gerard E.E., Hahn C.D., Husain A.M., Kaplan P.W., LaRoche S.M., Nuwer M.R., Quigg M., Riviello J.J., Schmitt S.E., Simmons L.A., Tsuchida T.N., Hirsch L.J. Consensus statement on continuous EEG in critically ill adults and children, part I: indications. *J. Clin. Neurophysiol.* 32(2): 87–95. 2015.  
<https://doi.org/10.1097/WNP.000000000000166>
3. Александров М.В., Чухловин А.А., Павловская М.Е., Костенко И.А., Архипова Н.Б. Альфа-тета-континуум: нейрофизиологические механизмы генерации. *Мед. алфавит.* 1(14): 46–50. 2017. [Aleksandrov M.V., Chukhlovin A.A., Pavlovskaya M.E., Kostenko I.A., Arkhipova N.B. Alpha-theta continuum: neurophysiological mechanisms of generation. *Med. Alfavit.* 1(14): 46–50. 2017. (In Russ)].
4. Buzsáki G. *Rhythms of the brain.* Oxford University Press. 2006.  
<https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195301069.001.0001>
5. Chen L., Xu Y., Liu C., Huang H., Zhong X., Ma C., Zhao H., Chen Y. Clinical features of aseptic meningitis with varicella zoster virus infection diagnosed by next-generation sequencing: case reports. *BMC Infect. Dis.* 20(1): 435. 2020.  
<https://doi.org/10.1186/s12879-020-05155-8>
6. Chiaretti A., Eftimiadi G., Buonsenso D., Rendeli C., Staccioli S., Conti G. Intranasal nerve growth factor administration improves neurological outcome after GBS meningitis. *Childs Nerv. Syst.* 36(9): 2083–2088. 2020.  
<https://doi.org/10.1007/s00381-020-04590-x>
7. Gazibera B., Suljic-Mehmedika E., Serdarevic N., Baljic R., Gojak R. Predictive Role of Electroencephalography in Regard to Neurological and Cognitive Sequelae After Acute Central Nervous System Infection. *Acta Inform. Med.* 27(4): 234–239. 2019.  
<https://doi.org/10.5455/aim.2019.27.234-239>
8. Bharucha T., Nashef L., Moran N., Watkins S., Brown D., Zuckerman M. A 9-month retrospective evaluation of the aetiology and management of patients presenting with encephalitis/meningoencephalitis at a South London hospital. *Epidemiol. Infect.* 148: e23. 2020.  
<https://doi.org/10.1017/S0950268820000047>
9. Yamamoto H., Miyamoto Y., Yamamoto H. A case of bacterial meningitis with burst waves of local onset on ictal Electroencephalography. *Pediatr. Int.* 61(12): 1263–1264. 2019.  
<https://doi.org/10.1111/ped.14019>
10. Germano N., Sibbel M.G., Summerfield D., Pitzenberger A. Group B streptococcus meningitis complicated by periodic lateralisingepileptiform discharges in an elderly patient with type 2 diabetes mellitus. *BMJ Case Rep.* 12(8): e228040. 2019.  
<https://doi.org/10.1136/bcr-2018-228040>
11. Westmoreland B.F. The EEG in cerebral inflammatory processes. In: Schomer D.L., da Silva F.H.L. *Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields.* 7th edition. Oxford Univer. Press. 2018.
12. El-Zein R.S., Cardinali S., Murphy C., Keeling T. COVID-19-associated meningoencephalitis treated with intravenous immunoglobulin. *BMJ Case Rep.* 13(9):e237364. 2020.  
<https://doi.org/10.1136/bcr-2020-237364>
13. Liu C., Cheng S., Ma Y., Liu C., Lv Y. Triphasic waves in electroencephalogram as a possible early marker of carcinomatous meningitis: a case report. *Medicine (Baltimore).* 99(33): e21735. 2020.  
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021735>
14. Скрипченко Н.В., Лобзин Ю.В., Войтенков В.Б., Карев В.Е., Алексеева Л.А., Васильева Ю.П., Вильниц А.А., Климкин А.В. Инновации в ведении нейроинфекций у детей. *Детские инфекции.* 16(3): 5–9. 2017. [Skrichenko N.V., Lobzin U.V., Voytenkov V.B., Karev V.Yev., Alekseyeva L.A., Vasil'yeva U.P., Vil'nits A.A., Klimkin A.V. Innovati on sinthemangement of neuroinfections in children. *Detskiye Infektsii.* 16(3): 5–9. 2017. (In Russ)].
15. Voitenkov V.B., Skrichenko N.V., Komantsev V.N. Varicella Encephalitis-Related EEG Modifications in Children. *Neurophysiology.* 45: 219. 2013.  
<https://doi.org/10.1007/s11062-013-9359-4>
16. Войтенков В.Б., Синкин М.В., Скрипченко Н.В., Екушева Е.В., Горелик Е.Ю., Марченко Н.В., Штеклейн А.В., Бедова М.А. Биоэлектрическая активность головного мозга у детей с острым вирусным энцефалитом. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 106(7): 890–897. 2020. [Voitenkov V.B., Sinkin M.V., Skrichenko N.V., Ekusheva E.V., Gorelik E.Yu., Marchenko N.V., Shtekleyn A.V., Bedova M.A. Bioelectrical activity of the brainin children with acute viral encephalitis. 106(7): 890–897. 2020. *Russ. J. Physiol.* (In Russ)].

**Quantitative Electroencephalography in Children with Acute Bacterial Meningitis****V. B. Voytenkov<sup>a, b, \*</sup>, A. A. Vilnits<sup>a, c</sup>, N. V. Skripchenko<sup>a, c</sup>, E. V. Ekusheva<sup>b, e</sup>,  
N. A. Savelyeva<sup>d</sup>, A. V. Klimkin<sup>a</sup>, N. V. Marchenko<sup>a</sup>, and M. A. Bedova<sup>a</sup>**<sup>a</sup>*Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia*<sup>b</sup>*Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia*<sup>c</sup>*St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia*<sup>d</sup>*Wagner Medical University PGMU, Permian, Russia*<sup>e</sup>*Belgorod State University, Belgorod, Russia**\*e-mail: vlad203@inbox.ru*

Our aim was the assessment of the bioelectrical activity of the brain in children with bacterial meningitis in its acute period. 31 children were enrolled: 16 children with acute bacterial meningitis ( $8.9 \pm 2.4$  years) in 1–6 days from the onset of the disease, hospitalized to The Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases with a laboratory-confirmed diagnosis of bacterial meningitis (*Neisseria meningitidis* ( $n = 11$ ), *Streptococcus pneumoniae* ( $n = 2$ ), unspecified etiology ( $n = 3$ )) and 15 healthy controls. The electroencephalogram (EEG) was recorded in all children using a 16-channel electroencephalograph “Neuron-Spectrum 4/VP”. The clinical evaluation of the EEG included an analysis of the background rhythm, zonal differences, and the identification of pathological types of activity. The quantitative assessment consisted of the parameters of the average power ( $\mu V^2$ ) and amplitude ( $\mu V$ ) of the alpha, theta and delta rhythms, as well as the ratio of the average spectral power – alpha/theta, alpha/delta. The visual analysis of EEG revealed a diffuse slowing with the registration of delta and theta waves in 100% of children in the acute period of bacterial meningitis. Focal changes were recorded in 18,8% of cases (3 patients). Periodic activity wasn't recorded in any case. There was a significant decrease in the ratio of alpha/delta ( $p = 0.001$ ) and alpha/theta ( $p = 0.048$ ) spectra. Using *ROC* analysis, it was determined that an alpha/theta value less than 0.18 and an alpha/delta value less than 0.02 (a sensitivity 100%, a specificity 80%, AUROC 0.9) may indicate the likely development of cerebral edema. Thus, in pediatric patients with acute bacterial meningitis, a significant disorder of the normal ratio of the power of alpha/theta and alpha/delta rhythms on the EEG is recorded, which is presumably associated with inhibition of the functional activity of the thalamus and thalamo-cortical pathways, as well as the reticular formation of the brain.

**Keywords:** children, electroencephalography, meningitis